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

INFORME FINAL

PROYECTO

ESTUDIO TECNOLÓGICO SOBRE LOS TINTES NATURALES EXTRAÍDOS DE LA CORTEZA DE TRES ESPECIES FORESTALES CULTIVADAS EN GUATEMALA, PARA TEÑIR FIBRAS NATURALES QUE CUMPLAN CON ESPECIFICACIONES DE CALIDAD EXIGIDAS POR EL MERCADO.

EQUIPO DE INVESTIGACIÓN

COORDINADORA: Inga Qca. Telma Maricela Cano Morales
INVESTIGADORA ASOCIADA: Inga. Ind. Ericka Johanna Cano Díaz.
INVESTIGADORA ASOCIADA: Inga. Qca. Tannia Magaly De León Morán
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. Edward Mario Guerrero Gutierrez
AUXILIAR DE INVESTIGACIÓN: Br. Mayra Alejandra Portillo García
AUXILIAR DE INVESTIGACIÓN: Br. Genaro Francisco Barrera García

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2007

Resumen:

El presente proyecto, enmarcado en la línea de Investigación sobre Colorantes Naturales, fue ejecutado en la Sección de Química industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería, CII, con participación del Instituto de Investigaciones Agronómicas y Ambientales, IIA, de la Universidad de San Carlos de Guatemala. El propósito principal del proyecto fue Obtener tintes naturales a nivel laboratorio y planta piloto de la corteza de 3 especies forestales guatemaltecas**:** chaperno(*Lonchocarpus rugosus*), quebracho(*Lisyloma bahamense*) y aliso(*Alnus arguta*), utilizando 3 solventes (agua y alcohol etílico al 35% y al 70%), con el fin de teñir fibras naturales de lana, maguey y algodón que cumplan con las especificaciones exigidas por el mercado nacional e internacional.

Se evaluó la calidad de los extractos tintóreos obtenidos a nivel de laboratorio realizando la caracterización fisicoquímica para comprobar la presencia de pigmentos colorantes por medio de pruebas colorimétricas y cromatográficas.

Se evaluó la calidad de las fibras teñidas con los extractos tintóreos obtenidos de la corteza de las tres especies forestales guatemaltecas mediante la aplicación de pruebas fisicoquímicas de solidez.

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 realizan proyectos en diferentes comunidades del altiplano guatemalteco y del área de nororiente, teniendo como misión la búsqueda de alternativas de aprovechamiento de los recursos naturales 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 3 especies forestales con potencial para su uso en la industria textil en el teñido de fibras. Actualmente las comunidadades de Momostenango, Totonicapán y Tunucó Arriba, municipio de Jocotán, Chiquimula, utilizan extractos tintóreos acuosos de diversidad de plantas para el teñido de las fibras que usan en la elaboración de artesanías, confección de prendas de vestir y ropa de cama. Los mencionados extractos tintóreos acuosos son obtenidos de una manera empírica; los cuales al usarlos como extractos acuosos deben usarse inmediatamente para evitar el crecimiento de hongos y mohos y no se tiene disponibilidad de los mismos en algunas épocas del año; por lo que con los resultados del presente proyecto se podrá asesorar a los habitantes del altiplano y del área de nororiente, que se dedican a la industria textil, en el proceso de 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.
Guatemala fue exportador de tintes naturales obtenidos del añil, cochinilla y palo amarillo; sin embargo, actualmente no se tiene ningún producto de exportación como tinte natural, al contrario, si los tintoreros momostecos importan el tinte natural de añil de México o El Salvador, donde se ha reiniciado la producción del mismo, por lo que este proyecto reviste 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 3 especies forestales estudiadas, sino también de otras especies vegetales afines.

Se realizó la extracción y caracterización de tintes naturales de 3 especies forestales guatemaltecas, obteniendo los siguientes resultados:

La especie que presenta mayor valor de rendimiento es el aliso, que es 25.91% utilizando como solvente etanol al 35%. El menor valor de rendimiento obtenido es de 8.55% para la especie quebracho utilizando agua como solvente.

Cada uno de los solventes tiene diferente poder extractivo en función de la especie y existe diferencia significativa entre la interacción entre especies y solventes. En cuanto al solvente, con el etanol se produce un mayor rendimiento que con el agua.

Utilizando como solvente alcohol etílico al 70% se obtienen los valores mas altos , de índice de refracción, se obtienen valores intermedios con alcohol etílico al 35% y los valores mas bajos se obtienen con agua.

En el extracto colorante de la corteza de aliso común(Alnus arguta) están presentes los Flavonoides denominados Flavonas y Flavonoles, en el extracto colorante de la corteza de chaperno están presentes los ácidos fenólicos, independiente del tipo de solvente utilizado y en el extracto colorante de la corteza de quebracho no fue identificado con esta prueba ningún grupo fenol.

El extracto colorante de aliso común(Alnus arguta), posee rutina, independiente del solvente utilizado, mientras que el extracto colorante de chaperno posee ácido cafeico,

El extracto colorante de la corteza de aliso común(Alnus arguta) están presentes los Flavonoides denominados Flavonas y Flavonoles, mientras que en el extracto colorante de la corteza de chaperno están presentes los ácidos fenólicos,

El tipo de tanino en el extracto colorante de quebracho es catecol y para los extractos colorantes de chaperno y quebracho es pirogalol..

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, Totonicapán 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 aliso(Alnus arguta), quebracho y chaperno, pudiendo ampliarse el estudio con nuevas plantas. Con el antecedente además de que en proyectos anteriores financiados

por DIGI se han realizado estudios con otras especies forestales en relación a la extracción de taninos y su poder de curtición.

La comunidad de Momostenango, Totonicapán y la comunidad de Tunucó Arriba, Jocotán, Chiquimula 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:

1.1 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.”.

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 han sido ampliamente utilizados en la preparación de alimentos y bebidas, y siguen siendo a nivel mundial una contribución significante en la preparación y procesamiento de los mismos. De igual manera, desde la antigüedad, antes del desarrollo de la industria de colorantes de síntesis, el teñido de fibras se hacía con plantas conteniendo colorantes naturales, llamadas especies tintóreas .(Lock Sing, Olga, 1997).

1.2 Definición

Un colorante natural es toda aquella materia colorante que tiene origen vegetal o animal.

Para que una sustancia coloreada, sea considerada un colorante, deberá contener grupos cromóforos llamados auxócromos, los que dan a la sustancia afinidad con la fibra.

De acuerdo a la investigación de la Doctora Olga Lock Sing de Ugaz, en su obra titulada Colorantes Naturales, el teñido con colorantes naturales fue hecho desde tiempos prehistóricos hasta la mitad del siglo XIX, donde las plantas, animales y minerales fueron las únicas fuentes como agentes colorantes utilizados para teñir o pigmentar.

Las primeras fibras teñidas fueron usadas aproximadamente alrededor del año 1000 a.C. estos teñidos fueron simples y fueron los primeros ejemplos de la aplicación de los llamados colorantes directos o colorantes sustantivos, sin embargo resultaron de muy pobre solidez, pobre resistencia al lavado y a la luz, posteriormente fueron desarrollados teñidos más sofisticados, produciéndose colores con mejor solidez.

La historia esta llena de ejemplos de aplicaciones con aditivos colorantes. Pinturas en tumbas egipcias que datan de 1500 años a.C. presentan la manufactura de dulces coloreados. El vino ha sido artificialmente coloreado por siglos antes del nacimiento de Cristo y, es bien sabido que las especias y condimentos eran coloreados, por lo menos, 500 años atrás.

Las plantas utilizadas, así como los antiguos procedimientos de teñido han sido registrados, especialmente por dos historiadores del primer siglo después de Cristo. Plinio El Viejo, naturista romano, refiere en sus escritos dos colorantes comunes usados por las tribus Gálicas, el índigo y el glasto, mientras que el griego Dioscórides describe los colorantes de la **rubia** para el rojo, del azafrán (de los estigmas del *Crocus sativa*) y gualda (de *Roseda luteola*) para amarillos, glasto para el azul, *Alkanna tinctorea* para rojo, entre otros.

Durante la Edad Media, alrededor de 1250 d.C., los procedimientos de tintura fueron registrados por los monjes medievales. En aquellos tiempos las mismas plantas eran usadas para teñir y para fines medicinales. El uso de colorantes en drogas, indudablemente, ha tenido una larga historia, debido a que el color ha sido asociado con enfermedades y su tratamiento desde la antigüedad. Muchas prácticas han sido documentadas en papiros egipcios.

Hasta mediados del siglo XIX, los colorantes usados en alimentos, drogas y cosméticos y textiles, fueron materiales fáciles de obtener de fuentes naturales como animales, vegetales y minerales. Sin embargo la importancia de los colorantes naturales disminuyó cuando en 1856, en Inglaterra, William Henry Perkin, en su intento de sintetizar quinina, oxidó sulfato de anilina con dicromato potásico y produjo el primer colorante sintético, la mauveína, de color púrpura. Posteriormente, los químicos alemanes perfeccionaron los colorantes derivados del alquitrán de hulla, hasta tal punto, que empresas de colorantes vegetales se arruinaron, totalmente, antes de que finalizara el siglo XIX.

En los últimos 130 años, se han sintetizado varios miles de compuestos químicos coloridos, de los cuales alrededor de 10,000 son o han sido producidos a escala industrial, tratando, en muchos casos, de sintetizar productos idénticos a los naturales, como el β-caroteno.

En 1987 se estimó que la producción mundial de colorantes era alrededor de 700,000 toneladas, de esta producción, aproximadamente el 50 % fue destinada a la industria textil y un 2.2 % fue destinado al sector de alimentos, medicamentos y cosméticos.

