



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Dirección General de Investigación
Centro de Investigaciones, CII, Facultad de Ingeniería
Instituto de Investigaciones Agronómicas y Ambientales, IIA,
Facultad de Agronomía



INFORME FINAL

PROYECTO

**“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE TINCIÓN DE LOS TINTES OBTENIDOS
DE DOS ESPECIES FORESTALES GUATEMALTECAS, EN EL PROCESO DE
TEÑIDO DE FIBRAS, LANA Y MAGUEY”**

EQUIPO DE INVESTIGACIÓN

COORDINADORA: Inga Qca. Telma Maricela Cano Morales
INVESTIGADORA ASOCIADA: Inga. Ind. Ericka Johanna Cano Díaz.
INVESTIGADORA ASOCIADA: Inga. Qca. Cinthya Patricia Ortiz Quiroa
INVESTIGADOR ASOCIADO: Ing. Qco. Jorge Emilio Godínez Lemus
INVESTIGADOR ASOCIADO: Ing. Agr. MSc. Marino Barrientos García
INVESTIGADOR ASOCIADO: Ing. For. MSc. José Mario Saravia Molina
AUXILIAR DE INVESTIGACIÓN: Br. Mario José Mérida Meré
AUXILIAR DE INVESTIGACIÓN: Br. Roberto Calderón
AUXILIAR DE INVESTIGACIÓN: Br. Byron Alesky Obregón Castañeda

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2006

Resumen:

El presente proyecto constituye parte de la línea de investigación que se ejecuta en la Sección de Química industrial del centro de investigaciones de Ingeniería en relación con COLORANTES NATURALES. El propósito principal del proyecto fue evaluar el potencial de tinción del tinte obtenido de dos especies forestales guatemaltecas: Encino negro (*Quercus Brachystachys Benth*) y Aliso común (*Alnus Jorulensis HBK*), en la aplicación de tinción de fibras naturales: lana y maguey.

En este proyecto participaron varias instituciones públicas y privadas, entre estas están: Fundación Gabina J.M. de Momostenango, Totonicapán y Fundación Centro de Servicios Cristianos FUNCEDESCRI, de San Lucas Sacatepéquez, quienes se proyectan hacia los habitantes de diferentes comunidades teniendo como misión la búsqueda de alternativas de agroindustrialización para mejorar el nivel de vida de los mismos.

Guatemala cuenta con una gran riqueza vegetal, entre ellas, plantas que tienen sustancias activas del tipo colorante como flavonoides, xantonas, quinonas, carotenoides, etc., sustancias que pueden usarse en la industria cosmética, alimenticia y en la industria textil. El presente proyecto investigó 2 especies forestales con potencial para su uso en la industria textil en el teñido de fibras. Actualmente la comunidad de Momostenango, Totonicapán, utiliza extractos tintóreos acuosos de diversidad de plantas para el teñido de las fibras que se usan en la confección de diversidad de prendas de vestir y ropa de cama. Los mencionados extractos tintóreos acuosos son obtenidos de una manera empírica por lo que tienen una vida media muy baja y poca disponibilidad en algunas épocas del año; por lo que con los resultados del presente proyecto se podrá asesorar a pequeños empresarios de la industria textil en la extracción, secado, preservación y aplicación de tintes naturales.

Antiguamente se usaban extractos tintóreos de plantas para teñir fibras, ropa, dar color a alimentos etc., lo que dejó de realizarse al aparecer los colorantes artificiales. Sin embargo, al transcurrir de los años se ha encontrado que los colorantes artificiales pueden causar enfermedades en el ser humano, por lo que se hace necesario realizar estudios para extraer y aplicar de nuevo los tintes naturales.

Se realizó la extracción y caracterización de tintes naturales de 2 especies forestales guatemaltecas.

Este proyecto reviste especial interés, debido a que los resultados obtenidos del mismo, ayudarán a establecer los parámetros necesarios para desarrollar a nivel industrial, la extracción no solamente de tintes naturales de las 2 especies forestales estudiadas, sino también de otras especies vegetales afines.

I. Justificación:

Guatemala posee un significativo banco genético de especies domesticadas de la flora y fauna siendo además un importante centro de especies silvestres útiles. Es importante reconocer que en grandes áreas de nuestro territorio existen patrones alimenticios, medicinales y económicos con actividades artesanales e industriales dependientes de la extracción de nuestros recursos naturales.

En el continente americano se utilizan más de 4,200 especies silvestres de plantas útiles para diversos fines: como fuente de alimentación 1,282 especies, con fines medicinales 2,044 especies, como recursos madereros 844 especies, como forrajeras 126 especies y en otros usos tales como: abono, aceites, antídoto y ornamentales.

Las plantas nativas de aplicación industrial, actual o potencial, comprenden las usadas en obtención de: abonos (85 especies), aceites y grasas (80), aromas y perfumes (86), productos de cosmetología (155 especies), productos curtientes (38 especies), y **tintes y colorantes (382 especies)**. Estos recursos genéticos nativos son de importancia actual para mantener la diversidad genética de importantes cultivos a nivel mundial, especialmente en las regiones tropicales y subtropicales, y adquieren cada vez más importancia frente al desarrollo creciente de la biotecnología.

La biotecnología es, cada vez más, la materia prima que se propaga para la industria farmacéutica, agroindustria, química industrial, cosmética, medicina botánica y horticultura. El creciente mercado mundial de productos biotecnológicos mueve entre 470 billones y 780 billones de dólares por año. América Latina, es un sector aun pequeño - cerca de 700 millones de dólares por año, mas este potencial no tiene limites.

Al plantear un proyecto sobre extracción y aplicación de tintes en la industria textil en Guatemala, se está resolviendo apenas una pequeña parte del gran universo de oportunidades en relación con los extractos vegetales y su potencial económico. Como se menciona anteriormente contamos con gran biodiversidad con lo que se tiene la enorme oportunidad de realizar estudios relacionados con los extractos vegetales entre ellos: aceites esenciales, aceites fijos, tintes naturales, taninos, oleorresinas, etc.

En la comunidad de Momostenango, Tonicapán y otras comunidades del altiplano de Guatemala los textileros utilizan tintes naturales extraídos de varias plantas tintóreas; con financiamiento de organismos internacionales la Fundación Gabina J. M. de la mencionada comunidad realizó un inventario de las plantas utilizadas el cual fue publicado en una revista popular denominada "El tintorero momosteco", de la lista de plantas tintóreas utilizadas se escogió el encino y el aliso común como una de las posibilidades, pudiendo ampliarse el estudio con nuevas plantas. Con el antecedente además de que en proyectos anteriores financiados por DIGI se han realizado estudios con estas dos especies forestales en relación a la extracción de taninos y su poder de curtición.

La comunidad de Momostenango, Totonicapán y otras comunidades del altiplano del país saldrán beneficiadas con estudios como éste, ya que ellos se dedican por tradición a la industria textil y de una manera artesanal extraen sus colorantes utilizando únicamente agua como solvente, lo que implica serios problemas con la durabilidad de sus extractos.

Al validar la metodología de extracción y secado de los extractos colorantes, toda esta información será trasladada a los habitantes de dichas comunidades, los que tendrán la oportunidad de aprender y aplicar estos conocimientos con el consiguiente beneficio económico.

II. Marco teórico:

América Latina con toda la riqueza de especies de plantas tintóreas existentes en sus diversos ecosistemas contiene un tesoro inestimable de colorantes. Según Conservation International, entre los 17 países más ricos del mundo^[1], en biodiversidad, Brasil se encuentra en el primer lugar: tiene 23% del total de especies del planeta. América Latina, solamente en la amazonía tiene 20,000 especies.

Apenas 5% de la flora mundial fue estudiada hasta hoy y solamente el 1% es utilizada como materia prima. La biodiversidad de flora latinoamericana, es un patrimonio químico inexplorado de colorantes, medicinas, alimentos, fertilizantes, pesticidas, cosméticos, solventes, levaduras, textiles, plásticos, celulosa, óleos y energía de moléculas, enzimas y genes en número casi infinito.

Colorantes

Aunque ha declinado el uso de los colorantes naturales en textiles y fibras, el uso de compuestos producidos por la naturaleza para impartir color a los alimentos y productos que se ingieren ha aumentado recientemente. Este movimiento ha sido provocado, en parte, por reglamentos gubernamentales como la proscripción por la FDA de los colorantes sintéticos y la investigación de las grandes empresas sobre la peligrosidad del consumo humano de ciertos colorantes. Con la realización de una gran cantidad de pruebas para todos los productos sintéticos de carcinogenicidad y mutagenicidad, la industria de los colorantes y alimentos ha retomado a los productos naturales como fuente de colores.

Definición de colorantes y colorantes naturales.

Un colorante en general se puede definir como: “Cualquiera de los productos químicos pertenecientes a un extenso grupo de sustancias, empleados para colorear tejidos, tintas, productos alimenticios y otras sustancias. En la moderna terminología industrial se amplía el concepto de colorantes a los productos que contienen colorantes orgánicos puros junto con agentes reductores o de relleno que los hacen más manejables.” (Encarta, 2002).

Los colorantes naturales los podemos definir como “aquellos que se obtienen de la materia animal y vegetal sin proceso químico. Estos son principalmente colorantes mordientes, aunque se conocen unos de la tina de disolventes, de pigmentos, directos y de los tipos ácidos. No se conocen colorantes naturales del tipo sulfurados, dispersos, azoicos o en rama.” (Kirk-Othmer, 1998).

Los colorantes se dividen en varios grupos, a saber: colorantes naturales, tintes naturales y pigmentos naturales. Los colorantes naturales son productos que se adicionan a los alimentos para proporcionarles un color en específico y hacerlos más

agradables a la vista. Los tintes naturales se usan para teñir telas, madera y cuero. Finalmente, los pigmentos naturales son los compuestos responsables del color visible de una planta; además de ser utilizados por la industria farmacéutica.

El color de los compuestos orgánicos depende de su estructura. Generalmente, los compuestos empleados como tintes son productos químicos orgánicos insaturados. La característica del color es especialmente notable en productos químicos que contienen ciertos grupos insaturados bien definidos. Estos productos químicos, conocidos como cromóforos (portadores de color), tienen diferentes capacidades para dar color.

Clasificación de los colorantes naturales

Los colorantes naturales se pueden agrupar en diferentes formas, por tipo de teñido, composición química, características físicas, etc.

Por sus características físicas los colorantes naturales se pueden dividir en:

- a) Colorantes directos
- b) Mordientes
- c) Por el tipo de reducción
- d) Pigmentos

En cuanto a su composición química, los pigmentos comprenden numerosos tipos de sustancias, pero por lo general se dividen en dos grandes grupos. El primer grupo abarca aquellos pigmentos que contienen nitrógeno, como las hemoglobinas, las clorofilas. El segundo grupo está formado por pigmentos sin nitrógeno. Los carotenoides son miembros de este grupo, como también lo son los pigmentos vegetales llamados flavonoides.

Extracción, purificación e identificación de los colorantes

Tipos de extracciones en plantas

La extracción de colorantes de las plantas, depende básicamente de la parte de la planta que se utilice y la cantidad de agua que contenga. En Geisman, 1962 en el capítulo 2, se pueden encontrar técnicas de extracción de flavonoides específicas para la parte de la planta que se desea utilizar como materia prima. Desde el punto de vista general podemos realizar tres tipos de extracciones de las plantas:

La preparación popular consiste en una extracción en agua de la planta fresca o seca con la ayuda de calor (infusión o decocción) o en alcohol (tintura, vino), en algunos casos se usa la planta fresca machacada, ya sea como cataplasma, jugo o polvo de la planta seca administrado directamente.

La extracción para tamizaje consiste en realizar una extracción por maceración a temperatura ambiente con uno a tres solventes con diferentes polaridades, generalmente diclorometano o hexano, éter o etanol y agua. Por la toxicidad y efectos farmacológicos de estos solventes es preciso concentrar los extractos evaporando el solvente a presión reducida y temperatura controlada (rotavapor) hasta alcanzar una mayor consistencia. En el caso de los extractos acuosos se suele concentrar por medio de liofilización. En esta forma los extractos son más estables y fáciles de almacenar y dosificar.

La extracción para eludificación estructural consiste en una maceración o extracción con Soxhlet usando inicialmente un solvente de amplio espectro (metanol o etanol) y luego fraccionamiento con diferentes disolventes o mezclas de disolventes que permitan separar las diferentes fracciones por partición. Idealmente el fraccionamiento debe ser guiado por un bioensayo que permita llegar a la estructura química responsable de la actividad en un tiempo relativamente corto. (Cáceres, 1996)

Los solventes usados para la extracción de estos compuestos son muy variados y pueden ser desde muy polares como agua y etanol para glicósidos o agliconas muy hidroxiladas, hasta menos polares como éter y cloroformo para flavonas altamente metoxiladas. (Lock, 1997)

Purificación e Identificación

La reacción más usual para la detección de los flavonoides en un extracto de planta es la reacción de Shinoda; al extracto incoloro o ligeramente amarillo se le coloca un pequeño trozo de magnesio y unas pocas gotas de HCl concentrado, el desarrollo inmediato de coloración es indicativo de la presencia de flavonas y flavonoles (amarillo a rojo), flavanonoles (rojo a magenta), flavanonas (rojo, magenta, violeta, azul), isoflavonas (amarillo); isoflavononas, chalconas y auronas no dan coloración

Otras reacciones de color usuales son:

- Reacción con álcalis: los extractos acuosos pueden mostrar variaciones de color con el agregado de un álcali, si hay presencia de flavonas, flavanonoles e isoflavonas se ponen amarillas, flavanonas y flavonoles cambian de amarillo a naranja; chalconas de naranja a rojizo
- Prueba de Marini Bettolo: con solución de $SbCl_5$ en CCl_4 , los flavonoides en general dan colores característicos o precipitados; por ejemplo, las flavonas dan precipitado amarillo o anaranjado, y las Chalconas, rojo oscuro o violeta.

- Reacción con H_2SO_4 concentrado las flavonas y flavonoles dan coloración fuertemente amarilla, las flavanonas, anaranjadas o guindas; las chalconas y auronas, rojo, guinda o rojo azulado.
- Reactivo de Dimroth: solución de H_2BO_3 , en Ac_2O , las 5-hidroxi flavonas dan soluciones anaranjadas o rojas.
- Reacción con solución acuosa o etanólica de FeCl_3 ; aunque hay coloración en presencia de cualquier compuesto fenólico, la aparición de un color verde sugiere la presencia de un derivado de catecol y de un color azul de un derivado de pirogalol. (Lock, 1997)

Las técnicas cromatográficas usadas para la separación de flavonoides o su detección en un extracto de plantas son también muy variadas en cuanto a las técnicas mismas, así como las condiciones en las cuales ellas pueden realizarse. (Lock, 1997)

La cromatografía en papel es la más antigua y aún usada desde su introducción en 1948 por Bate Smith. Otra técnica es la cromatografía en capa fina (cp). La detección de los flavonoides por éstas dos técnicas puede hacerse por el color que desarrollan en el espectro visible y en el UV, apareciendo como manchas fluorescentes azules, rosadas, naranjas púrpuras y otras, las cuales se intensifican o cambian de color luego de su exposición a vapores de amoníaco, y comparándolas con relaciones conocidas de color y estructura. Otra técnica es la cromatografía en columna (cc), actualmente muy usada para purificaciones preliminares y para separaciones a escala preparatoria de grandes cantidades de flavonoides de extractos crudos de plantas.

Por otro lado, el espectro de absorción UV-V del compuesto aislado es útil para determinar el tipo de flavonoide. El espectro típicamente consiste de dos máximos de absorción en los rangos, 240-285 nm (banda II y BII), y 300-550 nm (banda I, BI). Se puede encontrar tablas de rangos para determinadas estructuras en Lock, 1997.

FLAVONOLES, MIRICETINA Y QUERCETINA

El contenido total de flavonoles, considerado como la suma de miricetina y quercetina, en vinos tinto varía entre 4,6 y 41,6 mg/L (McDonald, 1998). Miricetina y quercetina se encuentran libres o conjugados, la proporción de flavonoles libres varía entre un 20-50% del total.

En el estudio de Frankel y col (1995) la actividad antioxidante relativa de los 20 vinos Californianos correlaciona con la concentración de miricetina y quercetina con un valor de r de 0,70 ($p < 0,001$) y de 0,68 ($p < 0,001$), respectivamente. Su capacidad antioxidante medida como TEAC, actividad antioxidante equivalente Trolox es de 3,7 y 4,7 mmol/L para miricetina y quercetina, respectivamente (Miller, 1995).

Los glicósidos de quercetina se acumulan en la piel de las uvas negras (Prince, 1995), por lo tanto los vinos provenientes de uvas negras de piel gruesa con una alta proporción de piel en relación con su volumen como Cabernet Sauvignon, contienen

concentraciones más altas de flavonoles. La maduración de las uvas lleva a una creciente acumulación de flavonoles. Es así como vinos preparados de uvas provenientes de climas asoleados en los que se permite su maduración, como es el caso de Chile, junto con modernos sistemas de vinificación, poseen los más altos niveles de flavonoles. Los vinos chilenos Cabernet Sauvignon, Merlot y Pinot Noir contienen las más altas concentraciones de flavonoles comparados con los vinos de otros países del mundo, tales como Italia, Francia, USA, Australia, Bulgaria, España, Rumania, Nueva Zelandia, Brasil, Marruecos y Hungría. (McDonald, 1998).

Estudios epidemiológicos asocian el consumo de flavonoides con menor mortalidad general y menor mortalidad por enfermedad coronaria. En un estudio holandés se observó que la principal fuente de flavonoides eran cebollas y manzanas, y quercetina el flavonoide más abundante. (Hertog, 1993; Hertog, 1995; Knekt, 1996).

Gran parte de los estudios de biodisponibilidad en humanos se han concentrado en la identificación de quercetina en el plasma después de la ingestión de cebollas, té o jugo de manzana (Hollman y col., 1996;1997; Aziz y col., 1998; Manach y col., 1998; Lean y col., 1999; McAnlis y col., 1999). En un par de estos trabajos se ha demostrado que conjugados de quercetina inhiben la oxidación de LDL (Manach y col., 1998; Morand y col., 1998). Aun cuando estos conjugados fueron obtenidos mediante ensayos enzimáticos de glucuronidación y sulfatación *in vitro*, estos datos indican que las propiedades antioxidantes de un compuesto pueden ser modificadas al ser metabolizado.

De hecho, las sustancias xenobióticas -incluidos muchos fármacos- son conjugadas con sulfato y ácido glucurónico para aumentar la solubilidad de los compuestos y facilitar su eliminación del organismo por vía biliar o urinaria. El hígado, y principalmente el intestino, son los principales sitios de glucuronidación de polifenoles (Sfakianos y col., 1997; Piskula y Terao, 1998; Morand y col., 1998) mientras que la sulfatación parece ocurrir exclusivamente en el hígado (Shali y col., 1991; Piskula y Terao, 1998).

Carotenoides. Esta subclase de terpenos consiste de los pigmentos de color amarillo intenso, naranja y rojo que se encuentran en vegetales como el tomate, el perejil, la naranja, la toronja roja, la espinaca y el aceite de palma africana. Los carotenoides se encuentran también en ciertas especies animales a las cuales prestan brillantes colores (por ejemplo, los flamings; la yema de huevo es amarilla debido a la presencia de carotenoides que protegen a la grasa insaturada contenida en la yema). La familia de los carotenoides -de los cuales existen más de 600 compuestos- incluyen dos tipos distintos de moléculas: carotenos y xantofilas.

Los carotenos, incluyen alfa-, beta- y epsilon-caroteno, los únicos que poseen actividad como vitamina A. Beta-caroteno es el más activo. Estos carotenos, conjuntamente con el gama-caroteno, el licopeno y la luteína (que no tienen actividad

como vitamina A), parecen ofrecen protección contra el cáncer de los pulmones, cáncer colorectal, cáncer de las glándulas mamarias, cáncer del útero y cáncer de la próstata (Bendich y Olson, 1989). Los carotenos tienen un efecto favorable para el sistema inmunológico y protegen a la piel contra la radiación ultravioleta (Bendich, 1989). Los carotenos tienen un efecto protector que es específico de los tejidos. Por lo tanto, el efecto protector general es mayor cuando todos los carotenos son ingeridos conjuntamente en la dieta.

Beta-Caroteno

El licopeno, presente en forma abundante en tomates, toronjas rojas, sandías y pimientos rojos es el carotenoide encontrado en mas alta concentración en el plasma sérico humano. Su concentración (0.5 mmoles/L de plasma) constituye aproximadamente el 50% de los carotenoides totales. Estudios llevados a cabo durante seis años por las Escuelas de Medicina y de Salud Pública de la Universidad de Harvard (Giovannucci, et al, 1995) en las dietas de mas de 47,000 sujetos indican que de 46 frutas y vegetales evaluados, solo los productos de tomate (que contienen altos niveles de licopeno) tales como pizza y salsa de tomates podrían a reducir el riesgo de cáncer de la próstata. La actividad biológica del licopeno incluye su acción antioxidativa y el control del crecimiento celular pero no su actividad como vitamina A (Stahl y Sies, 1996).

Los beneficios de salud del licopeno pueden lograrse por el consumo de 2 vasos de jugo de tomates (540 ml) diarios. El licopeno ingerido es almacenado en el hígado, los pulmones, la próstata, el colon y la piel. Su concentración en los tejido corporales tiende generalmente a ser mas alta que la de otros carotenoides.

Otros estudios que se están llevando a cabo en varios centros de investigación sugieren que el licopeno podría reducir el riesgo a la degeneración macular, oxidación de lípidos séricos y cánceres de los pulmones, de la vejiga, del cérvix y de la piel (Gerster, 1997). Giovannucci en una revisión de la literatura sobre licopeno y cáncer (Giovannucci, 1999) correctamente concluye que aunque la evidencia indica efectos beneficiosos del licopeno, es necesario considerar que muchos otros componentes potencialmente benéficos están presentes en los tomates y otros productos vegetales y cuya interacción entre sí y con el licopeno podrían contribuir a los efectos anticancerígenos observados y esto necesita mayores estudios y confirmación.

Lycopeno

Las xantofilas (luteinas), incluyen compuestos químicos conocidos como carotenoides alcohólicos y los cetocarotenoides. En este tipo de carotenoides se encuentran la zeaxantina, la cantaxantina, la criptoxantina y la astaxantina. Cantaxantina se hizo popular hace algunos años como una píldora para adquirir bronceado corporal artificial.