Esta proliferación en el uso de aditivos colorantes fue enseguida reconocida, como una amenaza para la salud. De particular interés fue el hecho que las substancias conocidas de ser venenosas fueron, a menudo, incorporadas en alimentos y los tintes fueron frecuentemente usados para ocultar baja calidad y para añadir peso o consistencia a ciertos productos. Algunas de estas prácticas fueron deshonestas pero no inherentemente peligrosas.

Por ejemplo, la harina era frecuentemente coloreada de amarillo para esconder la suciedad y aparentar un alto contenido de huevo; naranjas ordinarias fueron inyectadas con tintes rojos para darle una mejor apariencia; carne vieja era coloreada para hacerla parecer fresca; conservas y jaleas fueron coloreadas para aparentar un mayor contenido de frutas.

Luego, otros usos de colorantes fueron criminales y a veces mortales. Era un hecho que poco o ningún control era aplicado sobre la pureza de los agregados a los alimentos y que colorantes encontrados insatisfactorios para textiles eran, a veces, deliberadamente canalizados en productos alimenticios. Debido al creciente interés público sobre tales prácticas, algunas mediciones fueron eventualmente tomadas por los manufactureros americanos de alimentos para control de su propia industria.

En 1900, se investigó por parte del gobierno estadounidense la relación entre materias primas colorantes y la salud, con el fin de establecer un principio para gobernar su uso y de esta manera controlar las prácticas de manufactura. Como resultado de esta investigación se encontró que muy pocos colorantes habían sido evaluados sobre sus efectos en la salud y que muchos de ellos, habían sido evaluados impropiamente. A veces, la verdadera identificación química de un colorante estudiado era desconocida. En otros casos la pureza del colorante era incierta. Más a menudo, los procedimientos usados para su análisis eran ingenuos. De esta manera, se formuló la regulación que puso fin al uso indiscriminado de materias colorantes peligrosas e impuras en alimentos. Entre otras cosas, esta nueva legislación requirió que solamente colores de composición conocida, examinados fisiológicamente y que no mostraban resultados adversos, podían ser usados.

Debido al incremento de las necesidades de la industria, durante las siguientes tres décadas, hubo un crecimiento continuo en el uso y número de aditivos colorantes. Como resultado de estos esfuerzos, se culminó con la publicación en 1940 de la declaración de servicios y regulaciones en Alimentos, Drogas y Cosméticos, la cual listaba colorantes específicos que podían ser usados junto con especificaciones y regulaciones relacionadas con su manufactura, clasificación, certificación y venta.

Debido a los serios problemas generados por el efecto de los tintes sintéticos en el medio ambiente y la salud humana, se ha renovado el interés en los colorantes naturales. El aumento de la demanda del tinte natural en la industria de tintorería, así como en la de alimentos, cosméticos y medicinas entre otras ha motivado el incremento del número de países en que se está dando el renacimiento del cultivo y producción del mismo

1.3 **Distribución de los colorantes naturales**(Lock Sing, Olga, 1997).

Los colorantes naturales pueden ser clasificados, según su naturaleza química en diversos grupos. Como fuentes naturales de estos colorantes se pueden considerar las plantas superiores, las algas, hongos y líquenes, algunos insectos, así como algunos organismos marinos invertebrados.

La función de diversos pigmentos que se encuentran en forma natural en plantas y animales es muy variada, tal es el caso de algunos fenoles que absorben la luz ultravioleta y pueden desempeñar la función de guiar a los insectos a las flores para realizar la polinización. Las quinonas (compuestos fenólicos) pueden actuar como sustancias tóxicas para defensa, un caso digno de mencionar es el gusano telero (*Laetillia coccidivora Comstock*), el cual ha superado los efectos tóxicos del colorante, cuando consume el pigmento enmascara la toxina y luego la utiliza al regurgitar el pigmento sobre su agresor. (Harbone, 1985)

Aunque las funciones antes mencionadas son casos puntuales, es importante señalar que la gran diversidad de pigmentos cumple funciones específicas dentro de la naturaleza, ya que algunos pueden actuar como inhibidores para la germinación de semillas, hormonas de crecimiento, atrayentes o disuasivos.

Son muchas las plantas superiores que producen colorantes; sin embargo la concentración de estos es mínima, lo que no permite una rápida y económica extracción y en consecuencia son relativamente pocas las que tienen gran importancia comercial como fuente de colorantes.

Debido a esto, la elección de una planta con tales fines es determinada por consideraciones económicas; el material debe estar disponible en suficiente cantidad a un precio razonable, el proceso para obtener el colorante no debe ser excesivamente complejo y costoso y el producto final debe cubrir las perspectivas industriales y los requerimientos legales de los gobiernos.

Otro grupo considerado como fuente de colorantes naturales son las algas, estas deben su color a las *ficobilinas*, las cuales se clasifican en *ficocianinas* y *ficoeritrinas* de color azulado con fluorescencia roja y de color rojizo con fluorescencia naranja brillante, respectivamente. El rango de color en el que se encuentran es bastante amplio, dependiendo de la fuente de biliproteina y el medio en el cual es aislado, proporcionando así una variedad de colores naturales en las algas.

Las algas también contienen carotenoides, especialmente, β-caroteno y cetoderivados como cantaxantina, astaxantina y equinenona. Los hongos, particularmente la parte correspondiente al cuerpo fructífero, están fuertemente

pigmentados. El número de pigmentos diferentes, probablemente, excede los 1000; aunque algunos son de naturaleza química común a las plantas superiores (siendo más notorio el caso de la betalaínas y en menos extensión los carotenos y quinonas) muchos de ellos no han sido encontrados en algún otro organismo biológico

Los líquenes han sido intensamente utilizados para el teñido desde tiempos antiguos. Dentro de los compuestos coloreados que ellos producen están las quinonas (antraquinonas, naftoquinonas y terfenilquinonas) dibenzofuranos (ácido úsnico y derivados) xantonas, depsidos y depsidonas, carotenoides y xantófilas, así como fenoxazinas.

Entre los líquenes se pueden destacar las especies del género *Xanthoria*, cuya coloración naranja y naranja – rojizo brillante es debida a la presencia de antraquinonas y del género *Cladonia*, en los cuales los colores rojo a rojo-sangre se deben a la contribución de las naftoquinonas presentes.

Dentro de los organismos marinos invertebrados, los crustáceos y moluscos quizás son los que proveen las más diversas fuentes de colorantes, muchos de ellos aún no caracterizados y que serían de potencial interés económico.

De los insectos se destaca la cochinilla por su contenido de ácido carmínico, así como el kermés que produce ácido kermésico, ambos compuestos son de naturaleza antraquinónica. Las pterinas contribuyen a los colores blanco, crema, amarillo y rojo de muchos insectos. Por ejemplo, los colores de las mariposas y avispas son a menudo, formados de pterinas, como las xantopterinas que proporcionan un color amarillo brillante a muchas avispas; otras pterinas contribuyen también a los colores: amarillo, naranja y rojo de crustáceos, peces, anfibios y reptiles.

Las flavinas, como la riboflavina o vitamina B2, excepcionalmente, producen la pigmentación amarilla de algunos organismos marinos invertebrados.

Las fenazinas contribuyen al color de algunas bacterias, por lo general en las especies de *Pseudomonas* y *Streptomices*, mayormente amarillo y ocasionalmente azul y azul violeta.

Las fenoxazinas se han encontrado en algunas bacterias *Streptomices*, en hongos *Polyporus cinnabarimes* y en líquenes como *Rocello tinctoria* y otros que contienen orceína.

Se estima que el obtener colorantes naturales puros puede costar de 30 a 100 veces más que el producir colorantes sintéticos certificados, reduciendo con ello las posibilidades de explotación de estas fuentes naturales, sin embargo, las estrategias biotecnológicas en la producción de colorantes naturales que se han

desarrollado en los últimos años son de gran importancia y podrían otorgar una serie de ventajas, entre ellas, las económicas.

1.4 Clasificación de colorantes naturales utilizados en el teñido de fibras (6)

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

1.4.1 Características físicas

a. Colorantes directos:

Son los grupos de colorantes de antocianina, carotenoides derivados de calcona. Los colorantes son obtenidos de una solución acuosa y esta extracción se usa directamente para teñir o pintar en frío o en caliente. A veces se usa sustancias auxiliares como ácidos o sales. Como ejemplo se tiene la flor de cártamo, cúrcuma, azafrán, *cempoalxóchitl*, etc.

b. Mordentados:

Este tipo de colorantes no tienen por sí mismos el poder de entintar, sólo con un tratamiento especial de sales metálicas solubles que reaccionan sobre la fibra. Esta técnica se aplica a la mayoría de las plantas que dan color como la gardenia, *cempoalxóchitl*, rubia, cochinilla, palo de Campeche y de Brasil, etc.

c. Tipo de reducción:

Derivados del indol, estas materias colorantes se encuentran en el interior de los cuerpos vegetales o animales, pero son insolubles, para darles solubilidad, se les aplica una sustancia reductora, obteniéndose una solución incolora que se aplica a la fibra y después, mediante una oxidación aparece el color, como ejemplo esta el añil.

d. Pigmentos:

Polvos de materiales minerales, son insolubles que no tienen poder de entintar, por lo cual solo pueden utilizarse mezclándose con otro cuerpo, como el engrudo, cola, resina, caseína, clara de huevo, etc., con los que se forma una pasta para pintar.