Cantaxantina

Las xantofilas son importantes porque parecen ejercer una función protectora en favor de la vitamina A, la vitamina E y otros carotenoides, en contra de los procesos de oxidación. La criptoxantina podría tener un alto efecto protector para los tejidos vaginal, uterino y cervical (Parker, 1989).

Xantofila

Limonoides. Esta subclase de terpenos (d-limoneno, pineno, eucaliptol) que se encuentran en la cáscara de frutas cítricas, parece estar específicamente destinada a la protección del tejido pulmonar. Además, los limonoides parecen actuar como agentes quemopreventivos específicos (Nair, et al, 1984). En algunas pruebas preliminares, pacientes de cáncer reciben limoneno oralmente para probar su efectividad terapéutica.

Basados en estudios experimentales, los fitoquímicos de esta clase se encuentran en pequeñas cantidades en los aceites de cáscara de naranjas y otros frutos cítricos, así como también en otras frutas. Estos compuesto dan a estos aceites su fragancia característica. El limoneno, por ejemplo, se encuentra principalmente en las cáscaras de naranjas y limones y actúa como inhibidor de la reacción de isoprenilación, como un mecanismo para prevenir la expresión oncogénica y controlar de esa manera el crecimiento celular. El alcohol perilílico, presente en las cerezas, es un metabolito que se parece mucho en su estructura química al limoneno y es cinco veces mas potente que este como anticancerígeno.

Fenoles

Estos fitonutrientes incluyen un numeroso grupo de compuestos que han sido sujeto de una extensiva investigación como agentes preventivos de enfermedades.

Los fenoles protegen a las plantas contra los daños oxidativos y llevan a cambio la misma función en el organismo humano. Las coloraciones azul, azul-rojo y violeta característicos de ciertas variedades de cerezas y uvas y el color púrpura de la berenjena se deben al contenido fenólico de estos vegetales. La característica principal de los compuestos fenólicos es su habilidad para bloquear la acción de enzimas específicas que causan inflamación. Los fenoles también modifican los pasos

metabólicos de las prostaglandinas y por lo tanto protegen la aglomeración de plaquetas (Hertog, et al, 1993).

Basados en los datos obtenidos de estudios experimentales, parece que existen algunos posibles mecanismos para la acción de los fenoles. Estos inhiben la activación de carcinógenos y por lo tanto bloquean la iniciación del proceso de carcinogénesis. Los fenoles son también antioxidantes y como tales atrapan radicales libres, previniendo que estos se unan y dañen las moléculas de ácido deoxiribonucleico (DNA), un paso crítico en la iniciación de los procesos carcinogénicos. Como antioxidantes, los fenoles también previenen la peroxidación de lípidos, los cuales, siendo radicales libres pueden causar daño estructural a las células normales. El daño estructural a las membranas de las células normales interfiere con el transporte de moléculas a través de estas membranas afectando el crecimiento y proliferación celular.

El grupo de los fenoles incluye a los flavonoides y sus subgrupos las antocianidinas, las catequinas, los ácidos gálicos y las isoflavonas.

Flavonoides. Los flavonoides incluyen las flavonas y las isoflavonas que se encuentran en varias frutas y vegetales. La soya y el tofú son ricas fuentes de flavonoides no cítricos; las frutas cítricas son ricas fuentes de flavonoides cítricos, incluyendo los compuestos diosmina y hesperidina que son encontrados en toronjas y naranjas. Estos compuestos favorecen también los efectos del ácido ascórbico (vitamina C).

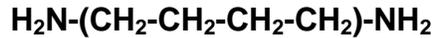
Los flavonoides fueron alguna vez agrupados juntos como vitamina P, aunque hay mucho mas de 1,500 de ellos, incluyendo los siguientes:

- Flavones (contienen el flavonoide apigenina que se encuentra en la camomila);
- Flavonols (quercetina: toronja; rutina: alforfón; ginkgoflavonoglicósidos: ginkgo);
- Flavonones (hesperidina - frutas cítricas; silibina).

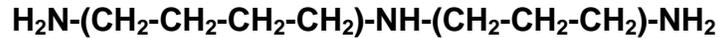
La actividad biológica de los flavonoides incluye su acción contra alergias, inflamaciones, radicales libres, hepatotoxinas, aglomeración de plaquetas, microorganismos, úlceras, virus y tumores (Kinsella, et al, 1993) y su acción inhibitoria de ciertas enzimas. Por ejemplo: los flavonoides bloquean la enzima de conversión de angiotensina (ECA) que causa aumento de la presión arterial; previenen la "gomosidad" de las plaquetas y por lo tanto su aglomeración; protegen el sistema vascular y fortalecen a los pequeños capilares que llevan oxígeno y otros nutrientes esenciales a todas las células (Anónimo, 1993). Además de todo lo anterior los flavonoides bloquean las enzimas que producen estrógeno (Northrup, 1994). Los resultados de estudios llevados a cabo usando ratas, han demostrado que diosmina y hesperidina inhiben carcinogénesis por reducción de los niveles de poliaminas (So, et al, 1996; American Institute for Cancer Research, 1996)

Hesperidina

Presentes en toda célula, la familia de las poliaminas incluye putrescina y espermidina y sus derivados, que cumplen una importante función en el crecimiento y proliferación celular.



Putrescina



Esperimidina

Algunos tumores acumulan poliaminas y su tratamiento con compuestos fitoquímicos tales como diosmina y hesperidina (también llamada por algunos, vitamina P) disminuye los niveles de poliaminas; esto a su vez esto disminuye la proliferación de tumores celulares.

Quercetina es un flavonoide no cítrico ampliamente distribuido en los alimentos. Esta clasificada como una flavona debido a que contiene la estructura 2-fenilcromona.

Quercetina

Antocianidinas. Técnicamente conocidos como "flavonales", estos compuestos proveen enlaces cruzados o "puentes" que conectan o fortalecen las fibras entrecruzadas del colágeno. La gran fortaleza tensil del colágeno depende de la preservación de los enlaces cruzados. Las antocianidinas, siendo solubles en agua, también recogen radicales libres que se encuentran en los fluidos de los tejidos. Esta es una potente habilidad que beneficia especialmente a atletas y otras personas dedicadas a la actividad deportiva y física, debido a que el ejercicio extenuante genera gran cantidad de radicales libres.

Catequinas y Ácidos Gálicos. Las catequinas difieren ligeramente en su estructura química de otros flavonoides, pero comparten con ellos sus propiedades quemoprotectivas. Las catequinas más comunes son los ésteres gálicos, llamados epicatequinas (EC), galato de epicatequina (GEC) y el galato de epigalocatequinas (GEGC). Todos estos compuestos se encuentran en los tés verdes (*Camelia sinensis*) y se cree que son responsables por los beneficios protectores de esta bebida (Komori, 1994). Los tés verdes y negros son productos de la misma planta. El té verde no es fermentado y contiene catequinas naturales tales como la epigalocatequina. El té negro es fermentado y luego secado. El proceso de fermentación oxida las catequinas naturales formando teaflavinas y tearubiginas que le dan al té el color negro. Los chinos comenzaron a usar té hace 4700 años y producen más de 300 variedades. El té fue introducido en Europa en el siglo XVI y constituye en la actualidad la bebida más

consumida en el mundo, después del agua, con mas de 2.5 millones de toneladas de hojas producidas anualmente.

Tanto el té verde como el negro inhiben la inducción química del cáncer del esófago en animales; el té verde actúa como un inhibidor mas potente que el té negro. Esto parece sugerir que la teaflavina y la tearubigina no son tan efectivos como sus precursores; sin embargo, esto todavía está por establecerse. El efecto inhibitor del té en el proceso de tumorigénesis no ha sido todavía demostrado en humanos.

Isoflavonas. Los fitonutrientes de esta subclase provienen de frejoles -especialmente la soya- y de otras leguminosas y son ejemplo de flavonoides no cítricos. Las isoflavonas funcionan en forma bastante similar a los flavonoides en el sentido que bloquean efectivamente las enzimas que promueven los crecimientos tumoríficos y aparentemente actúan también como hormonas. Genisteina y daidzeina que se encuentran en la soya son ejemplos de isoflavonas. Son mejor conocidas por sus efectos antitumoríficos en cáncer de la glándula mamaria en animales experimentales.

Genisteina y daidzeina son "fitoestrógenos", esto es, débiles agonistas del estrógeno y pueden actuar como tal, especialmente en mujeres con bajos niveles de estrógeno. Ambas compiten con y bloquean el receptor hormonal normal y en esta forma interfieren con los efectos de crecimiento de las hormonas naturales. En los primeros estudios sobre la acción de estos compuesto se observó que bloqueaban los efectos de las hormonas estrogénicas, principalmente del estradiol en su inhibición de carcinogénesis mamaria (Aldercreutz, 1995).

También se ha observado que la genisteina y la daidzeina tienen un efecto inhibitorio de los andrógenos (por ejemplo, de la testosterona) y en los procesos de carcinogénesis prostática (Barren, et al, 1994; American Institute for Cancer Research, 1996; So, et al, 1996; Tanaka, et al, 1997). La genisteina y la daidzeina están clasificadas como isoflavonas debido a que contienen la estructura 3-fenilcromona.

Un importante estudio (Anderson, et al, 1995) incitó el interés de la soya en el mercado consumidor. Los investigadores revisaron los datos de 38 estudios clínicos con proteína de soya compilándolos en un significativo estudio con 740 participantes y demostraron las siguientes conclusiones:

- Decrecimiento en un 13% en los niveles de lipoproteinas de baja densidad (LBD) or colesterol "malo".
- Mientras mas altos los niveles de colesterol en la sangre, mayor el efecto de la proteína de soya. Personas con niveles de colesterol sanguíneo de mas de 333 mg/dL tuvieron un 20% de reducción al consumir la proteína de soya.
- Los niveles de lipoproteinas de alta densidad (LAD) o colesterol "bueno" no fueron afectados, lo cual constituye un efecto benéfico.
- Mientras mas alto el nivel de consumo de proteína de soya, mayor la reducción de colesterol.

La genisteina y la daidzeina se encuentran en los productos de soya y en la hierba pueraria lobata (Xie, et al, 1994). De acuerdo a estudios de investigación parece que estos compuestos fitoestrogénicos ocupan los sitios que el estrógeno normalmente ocuparía (si estuviera disponible) durante la menopausia, resultando en menos efectos sintomáticos tales como las "olas de calor" características. Esto podría ser la razón por la cual las mujeres japonesas y de otras cultural orientales que consumen productos de soya, sufren mucho menos de los efectos de la menopausia que las mujeres de países occidentales. La gente que consume dietas tradicionales ricas en productos de soya raramente experimentan cánceres de las glándulas mamarias, del útero y de la próstata.

Otros Compuesto Fenólicos. El ácido elágico, presente en uvas, fresas, zarzamoras, arándanos, nueces y otros alimentos es un ejemplo de un tipo de compuesto fenólico que actúa como un fitoquímico y hace de estos productos ejemplos de alimentos funcionales.

En estudios usando ratas como modelo experimental, el ácido elágico inhibe tumores del esófago. Estos estudios sin embargo no indican que el ácido elágico no se encuentra facilmente disponible y puede variar en efectividad dependiendo si está en forma purificada o en su forma natural. Para ser biodisponible, el ácido elágico necesita estar en una forma en que la célula pueda reconocerlo y utilizarlo. Tal forma puede ser la forma química libre o en una forma combinada a otra biomolécula. El ácido elágico generalmente se une a moléculas de azúcar.