1.4.2 Usos tradicionales

a. Untado directamente sobre la fibra: se aprovecha directamente el color de la fibra.

b. Exprimidos: el caracol púrpura (caracol de mar) da un color que aparece por oxidación con el aire.

c. Aprovechamiento de colorantes naturales rojos de la cochinilla mediante la aplicación de mordientes y calor.

d. Cocción de colorantes: por extracto de cocción aparecen varios tono con el uso de mordientes, como por ejemplo, la flor de dalia.

e. Separación del colorante: las sustancias que permiten su separación pueden ser ácidas o cenizas , como la flor de cártamo.

f. Reducción y oxidación como el añil flora.

g. Mordentes naturales: se sumerge la fibra previamente teñida con extractos de colorantes en agua de lago o pozo, que contenga alumbre, *tequezquite* o hierro, el color aparece con diferentes tonos según las sales minerales que lo fijan.

1.4.3 Características químicas

a. Colorantes flavonoides. son cuatro grupos principales:

Tabla I. Colorantes flavonoides

GRUPO	COLOR	PROCEDENCIA
Flavonol	Amarillo	Bidens
Flavonona	Crema amarillo	Perejil
Calcona	Rojo y amarillo	Cártamo
Antocianina	Rojo y Violeta	Tinantía

b. Colorantes carotenoides: son dos grupos principales:

Tabla II. Colorantes carotenoides

GRUPO	COLOR	PROCEDENCIA
Caroteno	Anaranjado	Zanahoria
Xantofila	Amarillo	Achiote

c. Colorantes tipo quinona: son dos grupos:

Tabla III. Colorantes quinónicos

GRUPO	COLOR	PROCEDENCIA
Antraquinona	Rojo	Rubia Cochinilla
Naftoquinona	Violeta	Henna

d. Derivados de indol: color azul proveniente del añil.
e. Derivados de delfinidina: color azul proveniente de la hierba de pollo.
f. Derivados de dihidropilano: color rojo y violeta proveniente del palo de Brasil.
g. Grupo betaleína: color rojo proveniente del betabel.
h. Grupo xantonas: color amarillo proveniente de algunos líquenes.
i. Grupo tanino-pirogalol y catecol: color café proveniente del castaño.
j. Grupo clorofila: color verde proveniente de las plantas verdes.

1.4.4 Uso artesanal de colorantes naturales en el teñido de fibras naturales (7)

En la actualidad muchas comunidades indígenas, están elaborando sus tejidos con hilos teñidos con plantas tintóreas, utilizando métodos artesanales sencillos y que les proporcionan buenos resultados.

1.4.5 Fibras textiles naturales

Es el material con el cual se fabrican los hilos y los tejidos. Se encuentran en la naturaleza como parte de las semillas, en los vegetales o en el pelo de los

animales. Muchas fibras se encuentran disponibles en el mercado y son de origen vegetal, animal o mineral.

1.4.5.1 Fibras de origen vegetal

La celulosa es el alto polímero natural más extendido e importante y constituye el material de sostén de las células vegetales. Todas las fibras vegetales como el algodón, lino, yute, cáñamo y ramio, contienen un sesenta y noventa por ciento de celulosa. Asimismo, las fibras de seda artificial o rayón y la lana vegetal están formadas exclusivamente por celulosa regenerada, la cual se obtiene por disolución y precipitación de la celulosa natural.

Las fibras vegetales se clasifican en fibras de semilla como el algodón y en fibras de líber, estas últimas se subdividen en fibras de tallo como el lino y en fibras de hoja como el henequén o yute.

1.4.5.2 Fibras de origen animal

Las fibras proteínicas más importantes son la lana y la seda. Así como la celulosa funciona en las plantas, las proteínas serán el sostén de los organismos animales. A este grupo pertenecen la queratina (lana, pelo, plumas) y la fibroína de la seda.

La lana procede principalmente de la oveja y en menor cantidad del pelo de camello, cabra, llama y conejo. Su calidad varía con relación a la raza, alimentación y medio ambiente de las especies ovinas.

La seda es el producto de secreción del gusano *Bombyx Mori*. Esa secreción líquida se va solidificando al aire, dando finalmente una fibra enrolada de unos mil metros de longitud.

1.4.5.3 Fibras de origen mineral

A este grupo pertenecen las fibras de alginato, vidrio, amianto y las diversas fibras metálicas. Estas fibras son de importancia secundaria, en la industria de los textiles.

1.5 Teñido vegetal o natural

Se le llama así porque para realizarlo se utilizan sustancias vegetales colorantes y astringentes o tánicas (sustancias que estrechan y fijan colores), que se encuentran en las hojas, flores, cortezas, raíces, frutos de algunos vegetales.

Estas sustancias tienen la propiedad de insolubilizar naturalmente la gelatina en la fibra de algodón o lana, de tal manera, que la transforman en una sustancia

no hidrolizante, que lo hace ser un tinte sustantivo, es decir no necesita mordiente o fijador, en cambio otras necesitan ayuda de fijador, para que el tinte se fije en la fibra.

1.5.1 Tintes vegetales

Actualmente se están utilizando distintas plantas para realizar el teñido de fibras. Las partes de la planta que se utilizan en el proceso de teñido, son generalmente hojas, corteza, flores, frutos, cáscaras del fruto, semillas y raíces. El hecho que se utilicen plantas, no significa que se afecte el equilibrio ecológico, la mayor parte de materia prima para tinción son desechos de las plantas, por ejemplo, del aguacate se utiliza la pepita, del coco la cáscara.

En la siguiente tabla se enlistan los nombres de algunas plantas, que se utilizan para teñir, el nombre científico y el color que proporcionan, la combinación de algunas plantas produce una coloración distinta, dependiendo la proporción de cada una de ellas. Este proceso es considerado como un arte, debido a la forma en que se combinan las plantas en el momento de teñir.

Tabla IV. Especies utilizadas en el teñido de fibras

NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO	COLOR	PARTE UTILIZADA
Achiote	*Bixa Orellana L*	Naranja	Semilla
Aguacate	*Persea americana Mill*	Café	Pepita
Albahaca	*Ocimum basilicum L.*	Verde amarillento rosado pálido	Hojas Flores
Alcachofa	*Cynara scolymus L.*	Verde	Hojas
Aliso	*Agnus arguta*	Amarillo/Café	Hojas/Corteza
Añil	*Indigofera tinctoria*	Azul	Hojas y tallo
Arrayán	*Myrica splendens*	Verde, amarillo	Hojas y ramas tiernas
Banano	*Musa acuminata*	Café	Tronco o sepa
Barba de León	*Cuscuta corymbosa*	Amarillo/Naranja	Guías
Bejuco de Sangre	*Machoerium sp*	Rojo	Tallo
Berro	*Nasturtium officinale*	Verde	Hojas y tallos
Boldo	*Peurnus boldus*	Amarillo	Hojas
Buganvilea	*Bougainvillea glabra*	Rosado	Flores
Café	*Coffea arabica L.*	Café	Fruto ó cáscara/corteza
Caléndula	*Calendula officinalis L.*	Amarillo	Flores
Camotillo	*Curcuma Longa L.*	Rojo	Raíz
Canguro	*Rourea glabra*	Rojo	Raíces
Canté	*Caesalpinia violacea Standl*	Rojo	Corteza
Caoba	*Swietenia macrophylla G. King*	Rojo	Corteza
Cebolla	*Allium cepa L.*	Amarillo	Cáscaras exter-nas coloreadas

Cedro	*Cedrela mexicana*	Morado/Beige	Fruto/Corteza
Cereza	*Malpighia glabra L*	Morado/Café	Fruta/Corteza
Chacahuanté	*Sickingia salvadorensis Standl*	Carmín	corteza
Chalchupa	*Rauvolfia tetraphylla*	Azul oscuro	Fruto
Chaperno	*Lonchocarpus rugosus*	Púrpura	Corteza
Chilca	*Thevetia peruviana*	Amarillo /Verde	Flor/Hojas
Cinco negritos	*Lantana camara*	Amarillo	Hojas y ramas
Cochinilla o Grana	*Dactylopius Coccus*	Rojo, Rosado	Cuerpo del insecto(hembra)
Coco	*Cocos nucifera*	Café rojizo	Cáscara
Coralillo	*Erythrina berteroana*	Amarillo	Corteza
Encino	*Quercus sp*	Café	Fruto,corteza y flor
Eucalipto	*Eucalyptus globulus*	Amarillo/verde	Hojas/corteza
Flor de Muerto	*Tagetes erecta L.*	Amarillo canario	Flores
Granada	*Púnica granatum*	Amarillo	Cáscara del Fruto
Guayaba	*Psidium guajava L.*	Amarillo/Café claro	Hojas/Corteza
Higo	*Picus carica L.*	Amarillo	Hojas y ramas tiernas
Hinojo	*Foenicum vulgare Mill*	Verde	Hojas y tallos
Icaco	*Chrysobalanus icaco*	Negro	Hojas/fruto
Jiquilite	*Justicia aurea*	Azul	Hojas y tallos
Lengua de vaca	*Curatella americana*	Amarillo	Hojas y raices
Madre de flecha	*Apoplanesia paniculata*	Amarillo	Corteza
Maíz	*Zea mays l.*	Café, amarillo claro	Pelos del elote
Mangle	*Avicennia germinans*	Rojo	Corteza
Manzana rosa	*Syzygium jambos*	Café	Corteza