Acido Elágico

Lignan

Los lignanos son compuestos químicos de bajo peso molecular que se encuentran en muchas frutas y vegetales tales como el brécol. Al igual que los flavonoides, los lignanos tienen una débil actividad estrogénica y compiten con los compuestos estrogénicos normales no permitiéndoles promover el crecimiento de tumores. Investigaciones epidemiológicas apoyan la hipótesis de que los países con mas altos niveles de consumo de flavonoides y lignanos en su dieta tienen las mas bajas incidencias de cáncer.

III. ANTECEDENTES

En el marco del proceso de Investigación que se realiza en la Sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería, se tienen proyectos de investigación en Extractos vegetales como aceites esenciales, oleorresinas, taninos y colorantes.

Específicamente en la temática de colorantes naturales se han realizado los siguientes trabajos de investigación:

En 1987 Domínguez M, realizó la investigación de tesis titulada Extracción de los pigmentos colorantes del tipo xantofilas contenidos en la flor de *Tagetes erecta* (Marigold), en esta investigación se determinó el contenido de xantofilas totales en la flor de *Tagetes erecta*. Se utilizó como método de extracción la saponificación en frío y en caliente. Se obtuvo que el método de saponificación en frío da resultados mas altos, siendo éstos de 11470+-6262.02 mg de xantofilas por kg de flor, además se necesitan 4.795 kg de flor por tonelada de alimento para obtener una coloración óptima de la yema de huevo. Se recomienda utilizar el método de saponificación en frío con un tiempo de saponificación de 18-19 horas. Las pruebas que se utilizaron para determinar el contenido de xantofilas totales fueron la cromatografía en columna y la espectrofotometría.

Donado Miranda, en mayo del 2000 realizó la investigación de tesis denominada “Extracción de carotenoides de la caléndula para su utilización como colorante natural en productos de consumo humano”. La extracción se realizó a nivel laboratorio, utilizando 2 métodos de extracción, con el fin de determinar el método donde se obtiene el mejor rendimiento. La diferencia entre ambos métodos fue la utilización de diferentes solventes. Se usaron muestras de 10 g de flores secas, con una aproximación de +/- 0.05 gramos, realizando 5 repeticiones para cada método. Los resultados obtenidos tuvieron una diferencia significativa. Con el método A se obtuvo un rendimiento promedio de 16.5% y con el método B 2.1% . Para evaluar la homogeneidad en la composición de cada extracto, se obtuvieron los espectros de absorción representativos de cada método, entre el rango de las longitudes de onda de 400 a 540 nm, utilizando 1 g de extracto seco en 50 mL de éter etílico, en donde se observó diferencias no significativas entre los 2 métodos.

En el año 2001, en el Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería de la USAC se ejecutó el proyecto FODECYT 13-99, “EXTRACCION DEL COLORANTE ACUOSO, A PARTIR DE LOS RECHAZOS DE EXPORTACION DE LA PRODUCCION NACIONAL DE DOS VARIETADES DE PITAHAYA, A NIVEL DE PLANTA PILOTO” En este proyecto se evaluó la obtención del extracto acuoso de pitahaya por cuatro diferentes métodos y la factibilidad de industrialización del extracto a partir de los rechazos de la exportación. Las variables que se manejaron fueron: tiempo de extracción, tamaño de lote, temperatura de extracción, relación solvente-fruto y tiempo de maceración. Se evaluó el tiempo de maceración, de 1, 2 y 3 días, a una temperatura de 25°C y 7°C, dando mejores resultados la maceración de 1 día a una temperatura de

7°C. Se utilizaron lotes de 5 y 10 kg de fruta. Para el análisis de cada una de estas variables se efectuaron 3 corridas modificando la variable en cuestión y dejando las demás fijas, se determinaron así las condiciones óptimas de extracción. Se efectuaron los análisis fisicoquímicos necesarios para tipificar y evaluar la calidad del extracto. Mediante análisis de espectrofotometría se determinó que el colorante acuoso de la pulpa de pitahaya, se asemeja más al colorante sintético rojo FD&C No. 3, por lo que se puede usar en sustitución de éste.

Del Cid Vásquez, en marzo de 2004, en el Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería de la USAC, realizó el estudio de tesis denominado “Extracción a nivel laboratorio, de los pigmentos colorantes del tipo flavonoides contenidos en la flor del subín (*Acacia farnesiana* L. Willd) proveniente de un bosque silvestre guatemalteco” En el mencionado estudio se utilizaron tres diferentes solventes: metanol, etanol y acetona. Los resultados obtenidos demostraron que con la acetona se obtiene un mayor rendimiento promedio. Se determinó que cromatográficamente el solvente que ofreció un extracto con el mayor número de pigmentos colorantes del tipo flavonoides fue el metanol, seguido del etanol y por último la acetona. Con los tres análisis, se logró determinar la presencia de flavonoides, tales como hiperosido, rutina, quercetina.

Ac Santa Cruz en noviembre de 2004, en el Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería de la USAC, realizó el estudio de tesis Extracción A NIVEL DE LABORATORIO DE ACEITE ESENCIAL CRUDO DE PERICÓN (*Tagetes lucida Cav*), Y UTILIZACIÓN DEL DESECHO SÓLIDO PARA LA EXTRACCIÓN DEL COLORANTE NATURAL, PARA SU USO EN EL TEÑIDO DE FIBRAS NATURALES. Los solventes que se utilizaron son: acetona, metanol, etanol. Se utilizaron reacciones coloridas, para identificar el tipo de colorante, así como cromatografía en capa fina y espectro de absorción.

IV. Objetivos:

1. General

Evaluar la capacidad de tinción de extractos tintóreos obtenidos de dos especies forestales guatemaltecas, Encino Negro (*Quercus brachystachys Benth*) y aliso común (*Alnus jorulensis HBK*), aplicándolos en el teñido de fibras naturales, lana y maguey.

2. Específicos

Extraer el tinte natural del encino negro, aliso común, utilizando 3 solventes (agua y alcohol etílico al 35% y al 70%).

Caracterizar fisicoquímicamente los extractos obtenidos , para comprobar la presencia de pigmentos colorantes por medio de pruebas calorimétricas, cromatográficas y espectrofotométricas.

Evaluación de las fibras teñidas, mediante la aplicación de pruebas fisicoquímicas de solidez.

V. Hipótesis:

HIPOTESIS

Es factible utilizar los extractos tintóreos obtenidos de 2 especies forestales nativas de Guatemala, encino negro y aliso común para teñir fibras naturales de lana y maguey.

HIPÓTESIS ESTADÍSTICA

Hipótesis nula

No existe diferencia significativa entre el rendimiento, de extracto tintóreo del encino negro y aliso común, para cada solvente a utilizar.

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa entre el rendimiento promedio, de extracto tintóreo del encino negro y aliso común, para cada solvente a utilizar.

Hipótesis nula

No existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas del extracto tintóreo del encino negro y aliso común, para cada solvente a utilizar.

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas del extracto tintóreo del encino negro y aliso común, para cada solvente a utilizar.

Hipótesis nula

No existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas de las fibras teñidas obtenidas utilizando extracto tintóreo del encino negro y aliso común.

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas de las fibras teñidas obtenidas utilizando extracto tintóreo del encino negro y aliso común.

VI. Metodología:

LOCALIZACIÓN:

La parte experimental de la investigación se llevó a cabo en la Universidad de San Carlos de Guatemala, en las siguientes instalaciones:

1. Planta piloto de Extracción-destilación de la sección de Química Industrial, del Centro de Investigaciones de Ingeniería, donde se encuentra instalado el Extractor.
2. Instalaciones de la Fundación Gabina J.M, Momostenango, Totonicapán.
3. Laboratorio de ensayo físicoquímico de la Sección de Química Industrial, del Centro de Investigaciones de Ingeniería.
4. Secador solar de la Facultad de Agronomía.
5. Secador eléctrico instalado en la Planta piloto de Extracción Destilación del Centro de Investigaciones de Ingeniería.

OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS:

El aliso se obtuvo a través de la organización no gubernamental FUNCEDESCRI, en San Lucas Sacatepéquez, Guatemala y el encino en la Finca..... de Chimaltenango.

Tanto para el encino negro se colectó corteza y se colocaron en recipientes herméticos para luego ser llevadas hacia el secador eléctrico de flujo transversal con bandejas, controlándose la humedad relativa y temperatura en el proceso de secado. La semilla y la corteza secas se molieron en un molino de martillos y se sometieron al proceso de extracción de colorantes naturales, destilación con reflujo a nivel laboratorio y maceración con agitación a nivel planta piloto.

DISEÑO DE TRATAMIENTOS

Para la evaluación estadística se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo combinatorio, en el cual se aplicaron un experimento factorial evaluando 2 especies y 3 tipos de solventes (agua, etanol al 35% y etanol al 70%), con 7 repeticiones para cada una, resultando 6 unidades experimentales, y un total de 42 tratamientos. El tamaño de lote fue fijo con una relación materia seca/solvente de 1:10, tiempo de extracción de 1 hora y a temperatura de ebullición. Se realizó la misma evaluación a nivel piloto. Obtenidos los extractos éstos se aplicaron en fibras de lana y maguay utilizando el método de tinción descrito.

MANEJO DEL EXPERIMENTO:

La materia prima de aliso se recolectó en el bosque de la Fundación FUNCEDESCRI de San Lucas Sacatepequez, Guatemala y el encino se recolectó en una finca de Chimaltenango, luego se procedieron a secar en el secador eléctrico de flujo transversal de bandejas, se colocaron en recipientes herméticos, para luego ser reducidas de tamaño en un molino de martillos. Para las extracciones a nivel piloto se utilizó la marmita de acero inoxidable instalada en la Planta Piloto del Centro de Investigaciones de Ingeniería, los extractos obtenidos se secaron en el secador eléctrico de flujo transversal de bandejas y luego se procedieron a moler en molino de martillos y se obtuvo los extractos en forma de polvo de color ámbar brillante, los que se colocaron en recipientes cerrados debidamente etiquetados y se guardaron hasta utilizarlos en el proceso de tinción. .

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

A. METODO DE EXTRACCION DEL TINTE NATURAL

Se trabajó a dos niveles: en laboratorio y en planta piloto, en ambos casos se utilizó el mismo diseño.

a.1 MÉTODO DE EXTRACCIÓN DEL TINTE NATURAL A NIVEL LABORATORIO

1. La materia prima seca se colocó en un matraz de cuello corto con esmeril 24/40, de 5000 mL de capacidad; en una relación de materia prima seca/solvente de 1:10. *
2. Se colocó el condensador en el cuello del matraz y todo el equipo se colocó en una manta de calentamiento durante 1 hora a temperatura de ebullición.
3. Se procedió a filtrar.
4. Los extractos obtenidos se colocaron en recipientes cerrados color ámbar para su posterior caracterización y utilización en el proceso de tinción de fibras.
5. Para poder analizar la calidad del extracto obtenido se procedió de la siguiente manera: se concentró a presión reducida en un rotavapor, a temperatura no mayor de 40°C y girando a una velocidad constante. El tiempo de extracción de solvente fue continuo, hasta que la muestra no tuvo presencia de solvente. El residuo obtenido contiene extracto de colorante, el que fue almacenado en viales debidamente identificados y en refrigeración.
Después de obtener los extractos se le realizaron pruebas físicas y químicas, por medio de técnicas de identificación de flavonoides, cromatografía en capa fina, espectro UV.

a.2 MÉTODO DE EXTRACCIÓN DEL TINTE NATURAL A NIVEL PLANTA PILOTO

1. La materia prima seca se colocó en la marmita de acero inoxidable en una relación materia prima seca/solvente 1:10.
2. Se procedió a abrir la llave de vapor que en forma indirecta incrementa la temperatura de la mezcla hasta llegar a temperatura de ebullición durante 1 hora.
3. Se procedió a descargar la mezcla a través del conducto de salida en la parte inferior de la marmita.
4. Se procedió a filtrar.
5. El extracto así obtenido se procedió a secarlo en el secador eléctrico de flujo transversal de bandejas y luego se procedió a moler en molino de martillos y se obtuvo en forma de polvo de color ámbar brillante, el que se colocó en recipientes cerrados debidamente etiquetados y se guardó para su posterior caracterización y utilización en el teñido de fibras.