Mejorana	*Mejorana hortensis L.*	Verde	Hojas y flores
Nacascolo o dividivi	*Caesalpinia coriaria*	Negro	Fruto
Nance	*Byrsonima crassifolia*	Café amarillo Color encarnado Tinta verde	Corteza Cáscara Fruto verde
Nogal Negro	*Juglans guatemalensis*	Café	Carnaza del fruto
Ojo de Venado o de buey	*Mucuna pruriens nigra*	Negro	Semilla
Palo de Brasil	*Haematoxylon brasiletto*	Rojo	Corteza
Palo de Campeche	*Hematoxyliun Campechanun*	Rojo a púrpura	Corteza
Palo de culebra	*Lafoensia punicifolia*	Amarillo	Corteza
Palo de Mora	*Chlorophora tinctoria L.*	Rojo/verde	Corteza
Papa	*Solanum tuberosum L.*	Violeta/azul	Cáscara
Perejil	*Petroselinum crispum*	Amarillo verde	Hojas y tallos
Pericón	*Tagetes lucida Cav.*	Verde olivo	Hojas
Pitaya	*Hylocereus undatus*	Rojo	Fruto
Recino o Higuerillo	*Ricinus communis L.*	Marrón-caoba	Frutos secos
Romero	*Rosmarinus officinalis L.*	Verde amarillento	Hojas y ramas secas
Rosa jamaica	*Hibiscus sabdariffa*	Cafe/rosado	Corteza/flores
Sábila	*Aloe vera (L.)*	Purpura	Hojas

Continuación

Sábila real	*Salvia officinalis L.*	Amarillo	Hojas
Sacatinta	*Jacobina spicigera*	Azul lila	Tallos y hojas

Sauco	*Sambucus Canadensis*	Lila morado	Hojas/Fruto
Subín	*Acacia farnesiana L*	Amarillo	Flores
Tamarindo	*Tamarindos indica L.*	Amarillo	Hojas, semillas
Té	*Camellia sinensis*	Verde café	Hojas
Verbena	*Verbena officinalis H.B.K.*	Amarillo	Hojas y tallos
Xilil	*Ardisia paschalis Donn*	Lila	Fruto
Zanahoria	*Daucus carota L.*	Naranja/amarillo	Fruto/tallos y hojas verdes

Fuente: datos obtenidos del Manual del Tintorero Momosteco, libro de Colorantes Naturales de la doctora Olga Lock Sing y Diccionario de Plantas Útiles de Guatemala de Jorge Morales Alistum.

1.5.2 Acidez y alcalinidad de los tintes naturales

El grado de acidez o alcalinidad del baño de tinte es muy importante, ya que afecta el comportamiento que puede tener el tinte. Por lo que es necesario tener un debido control de la acidez del baño de teñido, para ello se utilizan potenciómetros o papel medidor de pH.

1.5.2.1 Ácidos suaves

Los ácidos de origen natural que pueden utilizarse en el teñido de fibras son:

a. Limón
b. Lima
c. Crémor tártaro
d. Vinagre

Debe evitarse el uso de ácidos fuertes, es decir ácidos con pH menor de 3, ya que estos afectan el proceso de teñido.

La lana, seda y otras fibras animales, se tiñen generalmente con baños ácidos. Ahora bien el algodón puede ser dañado por los ácidos fuertes por lo que se recomienda no utilizarlos. El pH se debe mantener arriba de 5 durante el teñido del algodón y luego neutralizarlo, lavándolo con un jabón neutro que tenga pH de 7.

Los jabones y detergentes, carbonato y bicarbonato de sodio son álcalis suaves. El carbonato de sodio se utiliza para ajustar el pH del baño de tinte del añil. Otros álcalis fuertes incluyen la lejía de ceniza o el hidróxido de sodio.

Cuando cualquier fibra haya sido expuesta a un baño alcalino fuerte debe neutralizarse con un jabón neutro, de otra manera las fibras perderán su brillo natural y resistencia. El añil es el único tinte que necesita un pH arriba de 10.

1.6 Mordientes

Son sustancias químicas naturales o sintéticas que preparan la fibra para recibir el tinte, es decir, fijan el tinte para que el color no se destiña. Cuando el método de tinción que se utiliza es indirecto se agrega un mordiente. Actualmente se utilizan por su acción más enérgica, sales metálicas como la piedra de alumbre, crémor tártaro, carbonato de sodio, hierro y otros.

Los tintoreros momostecos en el proceso de teñido artesanal, utilizan también ceniza, de la cual preparan una lejía para teñir con añil, sacatinta.

Si el método utilizado en el teñido es directo en agua caliente, éste se realiza con plantas que son ricas en sustancias tánicas las que actúan como mordientes naturales.

1.7 COMPUESTOS FENÓLICOS

Generalmente todos los vegetales, como producto de su metabolismo secundario normal, son capaces de biosintetizar un elevado número de compuestos fenólicos, algunos de los cuales son indispensables para sus funciones fisiológicas y otros son de utilidad para defenderse ante situaciones de estrés (hídrico, luminoso, etc). A pesar de que todos ellos presentan una estructura fenólica, núcleo aromático que contiene un grupo hidroxílico libre o sustituido, se diferencian de otros compuestos que también poseen esta estructura fenólica (monoterpenos), en su origen biosintético. Los compuestos fenólicos a los que nos vamos a referir en los próximos artículos se originan principalmente a través de dos rutas biosintéticas: la ruta del ácido sikímico que conduce, mediante la síntesis de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina), a los ácidos cinámicos y sus derivados (**fenoles sencillos**, **ácidos fenólicos** y derivados, **cumarinas**, **lignanos** y derivados del fenilpropano), y la ruta de los poliacetatos por la cual se originan **quinonas, xantonas, orcinoles**, etc. Igualmente, algunos de los compuestos fenólicos que vamos a considerar como principios activos de plantas medicinales se originan a través de rutas mixtas que combinan la vía del sikimato y del acetato, es el caso por ejemplo de los **flavonoides**, o que surgen a través de la combinación de la vía del mevalonato, origen de los compuestos terpénicos, con la vía del sikimato (furano y piranocumarinas, etc.).

Nos ocuparemos a partir de ahora de todas aquellas plantas medicinales que lo son debido a que algunos de sus principios activos son de naturaleza fenólica, clasificadas según el origen biogenético de los mismos, aunque en muchas ocasiones no se conozca exactamente el compuesto responsable de su actividad.

I.- COMPUESTOS FENÓLICOS DERIVADOS DE LA RUTA DE LOS SIKIMATOS

Fenoles sencillos

En este grupo se incluyen compuestos poco abundantes en la naturaleza y de escaso valor terapéutico a excepción de la hidroquinona, que en forma de glucósido se localiza en algunas plantas medicinales pertenecientes a las familias Ericaceae y Rosaceae. De todas ellas, las más empleadas por su poder antiséptico de vías urinarias son la gayuba y algunos tipos de brezo.

Ácidos Fenólicos

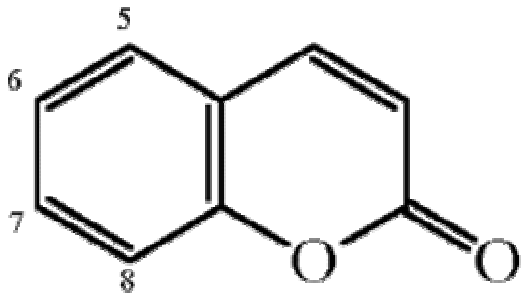
Este grupo de compuestos se caracteriza por poseer en su estructura química el anillo aromático y el grupo hidroxílico comunes a los compuestos fenólicos y una función carboxílica. Los ácidos fenólicos que tienen interés terapéutico son derivados del ácido benzoico o del ácido cinámico (cafeíco, ferúlico, *p*-cumárico). Los primeros son muy abundantes en la naturaleza tanto libres, como ácidos o aldehídos (vainillal, anisaldehído), como combinados en formas heterosídicas, correspondiendo a este grupo la unidad básica estructural (ác. gálico) de los taninos gálicos o hidrolizables. Los segundos también son abundantes en la naturaleza pero en este caso se encuentran casi siempre esterificados con azúcares, alcoholes alifáticos, ácido quínico (ac. clorogénico), otros metabolitos secundarios (flavonoides) o bien amidificados.

Entre las plantas medicinales que poseen ácidos fenólicos vamos a destacar la alcachofa con actividad colerética, el ortosifón con actividad diurética y la equinácea empleada por sus propiedades inmunoestimulantes. Igualmente incluimos en este capítulo, plantas medicinales, reina de los prados y sauce, que poseen derivados del ácido salicílico con actividad antiinflamatoria, analgésica y antipirética.

Cumarinas

Con el nombre de cumarinas se conoce a un grupo muy amplio de principios activos fenólicos que se encuentran en plantas medicinales y tienen en común una estructura química de 2*H*-1-benzopiran-2-ona, denominada cumarina. Sobre esta estructura, que se origina biosintéticamente por lactonización del ácido

cumarínico (2-hidroxi-*Z*-cinámico), se disponen sustituyentes de distinta naturaleza química lo que da lugar a distintos tipos de cumarinas: sencillas y complejas.



Prácticamente todas las cumarinas, a excepción de la cumarina propiamente dicha, poseen un sustituyente hidroxílico en posición 7 ya sea libre, como sucede en la umbeliferona, o combinado (metilo, azúcares, etc.). Las cumarinas sencillas pueden poseer además hidroxilos adicionales también libres o combinados. Ejemplo de ellas son el esculetol del castaño de Indias con dos hidroxilos libres sobre los carbonos C-5 y C-7 o el escopoletol presente en algunas Solanáceas (belladona) que posee un hidroximetilo en C-5 y un hidroxilo libre en C-7.

Es frecuente, que sobre el anillo cumarínico básico, generalmente hidroxilado en C-7, se sitúen sobre los carbonos 6 u 8 radicales isoprenílicos de 5, 10 o mas raramente de 15 átomos de carbono, que por su alta reactividad pueden originar anillos adicionales de tipo furánico o piránico. A este grupo de cumarinas isopreniladas se les conoce en conjunto como cumarinas complejas debido a la gran variabilidad química de sus estructuras. Ejemplo de este tipo de principios activos es la visnadina, piranocumarina con efectos vasodilatadores presente en el *Amni visnaga*.

Como grupo, su interés farmacológico no es muy grande, sin embargo debemos mencionar sus efectos sobre el sistema vascular tanto en territorio arterial como venoso y su utilidad en el tratamiento de algunas alteraciones de la piel como por ejemplo la psoriasis debido a sus propiedades fotosensibilizantes.

Lignanos

Estos compuestos de naturaleza fenólica se originan por la condensación de unidades fenilpropánicas. El número de estas unidades y la forma de unión entre ellas determinan la existencia de diferentes tipos de lignanos (lignanos propiamiente dichos, neolignanos, etc.). Su interés farmacológico radica en una gran variedad de efectos, algunos de los cuales son o pueden ser en un futuro no muy lejano de aplicación en terapéutica. Por ejemplo, son de naturaleza lignánica los principios activos de la resina de podofilo o algunos de los componentes hepatoprotectores (flavanolignanos) del cardo María, cuya monografía incluiremos en el siguiente capítulo dedicado a los flavonoides.

Derivados Del Fenilpropano

En este grupo incluimos una serie de compuestos que se originan por elongación de la cadena lateral de los ácidos cinámicos, mediante la incorporación de unidades dicarbonadas a partir del malonil-CoA o mediante la incorporación de una nueva estructura fenilpropanoica (por ejemplo, mediante la condensación de dos moléculas de ácido ferúlico). Corresponden a este último caso los principios activos de dos drogas: los rizomas de cúrcuma y jengibre.

Taninos

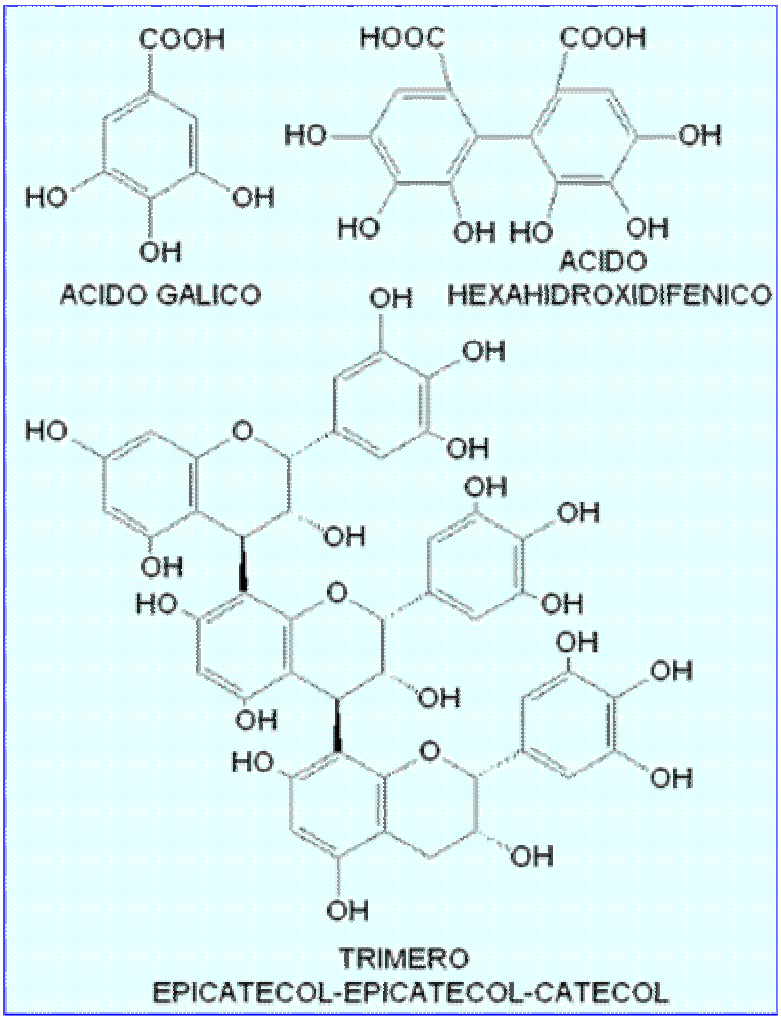
Los taninos son compuestos polifenólicos, mas o menos complejos, de origen vegetal, masa molecular relativamente elevada, sabor astringente, conocidos y empleados desde hace muchos siglos por su propiedad de ser capaces de convertir la piel en cuero, es decir de curtir las pieles.

Esto se debe a su capacidad para unirse a macromoléculas como hidratos de carbono y proteínas. Precipitan con sales de metales pesados, proteínas y alcaloides.

Se trata de compuestos hidrosolubles, dando a veces disoluciones coloidales en agua, solubles también en alcohol y en acetona e insolubles en disolventes orgánicos apolares.

Dentro de los vegetales los taninos suelen encontrarse en las vacuolas celulares, combinados con alcaloides, proteínas u osas.Clásicamente se han distinguido dos tipos de taninos:

a) Taninos hidrolizables, llamados también gálicos o pirogálicos. Estos taninos como su denominación indica se hidrolizan con facilidad tanto por ácidos y álcalis como por vía enzimática y son generalmente de formación patológica. Se localizan en algunas Dicotiledóneas especialmente en *Fagaceae*, *Anacardiaceae* y *Leguminosae*. Se encuentran en este grupo los taninos gálicos propiamente dichos que son polímeros del ácido gálico, ésteres de un poliol, generalmente de la glucosa con varias moléculas de ácido gálico y los taninos elágicos o elagitaninos también ésteres pero en este caso del ácido hexahidroxidifénico y sus derivados. El ácido hexahidroxidifénico se forma por acoplamiento oxidativo de dos moléculas de ácido gálico.



El ácido sikímico es el precursor biogenético del ácido gálico.

Se habla también de los llamados taninos complejos que son elagitaninos mas o menos modificados. Resultan de la unión de un derivado fenilcrománico sobre un éster de glucosa con el ácido hexahidroxidifénico.

b) Taninos condensados o proantocianidinas. Se conocen también como no hidrolizables, ya que se hidrolizan con dificultad y por el contrario, el tratamiento con calor y ácidos minerales origina polímeros de alto peso molecular (flobáfenos). Este tipo de taninos se producen en el metabolismo normal de los vegetales por lo que se consideran fisiológicos y se encuentran ampliamente repartidos en el reino vegetal.

Químicamente se forman por condensación de catequinas o catecoles (flavanoles) con uniones directas C-C entre las moléculas, generalmente en 4® 8 o en 4® 6 y no contienen azúcares en su estructura. Biogenéticamente proceden del metabolismo de los flavonoides, se forman a partir de una flavanona por hidroxilación en el C-3.

Para algunos autores existe un tercer tipo de taninos, los florotaninos, que se han aislado de diversas especies de algas pardas y están constituidos por acoplamiento oxidativo únicamente de unidades de floroglucinol C-C y/o C-O.

Las propiedades más interesantes de los taninos se deben a su capacidad de combinarse con diversas sustancias formando complejos. El empleo más antiguo conocido de estas sustancias, como ya se ha comentado, es en la industria de los curtidos. Aunque en la actualidad se utilizan otros compuestos para curtir, todavía en algunos sitios y para curtidos especiales se sigue recurriendo a su uso.

¿A que se debe el curtido? Se establecen enlaces entre las fibras de colágeno de la piel; los taninos y las macromoléculas se combinan gracias a los grupos fenólicos de los primeros formando puentes de hidrógeno, a la vez se establecen enlaces covalentes que son los que aseguran que la unión perdure a lo largo del tiempo. Esto requiere que el tanino posea una masa molecular entre límites bien definidos, no demasiado elevada para que pueda intercalarse entre los espacios interfibrilares, ni demasiado pequeña, pues en ese caso no formaría suficiente número de enlaces como para asegurar la estabilidad de la unión en el tiempo.

De las actividades farmacológicas de los taninos podemos destacar sus propiedades astringentes, tanto por vía interna como tópica. Por vía interna se emplean como antidiarreicos, favoreciéndose esta actividad por cierto efecto antiséptico, ya que precipitan los enzimas extracelulares secretados por los microorganismos causantes de las infecciones, lo que hace que sean de utilidad en diarreas infecciosas. Poseen también propiedades vasoconstrictoras por lo que se utilizan tanto interna como tópicamente en el tratamiento de afecciones vasculares como varices o hemorroides y en pequeñas heridas. En uso tópico están indicados en diversos problemas de la piel, empleándose en ciertas dermatosis así como en cosmética como tónicos astringentes.

Presentan también los taninos propiedades antioxidantes comportándose como captadores de radicales libres.

Actúan como inhibidores enzimáticos al precipitar la fracción proteica de los enzimas; esto permite en ocasiones la buena conservación de otros principios activos en las drogas, como por ejemplo algunos heterósidos, ya que impiden su hidrólisis enzimática.

También se han utilizado como antídotos en diversos envenenamientos, por ejemplo con alcaloides tóxicos debido a su propiedad de formar complejos con los mismos.

Además de su aplicación en terapéutica los taninos presentan interés industrial: industria de curtidos como ya ha sido comentado, pinturas, adhesivos, etc.