* Se utilizaron tres solventes: agua, alcohol etílico al 35% y alcohol etílico al 70%.

B. METODOS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LOS TINTES NATURALES

DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DE LOS EXTRACTOS COLORANTES

Determinación de densidad:

La determinación de la densidad de los extractos tintóreos se realizó con un picnómetro de 10 mL a temperatura de 20°C.

Determinación del índice de refracción:

Se utilizó un refractómetro Abbe. Se limpió con Xilol y se vertió una gota del extracto tintéreo en el prisma, tomando nota de la lectura del aparato.

Identificación de flavonoides:

Reacciones coloridas:

Para identificar flavonoides se utilizaron las siguientes pruebas:

- a. Reacción de Shinoda: al extracto alcohólico incoloro o ligeramente amarillo se le colocó un pequeño trozo de magnesio y unas pocas gotas de HCl concentrado el desarrollo inmediato de coloración es indicativo de la presencia de flavonas y flavonoles (amarillo a rojo), flavanonoles (rojo a magenta) flavanonas (rojo, magenta, violeta, azul), isoflavonas (amarillo), isoflavononas, chalconas y auronas no dan coloración.

- b. Reacción con H_2SO_4 concentrado a la muestra se le agregó una gota de ácido y se observa si hay cambio de color: las flavonas y flavonoles dan coloraciones fuertemente amarillas, las flavanonas, anaranjadas o guindas; las chalconas y auronas, rojo guinda o rojo azulado.

Análisis cromatográfico en capa fina

Para realizar el análisis cromatográfico se utilizó la técnica de capa fina, para realizar este análisis se deben preparar varias fases.

Preparación de la muestra

Se prepararan las muestras colocando en un tubo de ensayo 100 mg de extracto en 1 mL de metanol. La solución se somete a fuerte agitación, en un vortex. Se filtran las soluciones y el filtrado se coloca en un tubo de ensayo con tapón.

Preparación de las soluciones estándar

En un beaker se colocan 5 mg del estándar a utilizar y se mezclan con 10 mL de metanol., se agita para homogenizar la solución. Estas soluciones deben ser guardadas en recipientes cerrados y debidamente identificados.

Preparación de la fase móvil

En un beaker mezclar 50 mL de acetato de etilo, 5.5 mL de ácido fórmico, 5.5 mL de ácido acético glacial y 13.5 mL de agua (la mezcla debe estar siempre tapada para evitar evaporación). Se agita durante 5 minutos con un agitador magnético, luego se traslada la mezcla a la cámara cromatográfica la cual debe permanecer tapada.

Preparación de la placa cromatográfica

Se corta una placa de 10 cm x 18 cm de un cromatofolio de aluminio de sílice gel 60F254 y se realiza lo siguiente:

1. Trazar con lápiz, una línea horizontal un centímetro arriba de la parte inferior de la placa.
2. Marcar a lo largo de la línea horizontal 17 puntos, dejando 1 cm de separación entre cada uno.
3. Inyectar con ayuda de un capilar 5 μL de cada solución preparada (muestra + metanol), en cada punto. Hacer lo mismo con las soluciones estándar. Debe tenerse cuidado de que la mancha sea lo más pequeña posible.

Desarrollo de la placa cromatográfica

Se coloca la placa dentro de la cámara cromatográfica que contiene la fase móvil, se deja que las líneas que aparecen, lleguen a una distancia de 2 cm. abajo del borde superior de la placa. Se retira la placa y se coloca en la campana de extracción, para que seque la fase móvil, si es necesario se rocía la placa con solución reveladora, luego se observa la placa con una lámpara ultravioleta.

Preparación de las soluciones reveladoras

A la placa se le aplica un revelador para que se observen de mejor manera los colores que se forman en la placa al introducirla a una cámara de luz ultravioleta, este revelador se prepara con:

- Difenilboriloexietilamina en 1% de metanol: se pesa 0.2 g de NP y se mezcla con 20 mL de metanol.
- Polietilenglicol 4000 en 5% de etanol: se pesa 1 g de PEG y se mezcla con 20 mL de etanol.

Luego de preparar las soluciones se debe rociar la placa con cierta cantidad de cada solución reveladora.

Se observa con luz ultravioleta los puntos que coinciden con los puntos de las soluciones estándar, identificando de esta manera la presencia de colorantes del tipo flavonoides. (Ver figura 24, apéndice B)

Espectrofotometría UV

Preparación de las soluciones

Pesar 25 mg de cada muestra colocarlos en un tubo de ensayo. Mezclar con una cantidad de metanol y homogenizar la mezcla, trasladar la mezcla a un balón aforado de 25 mL y aforar con más metanol.

Obtención de los espectros

Las soluciones serán analizadas en un espectrofotómetro UV, donde se obtendrán graficas que muestran la relación entre absorbancia en función de la longitud de onda (nm).

C. MÉTODO PARA TINCIÓN DE LANA.

- a. Se lavó la lana con jabón neutro y agua a 30°C, incrementar la temperatura del agua.
- b. Preparar el mordiente (si es necesario) de la siguiente manera:
Por cada kilo de lana:
 - b.1 Pesar 100 g de sulfato de aluminio

- b.2 Pesar 60 g de tartrato ácido de potasio (cremor tártaro)
- b.3 Mezclar los reactivos con agua a 40°C suficiente para disolver las sales.
- c. Verter la lana en el recipiente donde esta el mordiente, aumentar paulatinamente la temperatura hasta 90°C por una hora, luego sacar la lana.
- d. Previamente se tiene preparado la solución tintórea a 40°C, introducir la lana en el recipiente y aumentar la temperatura hasta 90°C por una hora.
- e. Esperar que se enfríe la solución hasta 10 horas.
- f. Sacar la lana y lavar con jabón neutro hasta que la materia no destiña.
- g. Secar

D. MÉTODO PARA CARACTERIZACIÓN DE LAS FIBRAS TEÑIDAS

DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LAS FIBRAS TEÑIDAS

-SOLIDEZ AL BLANQUEO CON PERÓXIDO

Propiedad de resistencia del colorante sobre fibra frente a la acción del agua oxigenada. El ensayo se efectúa en los siguientes baños:

BAÑO 1: 5mL/L de peroxido de hidrogeno 30%, 5 mL/L silicato de sodio 35°Bé, 0.1 g/L cloruro de magnesio cristalizado pH 10.5, 1 hora a 90°C. Relación de baño 30:1

BAÑO 2: 3g/L peroxido de sodio, 5mL/L silicato de sodio 35°Bé 0.1 g/L cloruro de magnesio cristalizado, pH 1.5, 1hora a 80°C. Relación de baño: 30:1

BAÑO 3: 20mL/L peroxido de hidrogeno 30%, 5mL/L pirofosfato tetrasódico cristalizado, pH 9.3, 2 horas a 50°C. Relación de baño: 1:30.

BAÑO 4: 20mL/L peroxido de hidrogeno 30%, 5mL/L silicato de sodio 35°Bé, pH 10, 2 horas a 70°C. Relación de baño: 30:1.

-SOLIDEZ A LA LUZ

Prueba que determina el grado de resistencia a la degradación por la luz de un colorante determinado sobre un tejido, hilo o fibra. Refiriendo el resultado de las pruebas a una escala con patrones conocidas. Existe una escala de 1 a 8 en el que 1 representa el grado mas bajo y el 8 el más alto. Para realizar la prueba se expone una porción de la muestra de fibras a la luz solar directa mientras que la otra porción se mantiene cubierta, esto durante un periodo de 24 horas,

- SOLIDEZ AL LAVADO

Prueba determinativa de la resistencia presentada por el género teñido a la operación de lavado en sus distintas condiciones prácticas:

Test 1/40°C:

5g/L jabón, 30 minutos a 40°C, relación de baño: 50:1

Test 3/60°C:

5g/L jabón, 2g/L soda ash, 30 minutos a 60°C, relación de baño: 50:1

Test 4/95°C:

5g/L jabón, 2 g/L soda ash, 30 minutos a 95°C, relación de baño: 50:1

-SOLIDEZ AL HIPOCLORITO ENERGICO

Propiedad de resistencia del colorante sobre la fibra frente a la acción de hipoclorito en el siguiente ensayo:

La tela o hilo es tratada por 60 minutos a 20°C en una solución de hipoclorito de sodio conteniendo 2.0 g/L cloro activo, pH 11, relación de baño 50:1, luego se trata con una solución de peroxido de hidrogeno por 10 minutos.

-SOLIDEZ AL CLORO

Propiedad de resistencia del colorante sobre la fibra frente a la acción del cloro con el siguiente ensayo:

Solución de hipoclorito de sodio con 20 mg/L activo de cloro, pH 8.5, 4 horas a temperatura ambiente. Relación de baño 100:1

-SOLIDEZ A LA LIMPIEZA EN SECO

Propiedad de resistencia del colorante sobre el género teñido a la drycleaning, se efectúa con percloroetileno, 30 segundos a 30°C sin detergente.

-SOLIDEZ A LA SUBLIMACION

30 segundos de contacto (calentado en una plancha de laboratorio por ambos lados utilizando la misma presión)

a) a 150°C

a) a 180°C

a) a 210°C

La escala de solidez mas generalmente utilizada, es la siguiente:

Para solidez a la luz

1 = Escasa
3 = Regular
5 = Buena
7 = Muy Buena
8 = Excelente

Para los demás caracteres de solidez:

1 = Escasa
2 = Regular
3 = Buena
4 = Muy Buena
5 = Excelente

Materiales y suministros

Probetas
Guantes
Equipo de filtración a nivel laboratorio
Beackers
Condensadores
Embudos
Varillas de agitación
Agitadores magnéticos
Cubetas
Termómetro
Manta, lana, maguey.
Etanol
Mordientes (tartrato ácido de potasio y sulfato de aluminio)
Estándares para colorimetría
Papel parafilm
Agua destilada
Gasolina
Diesel para el funcionamiento de la caldera

Mobiliario y equipo

2 Planchas de calentamiento
Equipo de filtración a nivel laboratorio
Condensadores
Refractómetro
Balanza analítica
Molino de aspas
Bomba de vacío
Potenciómetro
Espectrofotómetro

Reactor

Secador eléctrico

4 balones de cuello corto con esmeril 24/40 de 5 000 mL de capacidad

3 mantas de calentamiento con controlador, de 2000-5000 mL

4 condensadores tipo pirex de 500 mm de largo con esmeril 24/40.

1 cámara digital

1 analizador de humedad.

1 Equipo de filtración a nivel piloto.

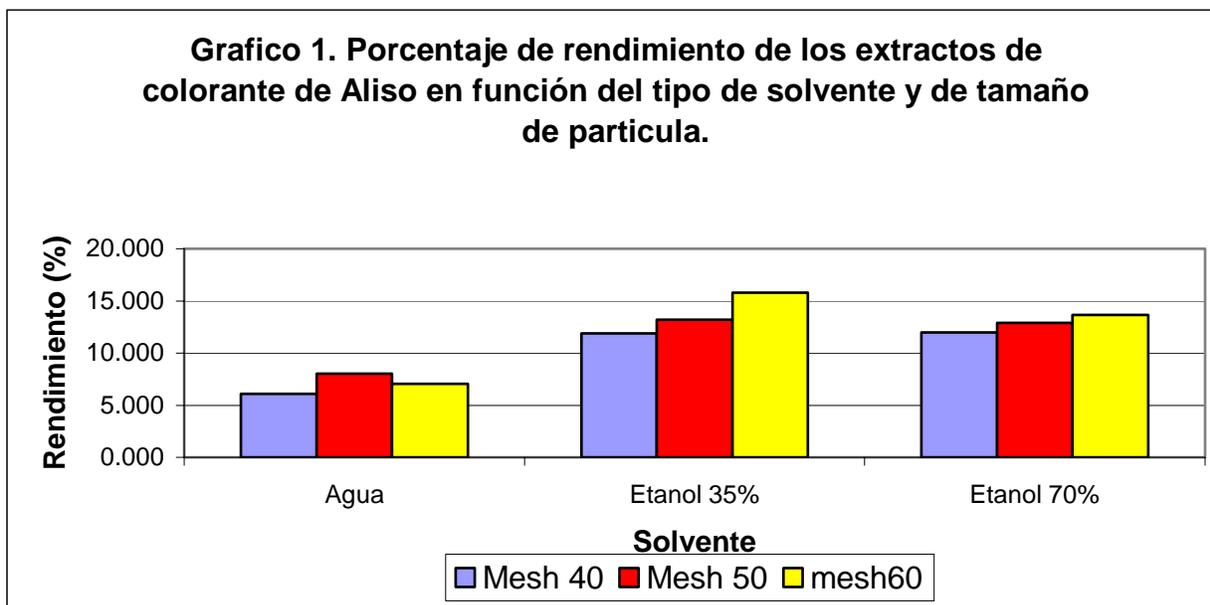
VII RESULTADOS Y SU DISCUSIÓN

Tabla No. 1. Rendimiento porcentual de extractos tanicos.

Solvente	Tamaño de partícula (mesh)					
	Aliso			Encino		
	40	50	60	40	50	60
Agua	6.107	8.000	7.067	10.933	12.987	15.347
Etanol 35%	11.867	13.173	15.787	13.733	17.733	17.267
Etanol 70%	11.987	12.893	13.653	11.080	16.853	18.573

En la tabla No. 1 se muestra el rendimiento porcentual del extracto colorante obtenido al procesar tanto la corteza de Aliso común como de Encino Negro. En ella se puede apreciar que la especie que presenta menor valor de rendimiento es el aliso con un valor promedio de 11.17% y en el encino es de 14.85%.e

En ambos casos hay efectos muy claros en el rendimiento en función del solvente utilizado y del tamaño de mesh y se observa que hay iinteraccion entre ellos, (P menor a 0.02 en todos los casos, según se observan los valores en el análisis estadístico realizado, el cual se muestra en el anexo). En cuanto al solvente, con el etanol se produce un mayor rendimiento que con el agua. Utilizando materia prima de un tamaño de partícula de mesh de 60 se obtuvo un mejor rendimiento que utilizando mesh 40 ó 50.



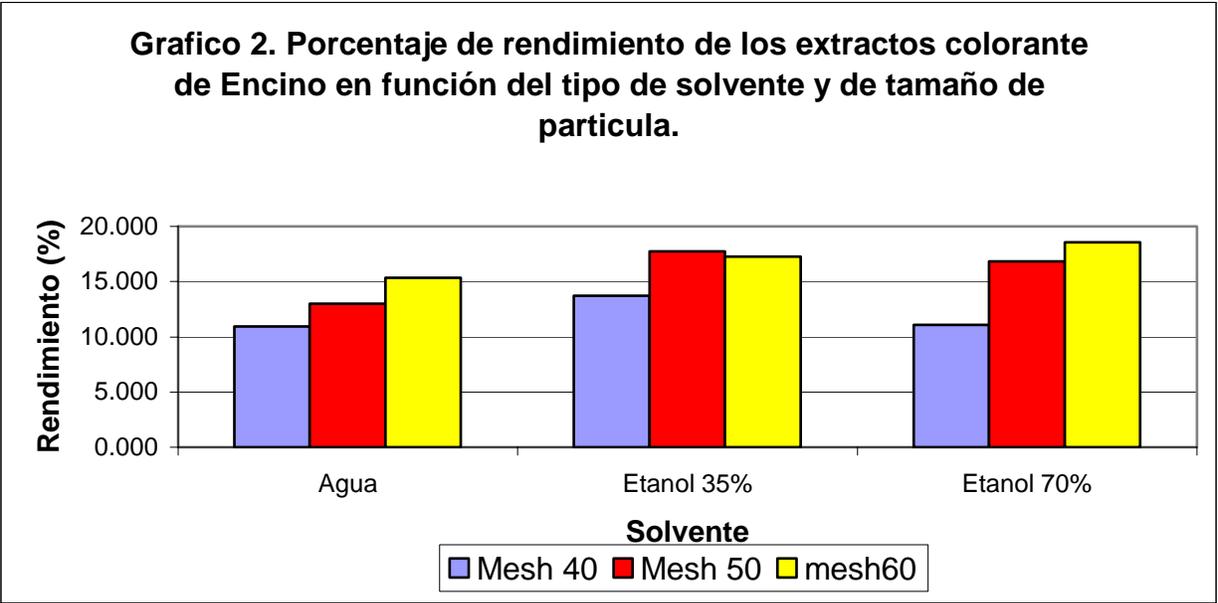
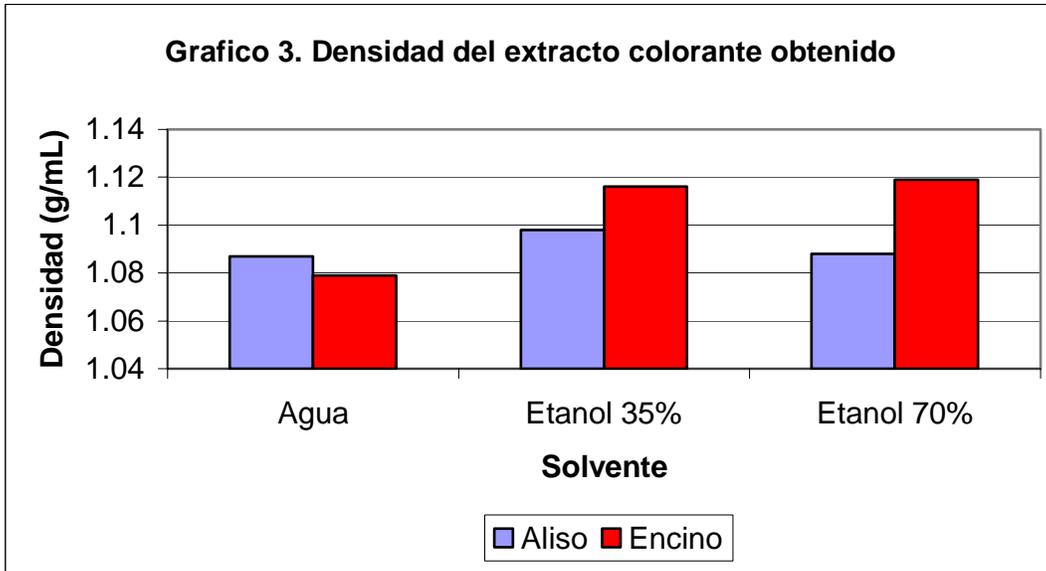


Tabla No. 2. Tablas de propiedades fisicoquímicas de los extractos colorantes.

Solvente	Densidad (g/mL)		Indice de refracción	
	Aliso	Encino	Aliso	Encino
Agua	1.087	1.079	1.350	1.365
Etanol 35%	1.098	1.116	1.360	1.415
Etanol 70%	1.088	1.119	1.356	1.399

Para los valores de densidad obtenidos, solo hay efecto significativo del solvente,



Para los valores obtenidos del índice de refracción, hay efectos significativos según la especie, el solvente utilizado y su interacción. Se observan valores de índice de refracción mayores en los extractos colorantes de encino que en los del aliso y se obtienen valores también mas altos al utilizar como solvente etanol que agua.

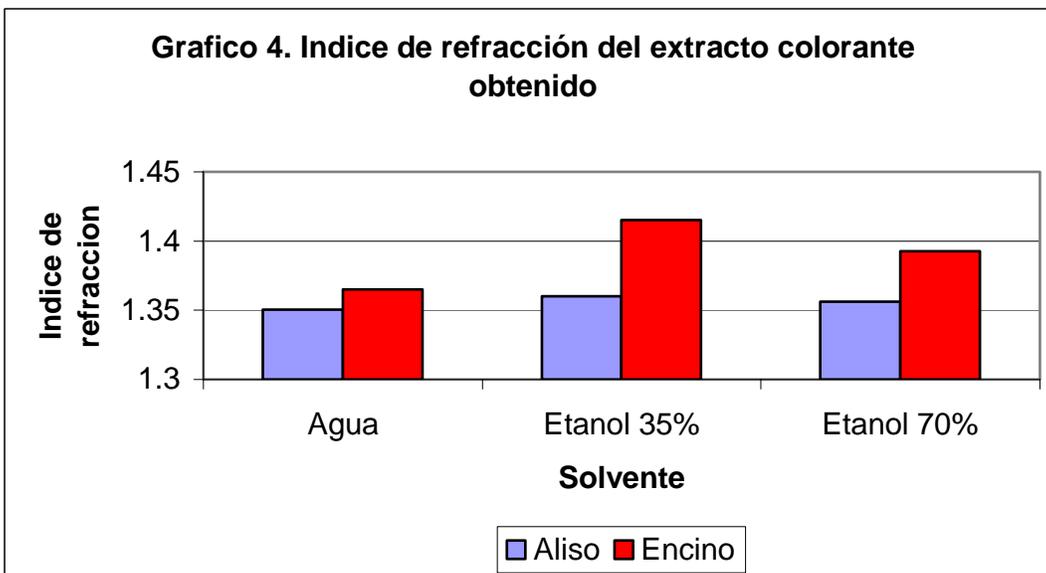


Tabla No. 3. Reacción colorida de Shinoda para la identificación de Flavonoides en el extracto colorante.