Entre las especies vegetales utilizadas por su contenido en taninos podemos citar los robles, sus agallas son formaciones patológicas con un elevado contenido de

taninos gálicos, fueron famosas las llamadas “agallas de Alepo”. También se emplean las hojas de hamamelis y las raíces de ratania.

Existen además una serie de plantas, muchas de ellas pertenecientes a la familia Rosaceae, que se emplean en forma de infusiones o gargarismos, por su poder astringente, debido a que poseen un alto contenido (6-14 %) en taninos, principalmente galotaninos. La mayoría de ellas se utilizan en el tratamiento de procesos diarreicos y de inflamaciones de la piel y de las mucosas bucofaríngeas. Ejemplo de ellas son las hojas de zarzamora (*Rubus fruticosus* L.) empleadas como antidiarreico ligero o las hojas de frambueso (*Rubus idaeus* L.) utilizadas tradicionalmente en el tratamiento de una amplia variedad de trastornos femeninos (regulador de las contracciones uterinas), alteraciones gastrointestinales e inflamaciones bucofaríngeas aunque su eficacia clínica no haya sido demostrada científicamente.

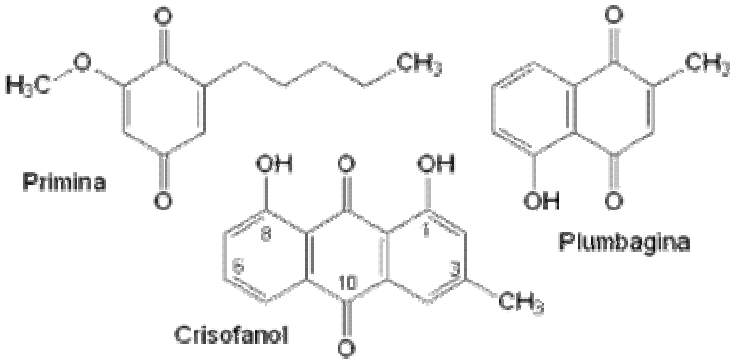
De nuevo en este capítulo debemos hablar del arándano, ya mencionado por su contenido en antocianósidos que se emplea en el tratamiento de distintas alteraciones vasculares: *Vaccinium myrtillus* L. de la familia Ericaceae. Por su contenido en taninos se utilizan los frutos desecados al sol ya que los frutos frescos podrían inducir el efecto contrario (laxante). Estos frutos contienen además de los taninos sustancias pécticas que podrían contribuir al efecto antidiarreico, con su poder absorbente como detoxificantes.

También por su poder astringente debido a su contenido en taninos (elagitaninos) pueden emplearse las hojas de nogal (*Juglans regia* L., Juglandaceae) en inflamaciones de la piel.

II.- COMPUESTOS FENÓLICOS DERIVADOS DE LA RUTA DE LOS POLIACETATOS

QUINONAS

A partir del acetil-S-Co A y a través de una serie de condensaciones entre unidades dicarbonadas se originan los poliacetatos. Por reducción se forman los acidos grasos, por ciclación una gran variedad de compuestos aromáticos como las quinonas y otros metabolitos que surgen a través de rutas mixtas como son los flavonoides, xantonas o terpenofenoles del cáñamo indiano y a través de la generación del ácido mevalónico, a la biosíntesis de los compuestos terpénicos..



De todo este grupo de poliacetatos nos vamos a ocupar en este capítulo de una serie de compuestos fenólicos que tienen en común un anillo quinónico

Las quinonas son muy abundantes en la naturaleza, en el Reino Vegetal se encuentran tanto en vegetales superiores como en hongos y bacterias. Dependiendo del grado de complejidad de su estructura química pueden clasificarse en benzoquinonas, naftoquinonas o antraquinonas si son estructuras monocíclicas, bicíclicas o tricíclicas.

El grupo de las benzoquinonas tiene escaso interés desde el punto de vista de la fitoterapia aunque si es necesario conocer su importante poder alergizante. Muchas benzoquinonas y algunas naftoquinonas se comportan como haptenos que al combinarse con los grupos amino o tiol de las macromoléculas pueden inducir dermatitis por sensibilización.

Las naftoquinonas, localizadas preferentemente en vegetales superiores, se encuentran en las plantas frescas en forma heterosídica, liberándose la genina durante el proceso de desecación. Pueden presentar actividades farmacológicas de aplicación a la terapéutica como es el caso de la plumbagina de la drosera que parece ser eficaz en el tratamiento de la tos, o la juglona (5-hidroxi-1,4-naftoquinona) de las hojas y fruto del nogal (*Juglans regia* L., Juglandaceae) que presenta actividad antibacteriana y fungicida. También algunas naftoquinonas pueden ser empleadas en cosmética como colorantes naturales, como ocurre con la lawsona (2-hidroxi-1,4-naftoquinona) también con actividad fungicida, presente en las hojas de alheña o henna (*Lawsonia inermis* L. Lythraceae) que además de ser un importante fungicida , se fija a los grupos tiólicos de la queratina capilar proporcionándoles un color rojo-anaranjado.

Las antraquinonas son pues quinonas tricíclicas derivadas del antraceno y constituyen el grupo más interesante de quinonas. Pueden llevar funciones hidroxílicas en su estructura en diversas posiciones: si poseen dos grupos OH en las posiciones 1 y 2, tienen propiedades colorantes; si éstos se encuentran en las posiciones 1 y 8, el efecto es laxante. Las antraquinonas con propiedades laxantes estimulantes deben llevar en su estructura además de los dos OH, un radical en el

carbono de posición 3 y pueden tener o no, sobre el carbono de posición 6, un radical OH u OCH_3. Generalmente en los vegetales se encuentran en forma heterosídica, es decir unidas a azúcares mayoritariamente a la glucosa, en ocasiones ramnosa y solo ocasionalmente algún azúcar diferente, en unión *O*-heterosídica (por los OH de las posiciones 1 u 8, a veces 6). Aparecen también *C*-heterósidos, es decir uniones directas carbono-carbono (C-10), o más de un azúcar sobre la misma molécula en diversas posiciones (a la vez *O*- y *C*-heterósido). Pueden encontrarse los derivados antraquinónicos en forma oxidada (antraquinona) o en forma reducida (generalmente se habla de antronas), y ser monómeros o dímeros (diantronas).

Las plantas que contienen estos compuestos son especies vegetales que pueden comportarse como laxantes o como purgantes según las dosis administradas. Las antraquinonas libres en forma reducida son muy irritantes y además, las geninas se eliminan al alcanzar el intestino delgado por lo que se prefiere administrar formas antraquinónicas heterosídicas (*O*-heterósidos de antraquinonas, *C*-heterósidos de antronas) o formas dímeras (*O*-heterósidos de diantronas), que carezcan del carbono metilénico. Posteriormente estas formas se hidrolizan en el intestino grueso y las formas oxidadas se reducen *in situ*, debiéndose la acción por tanto a las formas libres y reducidas. La acción tiene lugar en el colon, aumentando la motilidad intestinal por acción directa sobre las terminaciones nerviosas y actuando también sobre el movimiento de agua y electrolitos. Diversos ensayos experimentales han permitido dilucidar el mecanismo de acción de estos compuestos. Laxantes estimulantes son aquellos que estimulan el peristaltismo vía irritación de la mucosa o actividad intraneural sobre el plexo nervioso y como resultado incrementan la motilidad. Pero es sumamente importante igualmente su acción sobre las células de la mucosa del colon: incremento de la estimulación de la secreción de Cl^- disminuyendo la absorción de líquido y electrolitos. Se origina por consiguiente un incremento de agua y electrolitos en el lumen colónico lo que da lugar a un aumento de la presión en el intestino y por ello a una acción laxante.

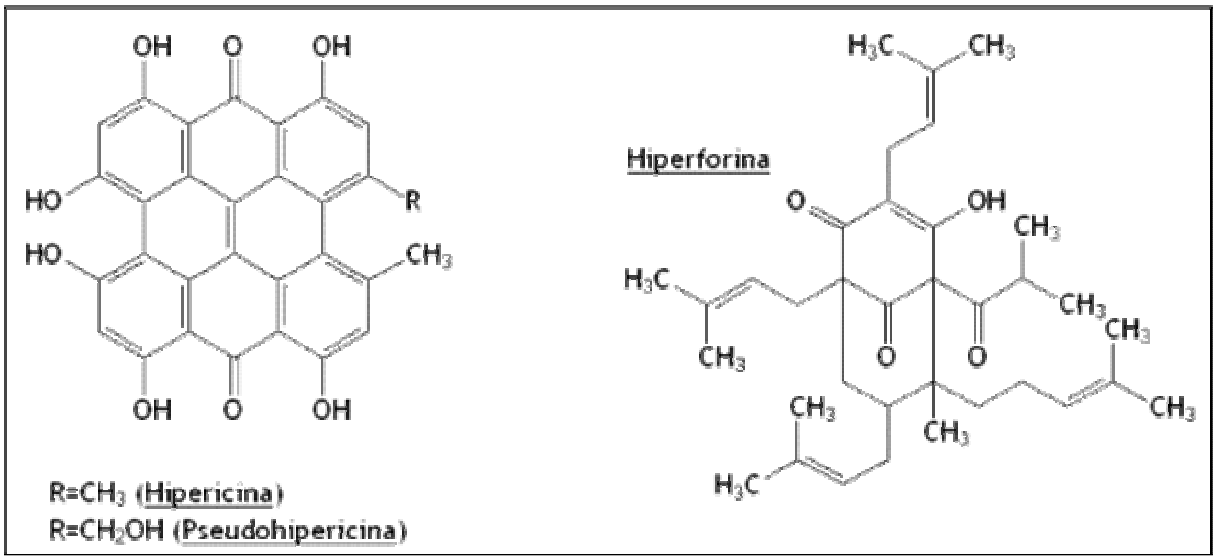
Los derivados hidroxiantracénicos inhiben la actividad Na^+/K^+-ATPásica y provocan una disminución de la reabsorción de agua, sodio y cloro, así como un aumento de la secreción de potasio a nivel de la mucosa intestinal. También pueden estar implicados otros mecanismos como son la estimulación de la síntesis de PGE_2, un mecanismo Ca^{2+}-dependiente o estimulación de histamina y 5-hidroxitriptamina.