Especie	Solvente	Flavonoide identificado
Aliso Común	Agua	Flavonas y Flavonoles
	Etanol al 35%	Flavonas y Flavonoles
	Etanol al 70%	Flavonas y Flavonoles
Encino Negro	Agua	Flavanonoles
	Etanol al 35%	Flavanonoles
	Etanol al 70%	Flavanonoles

Los colorantes naturales que por sus características físicas se clasifican como pigmentos, comprenden numerosos tipos de sustancias, que por lo general se dividen en dos grandes grupos. El primer grupo abarca aquellos pigmentos que contienen Nitrógeno, como las Hemoglobinas, las clorofilas. El segundo grupo está formado por pigmentos sin Nitrógeno. Los Carotenoides son miembros de este grupo, como lo son los pigmentos vegetales llamados Flavonoides.

Se observa en el extracto colorante de la corteza de aliso común están presentes los Flavonoides denominados Flavonas y Flavonoles, mientras que en el extracto colorante de la corteza de encino están presentes los Flavanonoles, en los dos casos, independiente del tipo de solvente utilizado.

Tabla No. 4. Reacción colorida con Ácido Sulfúrico para la identificación de Flavonoides en los extractos colorantes.

Especie	Solvente	Flavonoide identificado
Aliso Común	Agua	Flavonas y Flavonoles
	Etanol al 35%	Flavonas y Flavonoles
	Etanol al 70%	Flavonas y Flavonoles
Encino Negro	Agua	Chalconas y Auronas
	Etanol al 35%	Chalconas y Auronas
	Etanol al 70%	Chalconas y Auronas

De igual manera que con la reacción colorida de Shinoda, para la reacción colorida con Ácido Sulfúrico, se observa que en el extracto colorante de la corteza de aliso común, los Flavonoides identificados son Flavonas y Flavonoles, mientras que en el extracto colorante de la corteza de encino los Flavonoides identificados son Chalconas y Auronas, independiente del tipo de solvente utilizado.

Tabla No. 5. Análisis cromatográfico en capa fina para la determinación de la presencia de Quercitina, Rutina, Ácido Clorogénico, Hiperósido y Antroquinonas en los extractos colorantes.

Especie	Solvente	Ácido Clorogénico	Rutina	Hiperósido	Quercitina	Antroquinonas
Aliso Común	Agua	-	+	-	-	-
	Etanol al 35%	-	+	-	-	-
	Etanol al 70%	-	+	-	-	-
Encino Negro	Agua	+	-	+	-	-
	Etanol al 35%	+	-	+	-	-
	Etanol al 70%	+	-	+	-	-

Se observa que el extracto colorante de aliso común no posee ácido clorogénico, independiente del solvente utilizado, mientras que el extracto colorante de encino sí lo posee independiente del solvente utilizado. La prueba para Rutina es positiva para el extracto colorante de aliso común, mientras es negativa para el extracto de encino, también, independiente del solvente utilizado. En cuanto al Hiperósido, éste solo está presente en los extractos obtenidos del encino con los 3 diferentes solventes. Las pruebas para Quercitina y Antroquinonas son negativas para ambos extractos, independiente del solvente utilizado.

Tabla No. 6. Prueba de taninos para extracto colorante de corteza de aliso común.

Prueba \ Solvente	Solvente			Tipo de tanino
	Agua	Etanol al 35%	Etanol al 70%	
Gelatina gel 1%	+	+	+	Catecol
Gelatina Sal	+	+	+	Catecol
Cloruro Férrico	+	+	+	Catecol

Las 3 pruebas para determinar presencia de taninos en los extractos colorantes de aliso fueron positivas, independiente del solvente utilizado, estableciéndose según las pruebas que el tipo de tanino es Catecol.

Tabla No. 7. Prueba de taninos para extracto colorante de corteza de encino negro.

Solvente Prueba	Agua	Etanol al 35%	Etanol al 70%	Tipo de tanino
Gelatina gel 1%	+	+	+	Pirogalol
Gelatina Sal	+	+	+	Pirogalol
Cloruro Férrico	+	+	+	Pirogalol

Las 3 pruebas para determinar presencia de taninos en los extractos colorantes de encino fueron positivas, independiente del solvente utilizado, estableciéndose según las pruebas que el tipo de tanino en este extracto es Pirogalol.

Tabla No. 8. Determinación de cumarinas en los extractos colorantes de corteza.

Especie	Solvente	Cumarinas
Aliso Común	Agua	-
	Etanol al 35%	-
	Etanol al 70%	-
Encino Negro	Agua	-
	Etanol al 35%	-
	Etanol al 70%	-

La prueba para determinación de cumarinas resultó negativa para ambos extractos, independiente del solvente utilizado.

En la tabla No.9 se puede apreciar los resultados de las pruebas de solidez a las cuales fueron sometidos los colorantes ya aplicados a las fibras naturales.

El primer ensayo es la prueba de solidez a la Luz, que consiste en observar el efecto sobre el color de las fibras teñidas después de una exposición de 24 horas de luz solar. Para la evaluación de los resultados se compara la muestra de fibra expuesta con una porción no expuesta (ver figura 1 a 5) y se pondera el efecto de acuerdo a la siguiente escala: 1 = Escasa, 3 = Regular, 5 = Buena, 7 = Muy Buena, 8 = Excelente

En la fibra de maguey teñida con colorante de aliso ó encino, se observó un oscurecimiento fuerte de la misma, por lo que se le asigna un valor de 3 (resistencia

regular a la degradación del color). Se realizó la prueba a una muestra testigo, que es fibra de maguey sin teñir y se observó también un oscurecimiento fuerte de la misma, por lo que se puede inferir que el oscurecimiento observado en las fibras teñidas puede deberse a una degradación en la naturaleza de la fibra al ser expuesta al sol y no una degradación del color.

En la fibra de lana teñida con colorante de aliso ó encino, se observó solo un ligero oscurecimiento por lo que se le asigna un valor de 7 (resistencia muy buena a la degradación del color). Se realizó también la prueba a una muestra testigo, que es fibra de lana sin teñir y se observó también un ligero oscurecimiento de la misma, por lo que se puede inferir que el ligero oscurecimiento observado en las fibras teñidas puede deberse a una degradación en la naturaleza de la fibra al ser expuesta al sol y no una degradación del color.

Tabla No. 9. Pruebas de solidez a fibras naturales de lana y maguey teñidas con colorantes extraídos de la corteza de aliso y encino.

Solidez*	Lana		Maguey	
	Aliso	Encino	Aliso	Encino
A la luz	7	7	3	3
Al lavado				
Test 1/40°C	5	5	5	5
Test 2/60°C	4-5	4-5	4-5	4-5
Test 3/95°C	4	4	4	4
Al hipoclorito enérgico	3	3	1	1
Al cloro	5	5	5	5
A la sublimación				
T = 150°C	5	5	5	5
T = 180°C	5	5	5	5
T = 210°C	1	1	1	1

* Para solidez a la luz

Para los demás caracteres de solidez:

1 = Escasa
 3 = Regular
 5 = Buena
 7 = Muy Buena
 8 = Excelente

1 = Escasa
 2 = Regular
 3 = Buena
 4 = Muy Buena
 5 = Excelente

Figura 1. Solidez a la luz.



El segundo ensayo mostrado en la tabla No.9, es la solidez al lavado el cual es una prueba de la resistencia presentada por la fibra teñida a la operación de lavado en sus distintas condiciones prácticas. Se utilizó el procedimiento establecido en el Manual para Determinación de Solidez, Ulshöfer, Hermann. "Colour Fastness Tests"., Clariant (Switzerland) Ltd, Basel, December 2002. pp.49-51, utilizando el equipo establecido en la norma respectiva. Se observó que las fibras teñidas de lana y maguey, resistieron a la operación del lavado a la temperatura de 40°C y 60°C, por lo que se le asigna un valor de solidez de 5 (resistencia excelente presentada por las fibras), para ambos extractos tánicos y ambas fibras. Por otra parte la solidez al lavado llevado a cabo a una temperatura de 95°C, muestra un valor de 4 que corresponde a una respuesta muy buena respecto a la prueba.

El tercer ensayo es el de la solidez al hipoclorito enérgico

Figura 3. Solidez al hipoclorito energético



Las fibras de lana y magüey teñidas con los extractos colorantes de corteza de aliso y encino fueron tratadas por 60 minutos a 20°C con una solución de hipoclorito de sodio conteniendo 2.0 g/L de cloro activo, observándose decoloración total en la fibra de magüey por lo que se le asigna un valor de solidez de 1 (resistencia escasa a la degradación del color) y decoloración menos severa en la fibra de lana, por lo que se le asigna un valor de solidez de 3 (resistencia buena a la degradación del color).

Figura 4. Solidez al cloro.



La prueba de solidez al cloro es la propiedad de resistencia del colorante sobre la fibra sobre la acción del cloro, utilizando una solución de hipoclorito de sodio conteniendo 20 mg/L de cloro activo, durante 4 horas a temperatura ambiente. Se observó que las fibras no sufrieron decoloración, por lo que se le asigna un valor de solidez de 5 (excelente resistencia del colorante sobre la fibra a la acción del cloro), para ambos colorantes y ambas fibras.

Figura 5. Solidez a la sublimación.



La prueba de solidez a la sublimación se refiere a la resistencia de la fibra teñida a la acción del calor, durante 30 segundos, a 3 diferentes temperaturas. Las fibras calentadas con planchas por ambos lados, a la misma temperatura utilizando la misma presión.

Para valores de temperatura de 150oC y 180oC se observó que las fibras teñidas resistieron a la acción del calor, por lo que se les asigna un valor de solidez de 5(resistencia excelente de la fibra teñida a la acción del calor), para ambos extractos colorantes y ambas fibras), pero para temperatura de 210oC, se observó un fuerte deterioro de la fibra teñida, por lo que le asigna un valor de solidez de 1(escasa resistencia de la fibra teñida a la acción del calor), para ambos extractos colorantes y ambas fibras.

IX CONCLUSIONES

1. El rendimiento en el extracto colorante obtenido es claramente muy diferente dependiendo de la especie forestal que se trate,, ya que se obtuvo un valor promedio de 11.17% y 14.85% respectivamente
2. En el rendimiento del extracto colorante obtenido de las dos especies hay influencia del solvente utilizado, del mesh y de la interacción entre ellos. En cuanto al solvente, el etanol claramente produce mayor rendimiento que el agua. El mesh de 60 resultó con mejor rendimiento que los otros.
3. Hay efectos significativos de especie, solvente y su interacción.
4. El encino da mayor índice que el aliso, el etanol mayor que el agua.
5. Solo hay efecto significativo del solvente, aunque también hay que juzgar si esta diferencia tiene sentido práctico.

X. RECOMENDACIONES

1. Aplicar los colorantes naturales extraídos de la corteza de Aliso y Encino a otras fibras naturales como algodón y lino.
2. Aplicar los colorantes naturales extraídos de la corteza de Aliso y Encino a fibras sintéticas.
3. Evaluar el potencial tintóreo de otras especies forestales y su aplicación a fibras naturales.

XI. REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA

1. Cáceres, Armando. **Plantas de uso medicinal en Guatemala.** (Colección Monografías, Volumen 1). Guatemala: Editorial Universitaria. 1996. Pp. 18-23, 27.
2. Domínguez M., Augusto Alberto. **Extracción de los pigmentos colorantes del tipo xantofilas contenidos en la flor *Tagetes Erecta* (Marigold).** Tesis Ing. Química. Guatemala, USAC, Facultad de Ingeniería, 1987. 50 pp.
3. Domínguez, Xorge. **Métodos de investigación fitoquímica.** México: Editorial Limusa, 1973. 250 pp.
4. Donado Miranda, Marco Antonio. **Extracción de carotenoides de la *caléndula* para su utilización como colorante natural en productos para consumo humano.** Tesis Ing. Química. Guatemala, USAC, Facultad de Ingeniería, 2000. 47 pp.
5. Hurtado, L. Citado por Cecilia Valencia, **Los productos de las plantas: una visión integral.** (México: 1985)
6. Kirk, Raymond y Donald Othmer. **Enciclopedia de tecnología química.** (Volumen 1). México: Editorial Hispanoamericana. 1962. 625 pp.
7. Ibid., Volumen V. 630 pp.
8. Lock O. Citado por Cecilia Valencia, **Colorantes naturales.** (Perú: 1997)
9. Schemelkes, Corina. **Manual para la presentación de anteproyectos e informes de investigación.** (Colección textos universitarios en ciencias sociales). México: Editorial Harla, 1988. 214 pp.
10. **Plantas alimenticias y medicinales de las zonas semiáridas de Guatemala.** Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP). 1988. 250 pp.
11. Colorantes, www.arbolesornamentales.com, 7 al 11 de abril de 2004.
12. Acacia Farnesiana, www.tlahui.com, 7 al 11 de abril de 2004.
13. Vinorama, www.herbotecnia.com.ar, 7 al 11 de abril de 2004.
14. Colorantes vegetales. www.fao.org, 21 de abril de 2004.

Inga. Ericka Johanna Cano Díaz
Investigadora Titular I

Ing. Jorge Emilio Godínez Lemus
Investigador Titular I

Inga. Cinthya Patricia Ortiz Quiroa
Investigadora Titular I

Inga. Telma Maricela Cano Morales
Coordinadora del Proyecto 6-46 PUIDI

Vo.Bo. Ing. César Alfonso García Guerra
Director Centro de Investigaciones de Ingeniería, CII
Facultad de Ingeniería, USAC

ANEXO

DATOS ORIGINALES

Tabla No. 10. Porcentaje de rendimiento de extracto colorante de la corteza molida de aliso y encino a distintos tamaños de partícula.

Corteza	Solvente	Mesh	% de Rendimiento
Aliso Común	Agua	40	6.11
		50	8.00
		60	7.06
	Etanol al 35%	40	11.86
		50	13.17
		60	15.78
	Etanol al 70%	40	11.98
		50	12.89
		60	13.65
Encino Negro	Agua	40	10.93
		50	13.50
		60	15.34
	Etanol al 35%	40	13.77
		50	17.73
		60	17.27
	Etanol al 70%	40	10.91
		50	16.85
		60	18.57

Tabla No. 11. DENSIDAD DE LOS EXTRACTOS COLORANTES A 20°C.

Corteza	Solvente	Corrida	Densidad (g/mL)	Promedio
Aliso Común	Agua	1	1.0800	1.087
		2	1.0835	
		3	1.0975	
	Etanol al 35%	1	1.0875	1.098
		2	1.1000	
		3	1.1050	
	Etanol al 70%	1	1.0815	1.088
		2	1.099	
		3	1.0825	
Encino Negro	Agua	1	1.0930	1.079
		2	1.0600	
		3	1.0830	
	Etanol al 35%	1	1.1330	1.116
		2	1.0860	
		3	1.1290	
	Etanol al 70%	1	1.1130	1.119
		2	1.1230	
		3	1.1230	

Tabla No. 12. INDICES DE REFRACCIÓN

Corteza	Solvente	Corrida	Índice de refracción	Promedio
Aliso Común	Agua	1	1.3521	1.3504
		2	1.3459	
		3	1.3532	
	Etanol al 35%	1	1.3600	1.3600
		2	1.3595	
		3	1.3605	
	Etanol al 70%	1	1.3585	1.3562
		2	1.3520	
		3	1.3580	
Encino Negro	Agua	1	1.3510	1.3649
		2	1.3680	
		3	1.3759	
	Etanol al 35%	1	1.4145	1.4151
		2	1.4153	
		3	1.4156	
	Etanol al 70%	1	1.3925	1.3927
		2	1.3905	
		3	1.3950	

ANÁLISIS ESTADÍSTICO UTILIZANDO EL PAQUETE SAS

The SAS System

7

----- SP=ALISO -----

Analysis of Variance Procedure Class Level Information

Class	Levels	Values
SOLV	3	AGUA ETANOL35 ETANOL70
MESH	3	40 50 60
REP	3	1 2 3

Number of observations in by group = 27

The SAS System

8

----- SP=ALISO -----

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: REND

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
> F					
Model	8	264.41896296	33.05237037	43.14	
0.0001					
Error	18	13.79093333	0.76616296		
Corrected Total	26	278.20989630			

Mean	R-Square	C.V.	Root MSE	REND
11.170370	0.950430	7.835974	0.8753074	

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
> F					
SOLV	2	230.96082963	115.48041481	150.73	
0.0001					

MESH	2	21.89238519	10.94619259	14.29
0.0002				
SOLV*MESH	4	11.56574815	2.89143704	3.77
0.0213				

The SAS System

9

----- SP=ALISO -----

Analysis of Variance Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: REND

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 18 MSE= 0.766163
 Critical Value of Studentized Range= 3.609
 Minimum Significant Difference= 1.0531

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SOLV
A	13.6089	9	ETANOL35
A			
A	12.8444	9	ETANOL70
B	7.0578	9	AGUA

The SAS System

10

----- SP=ALISO -----

Analysis of Variance Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: REND

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 18 MSE= 0.766163
 Critical Value of Studentized Range= 3.609
 Minimum Significant Difference= 1.0531

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	MESH
A	12.1689	9	60
A			
A	11.3556	9	50
B	9.9867	9	40

Level of SOLV	Level of MESH	N	Mean	SD
AGUA	40	3	6.1066667	0.66613312
AGUA	50	3	8.0000000	0.59194594
AGUA	60	3	7.0666667	0.68039204
ETANOL35	40	3	11.8666667	0.25403412
ETANOL35	50	3	13.1733333	0.40265784
ETANOL35	60	3	15.7866667	1.42004695
ETANOL70	40	3	11.9866667	0.41052812
ETANOL70	50	3	12.8933333	0.81026745
ETANOL70	60	3	13.6533333	1.60316354

The SAS System

11

----- SP=ENCINO -----

Analysis of Variance Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
SOLV	3	AGUA ETANOL35 ETANOL70
MESH	3	40 50 60
REP	3	1 2 3

Number of observations in by group = 27

The SAS System

12

----- SP=ENCINO -----

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: REND

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
> F					

Model	8	199.11656296	24.88957037	27.83
0.0001				
Error	18	16.09813333	0.89434074	
Corrected Total	26	215.21469630		

Mean	R-Square	C.V.	Root MSE	REND
14.949630	0.925200	6.325882	0.9456959	

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
> F					
SOLV	2	49.31069630	24.65534815	27.57	
0.0001					
MESH	2	129.71389630	64.85694815	72.52	
0.0001					
SOLV*MESH	4	20.09197037	5.02299259	5.62	
0.0041					

The SAS System 13

----- SP=ENCINO -----

Analysis of Variance Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: REND

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 18 MSE= 0.894341
 Critical Value of Studentized Range= 3.609
 Minimum Significant Difference= 1.1378

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SOLV
A	16.2578	9	ETANOL35
A			
A	15.5022	9	ETANOL70
B	13.0889	9	AGUA

The SAS System 14

Analysis of Variance Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: REND

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 18 MSE= 0.894341
 Critical Value of Studentized Range= 3.609
 Minimum Significant Difference= 1.1378

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	MESH
A	17.0622	9	60
B	15.8578	9	50
C	11.9289	9	40

Level of SOLV	Level of MESH	N	-----REND----- Mean	SD
AGUA	40	3	10.9333333	0.32331615
AGUA	50	3	12.9866667	0.95022804
AGUA	60	3	15.3466667	0.81616992
ETANOL35	40	3	13.7733333	0.18036999
ETANOL35	50	3	17.7333333	0.84126888
ETANOL35	60	3	17.2666667	1.46769661
ETANOL70	40	3	11.0800000	0.43266615
ETANOL70	50	3	16.8533333	1.58206616
ETANOL70	60	3	18.5733333	0.88934433

Analysis of Variance Procedure
 Class Level Information

Class	Levels	Values
SP	2	ALISO ENCINO
SOLV	3	AGUA ETANOL35 ETANOL70
REP	3	1 2 3

Number of observations in data set = 18

The SAS System

30

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: REFRA

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
> F					
Model 0.0001	5	0.00956806	0.00191361	58.54	
Error	12	0.00039227	0.00003269		
Corrected Total	17	0.00996033			

Mean	R-Square	C.V.	Root MSE	REFRA
1.3732222	0.960617	0.416351	0.0057174	

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
> F					
SP 0.0001	1	0.00563922	0.00563922	172.51	
SOLV 0.0001	2	0.00269188	0.00134594	41.17	
SP*SOLV 0.0002	2	0.00123696	0.00061848	18.92	

The SAS System

31

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: DENS

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
> F					
Model 0.0232	5	0.00418462	0.00083692	3.98	
Error	12	0.00252450	0.00021037		
Corrected Total	17	0.00670912			

Mean	R-Square	C.V.	Root MSE	DENS
------	----------	------	----------	------

1.0977500 0.623721 1.321276 0.0145043

Source > F	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
SP 0.0622	1	0.00088901	0.00088901	4.23	
SOLV 0.0290	2	0.00203108	0.00101554	4.83	
SP*SOLV 0.0875	2	0.00126453	0.00063226	3.01	

The SAS System 32

Analysis of Variance Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: REFRA

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 12 MSE= 0.000033
 Critical Value of Studentized Range= 3.081
 Minimum Significant Difference= 0.0059

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SP
A	1.390922	9	ENCINO
B	1.355522	9	ALISO

The SAS System 33

Analysis of Variance Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: DENS

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 12 MSE= 0.00021
 Critical Value of Studentized Range= 3.081
 Minimum Significant Difference= 0.0149

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SP
----------------	------	---	----

A	1.104778	9	ENCINO
A			
A	1.090722	9	ALISO

The SAS System

34

Analysis of Variance Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: REFRA

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 12 MSE= 0.000033
 Critical Value of Studentized Range= 3.773
 Minimum Significant Difference= 0.0088

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SOLV
A	1.387567	6	ETANOL35
B	1.374417	6	ETANOL70
C	1.357683	6	AGUA

The SAS System

35

Analysis of Variance Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: DENS

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 12 MSE= 0.00021
 Critical Value of Studentized Range= 3.773
 Minimum Significant Difference= 0.0223

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SOLV
A	1.106750	6	ETANOL35
A			
B A	1.103667	6	ETANOL70
B			
B	1.082833	6	AGUA

Level of SP	Level of SOLV		-----REFRA-----		-----DENS-----	
		N	Mean	SD	Mean	SD
ALISO 0.00926013	AGUA	3	1.35040000	0.00393573	1.08700000	
ALISO 0.00901388	ETANOL35	3	1.36000000	0.00050000	1.09750000	
ALISO 0.00982768	ETANOL70	3	1.35616667	0.00361709	1.08766667	
ENCINO 0.01692139	AGUA	3	1.36496667	0.01272412	1.07866667	
ENCINO 0.02605763	ETANOL35	3	1.41513333	0.00056862	1.11600000	
ENCINO 0.00577350	ETANOL70	3	1.39266667	0.00225462	1.11966667	