Los compuestos antraquinónicos se utilizan en casos de estreñimiento y cuando es necesaria una evacuación intestinal con heces blandas, debiendo limitarse su uso a periodos cortos de tiempo. Tardan cierto tiempo en actuar, entre 6 y 8-12 horas después de su administración, por lo que se recomienda ésta por la noche para que el efecto tenga lugar a la mañana siguiente.

En general los laxantes antraquinónicos no deben emplearse mas que ocasionalmente, nunca en periodos prolongados ya que pueden causar dependencia, atonía intestinal o por el contrario la llamada “enfermedad de los laxantes” con diarreas, dolores abdominales, náuseas, etc. También el uso de estos laxantes puede originar desequilibrios electrolíticos, riesgo de hipokaliemia (disminución de la concentración de potasio plasmática). Pueden producirse interacciones con ciertos medicamentos como con los antiarrítmicos tipo quinidina o con los digitálicos. No se deben emplear durante el embarazo o la lactancia, ni tampoco en caso de íleos. No administrar a menores de 12 años, sin control médico.

Floroglucinoles

Finalizando con el estudio de las plantas medicinales cuyos principios activos son de naturaleza fenólica, en este capítulo se contemplan aquellas con principios activos derivados del floroglucinol.

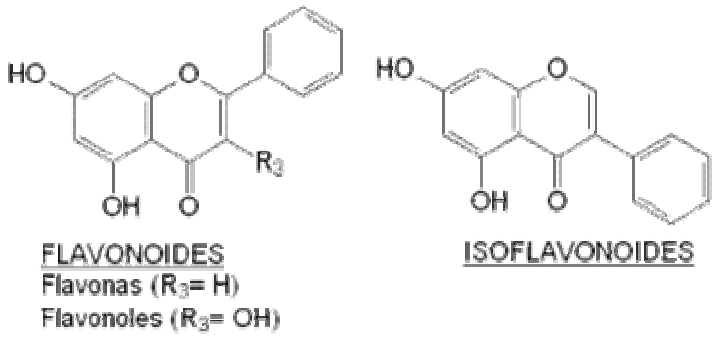


La estructura floroglucínica no se encuentra como tal en la naturaleza y sus derivados no son demasiado abundantes, siendo su biogénesis relativamente compleja. Algunos de estos derivados proceden biogenéticamente de la ruta de los poliacetatos, siendo frecuente la confluencia de distintas rutas biosintéticas como ocurre con los cannabinoides, terpenofenoles presentes en el cáñamo indiano que se originan por la combinación de la ruta del acetato y del mevalonato.

En el cáñamo indiano, se encuentra el tetrahidrocannabinol, principio activo floroglucínico sometido en la actualidad a multitud de ensayos, especialmente por sus propiedades antieméticas de posible utilización en los vómitos originados como consecuencia del tratamiento con quimioterápicos. Este compuesto es utilizado en algunos sitios pero como es sabido, sus efectos secundarios son importantes. También

se encuentran principios activos floroglucínicos en el helecho macho, *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott. Sus rizomas y base de los peciolos foliares han sido muy empleados por sus propiedades antihelmínticas, especialmente como tenicida. Estas propiedades se deben a una serie de compuestos polifenólicos derivados del floroglucinol conocidos como "filicina bruta" que se encuentran en pelos secretores internos.

III.- COMPUESTOS FENÓLICOS DERIVADOS DE LAS RUTAS DE LOS SIKIMATOS Y DE LOS POLIACETATOS



FLAVONOIDES
Flavonas (R_3= H)
Flavonoles (R_3= OH)

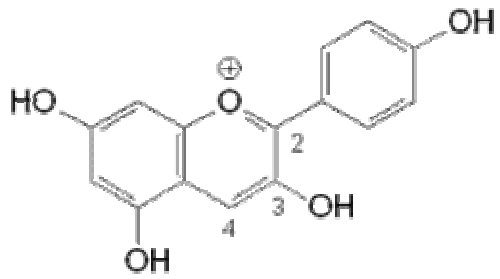
ISOFLAVONOIDES

Flavonoides

Tal como comentamos en el primer capítulo dedicado a los compuestos fenólicos, existen una serie de principios activos de plantas que proceden de rutas biosintéticas mixtas. Este es el caso de un importante grupo de moléculas activas denominadas genéricamente flavonoides.

Los flavonoides, compuestos ampliamente repartidos en la naturaleza, se originan a través de la combinación de la ruta del acetato y del sikimato, vías mediante las cuales se biosintetiza la estructura diaril-propánica (condensación de un triacetato que origina el anillo A y de un ácido cinámico que da lugar al anillo B). En la naturaleza pueden encontrarse tanto en forma libre (geninas) como combinados con azúcares mediante uniones O- y C-heterosídicas. La mayoría de ellos están constituidos por un núcleo bencénico unido a una γ- pirona, incluyendo además en distintas posiciones, C-1, C-2 o C-3, un segundo anillo bencénico dando lugar a los neoflavonoides, flavonoides propiamente dichos o a los isoflavonoides respectivamente. Con esta estructura existen un número elevado de compuestos distintos que pueden clasificarse en función del grado de oxidación del anillo piránico central.

Para los vegetales, estos compuestos son importantes pues, ademas de ser responsables de las coloraciones de muchas flores, frutos y hojas y por ello intervenir en la polinización atrayendo a los insectos, participan en la vida del vegetal ejerciendo importantes funciones como por ejemplo protegerle de los efectos nocivos de la radiación UV y ejercer una eficaz actividad antioxidante.



De todos ellos, los que tienen mayor interés farmacológico son dentro del grupo de los flavonoides: flavonas, flavonoles y flavanonas y sus correspondientes heterósidos y los antocianósidos. Muchos de ellos presentan actividad sobre el sistema vascular como factores vitamínicos P (aumento de la permeabilidad y disminución de la resistencia de los capilares sanguíneos) como por ejemplo el rutósido o los citroflavonoides, llamados así por haber sido aislados en especies pertenecientes al género *Citrus.*

También ejercen su acción sobre el sistema vascular por sus efectos vasodilatadores y por actuar inhibiendo distintos sistemas enzimáticos relacionados con la funcionalidad de los vasos (hialuronidasa, catecol-O-metiltransferasa, fosfodiesterasa-AMPc, PKC, etc). Además, también presentan actividad antiagregante plaquetaria, antiinflamatoria y captadora de radicales libres. Entre las plantas medicinales cuya actividad está relacionada con su contenido en flavonoides es necesario mencionar la flor de pasión (*Passiflora incarnata*) con aproximadamente un 2% de flavonoides (C-heterósidos de flavonas) de la cual nos ocuparemos en los capítulos correspondientes a los alcaloides; la manzanilla romana (*Chamaemelum nobile*) y la aquilea (*Achillea millefolium*) que incluiremos dentro de las drogas que contienen compuestos de naturaleza terpénica; el regaliz (*Glycyrrhiza glabra*) que posee flavanonas (liquiritósido) y como componentes activos saponósidos y el ginkgo (*Ginkgo biloba*), el cardo María (*Sylibum marianum*) y el espino blanco (*Crataegus* ssp.) cuyas características mencionaremos a continuación.

Dentro de este grupo de flavonoides es necesario mencionar especialmente el grupo de los antocianósidos, pigmentos de los vegetales responsables de sus coloraciones rojas, azules y violetas. Su estructura química corresponde a compuestos heterosídicos cuya genina (antocianidol) deriva del “catión flavilio” (2-fenilbenzopirilio). Desde el punto de vista de farmacia tienen interés por sus efectos farmacológicos, principalmente sobre el territorio vascular capilar y venoso, y por su poder de pigmentación que junto a su baja toxicidad les hacen ser de utilidad como colorantes naturales en la industria farmacéutica y alimentaria, aunque se alteren con facilidad variando su color.

Los antocianósidos, al igual que otros flavonoides, disminuyen la fragilidad capilar y aumentan su resistencia, probablemente debido a que actúan evitando la degradación del colágeno por inhibición enzimática de la elastasa y de la colagenasa. Por ello, están indicados en diversos trastornos capilares y venosos. Algunos antocianósidos poseen actividad antiinflamatoria, antiagregante plaquetaria y, al igual que otros compuestos fenólicos, actividad antioxidante. Además los antocianósidos se emplean en oftalmología en el tratamiento de trastornos circulatorios a nivel de la retina.

De las plantas cuyos principios activos son antocianósidos, incluimos alguna de las mas utilizadas en la actualidad como el arándano (*Vaccinium myrtillus*), o el grosellero negro (*Ribes nigrum*).

En cuanto a los isoflavonoides en la actualidad están adquiriendo una gran importancia pues algunos de ellos han mostrado un interesante efecto estrógenico débil pero relativamente selectivo sobre los receptores β -estrogénicos lo que les hace ser de utilidad en el tratamiento de la sintomatología asociada al climaterio además de actuar como inhibidores de tirosinakinasa y por tanto capaces de reducir la proliferación celular. Es el caso de la genisteína (5,7,4'-trihidroxi-isoflavona) y daidzeina (7,4'-dihidroxi-isoflavona) localizadas en la soja.

1.8 Pigmentos naturales flavonoides (2,3)

Los flavonoides son pigmentos vegetales que poseen un esqueleto carbonado C_6-C_3-C_6, es uno de los grupos más numerosos y ampliamente distribuidos de constituyentes naturales, conocidos algunas veces como antoxantinas.

Estos compuestos tienen como características generales su solubilidad en agua y en etanol, su carácter fenólico y su intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro debido a la presencia de sistemas aromáticos y conjugados. Por regla general son insolubles en éter de petróleo, lo que permite desengrasar un material antes de extraerlos. Para realizar una clasificación preliminar se puede hacer un estudio de sus propiedades de solubilidad y de comportamiento ante reacciones de color, seguidamente se hace un examen cromatográfico del extracto, y la identificación de los componentes individuales por comparaciones cromatográficas y espectroscópicas con compuestos estándar o con la literatura.

Los flavonoides se emplearon durante mucho tiempo como colorantes de lana, y actualmente se usan en la conservación de grasas o jugos de frutas debido a las propiedades antioxidantes de algunas polihidroxiflavonas. Entre otras aplicaciones están la de los glucósidos de dihidrochalconas como edulcorantes, de la rotenona como insecticida, etc.

De acuerdo con el libro de Colorantes Naturales de la doctora Olga Lock , hasta 1990 se conocían alrededor de 3000 flavonoides, entre ellos 450 flavonoles, 300 flavonas, 150 isoflavonas, 60 chalconas, 20 auronas, etc., los que encuentran extensamente distribuidos entre las plantas, tanto libres o como glicósidos; estos últimos contribuyen a darle color a las flores, frutos y hojas.

1.8.1 Estructura

Se conocen como diez clases de flavonoides, todos contienen quince átomos de carbono en su núcleo básico y están arreglados bajo un sistema C_6-C_3-C_6, en el cual

dos anillos aromáticos llamados A y B están unidos por una unidad de tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C.

Estructura básica de los flavonoides

Cada una de las clases de flavonoides, suele encontrarse bajo la forma de glicósidos con una o tres unidades de azúcar, generalmente en los carbonos 3 y/o 7, siendo los azúcares más comunes la glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa.

Los flavonoides se encuentran generalmente en mezclas como agliconas y/o glicósidos; en muchos casos, debido a la complejidad de la mezcla es más frecuente el estudio de estos compuestos bajo la forma de agliconas para lo cual los extractos deben hidrolizarse previamente.

1.8.2 Extracción y técnicas de identificación

Los solventes empleados en la extracción de flavonoides son muy variados y pueden ser desde muy polares como el agua y etanol para glicósidos o agliconas muy hidroxiladas, hasta menos polares como éter y cloroformo para flavonas altamente metoxiladas. Es recomendable emplear una sucesión de dos o más solventes, usualmente en el orden lipofílico; por ejemplo: éter de petróleo, benceno, éter etílico, acetato de etilo, alcoholes y finalmente agua, aunque con el agua se presenta la desventaja de su alto punto de ebullición y presión de vapor que dificultan luego el ser removida rápida y completamente del extracto; por otro lado, podrían ser extraídos otros compuesto de alto peso molecular que usualmente interfieren en las subsiguientes etapas de purificación del flavonoide.

La extracción de compuestos colorantes de las plantas se pueden realizar por distintos métodos: la infusión o decocción que es la técnica más popular, consiste en una extracción en agua de la planta fresca o seca con ayuda de calor, o en alcohol (tintura, vino), en algunos casos se usa la planta machacada, como cataplasma, jugo o polvo de la planta seca administrada directamente.

La extracción para tamizaje se realiza con una extracción por maceración a temperatura ambiente con uno a tres solventes con diferentes polaridades, generalmente diclorometano o hexano, éter o etanol y agua. Los extractos se concentran, evaporando los solventes a presión reducida y temperatura controlada (rotavapor) hasta alcanzar un estado de miel. Con los extractos acuosos se concentran por medio de liofilización. De esta forma los extractos son más estables y fáciles de almacenar y dosificar.

La extracción para elucidación estructural consiste en una maceración o extracción Soxhlet usando inicialmente un solvente de amplio espectro (metanol o etanol) y luego un fraccionamiento con diferentes solventes o mezclas de solventes que

permiten 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. (12)

Los flavonoides se pueden extraer por los siguientes métodos:

a. Extracción con metanol y cromatografía: se realiza una extracción con metanol en frío, el extracto se seca en presencia de policapolactama (nylon) pulverizada. El residuo es lavado con cloroformo, después con agua y finalmente con metanol.

   Todos los flavonoides se van en el metanol. La solución metanólica se evapora y el residuo se percola por una columna cromatografica empacada con gel de sílice. El componente principal se eluye con acetato de etilo y se cristaliza en metanol-agua. Este procedimiento se utilizó para estudiar la parte aérea de *Oethera lavandulaefolina,* obteniéndose cristales anaranjados de p.f. 198-201 ºC (peso 0.380 g).

b. Extracción con etanol y separación con borax: para obtener kaemferol de los pétalos de rosas amarillas se utiliza etanol caliente. El extracto se evapora a presión reducida. El residuo se extrae varias veces con éter de petróleo y después se hierve con una solución acuosa o etanólica de ácido sulfúrico (al 7 %) durante 2 horas. La suspensión enfriada se extrae varias veces con éter etílico. Se juntan los extractos y se extraen con una solución acuosa de 10 % de bórax, el cual disuelve la quercetina, p.f. 312 ºC, que se recupera al añadirle un ácido. Al destilar el éter queda kaemferol, p.f. 275 ºC como residuo.

c. Extracción y separación con sales de plomo: con pétalos secos y molidos, de flor de jamaica (*Hibiscus Sabdariffa),* se extraen con etanol. El etanol se destila a presión reducida y el residuo se extrae con éter de petróleo, para quitarle lípidos y carotenoides. En seguida se extrae con éter etílico y finalmente el residuo mezclado con un poco de etanol se deja en el refrigerador varios días para que se separe la hibiscitrina, la cual se recristaliza en etanol diluido, cristales amarillos, p.f. 238-240 ºC.

   El filtrado obtenido se diluye con agua, se trata con suficiente acetato de plomo para precipitar los flavonoides. El precipitado se filtra, se suspende en etanol y se descompone burbujeando ácido sulfhídrico. Se filtra el sulfuro de plomo, y el filtrado se calienta para eliminar el exceso de ácido sulfhídrico. En seguida se evapora a presión reducida.

   El residuo siruposo se macera con éter etílico anhidro. El sólido amarillo formado se cristaliza en etanol; se obtienen prismas amarillentos de gositrina, p.f. 181 ºC.

d. Extracción con etanol: hojas y tallos de apio triturados se mezclan con etanol. El extracto se concentra a presión reducida y se filtra en caliente sobre un poco de carbón activado. Al enfriarse forma una pasta gelatinosa que se separa de los licores madres. La masa gelatinosa se extrae en frío con éter para eliminar la

clorofila, luego se extrae varias veces con acetona helada. La porción insoluble (apiina cruda) se disuelve en agua caliente y se pone a hervir, se le añade, gota a gota, una solución de acetato neutro de plomo hasta que no se forme más precipitado, la suspensión se filtra en caliente. El precipitado se descarta y al filtrado se le añade, poco a poco, una solución de acetato básico de plomo hasta que no se forme más precipitado, éste se recoge por filtración. El precipitado de plomo se suspende en etanol y se le burbujea exceso de ácido sulfhídrico. Se filtra la suspensión. El filtrado se hierve para eliminar el exceso de ácido sulfhídrico y después se concentra. El concentrado se deja reposar en un lugar frío y se separan los cristales, los cuales se recristalizan en etanol dando agujas incoloras de apiina, p.f. 230-232 ºC. (6)

Los métodos anteriores son para extractos específicos, generalmente los flavonoides se pueden extraer con etanol al 70 % o metanol al 80 %, sin embargo se debe tomar en cuenta que el método de extracción depende de la textura y contenido de agua en la planta, así como de la sustancia a extraer.

Para la identificación de flavonoides se utilizan varias reacciones coloridas, la más usual es la reacción de Shinoda.

a. Reacción de Shinoda: al extracto alcohólico 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.

b. Reacción con H_2SO_4 $_{conc}$. : las flavonas y flavonoles dan coloraciones fuertemente amarillas, las flavanonas, anaranjadas o guindas; las chalconas y auronas, rojo guinda o rojo azulado.

c. Reacción con álcalis: los extractos acuosos pueden mostrar variaciones de color con el agregado de un álcali, si hay presencia de flaconas, flavanonoles e isoflavonas se ponen amarillas; flavanonas y flavonoles cambian de amarillo a naranja; chalconas de naranja a rojizo.

d. Prueba de Marini Bettolo: con solución de $SbCl_5$ en CCl_4, los flavonoides en general dan colores característicos o formación de precipitados; por ejemplo, las flaconas dan precipitados amarillo o anaranjado, y las chalconas, rojo oscuro o violeta.

e. Reactivo de Dimroth: solución de H_3BO_3 en Ac_2O, las 5-hidroxiflavonas dan soluciones anaranjadas o rojas.

f. 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.

1.9 Equipo de extracción

Para la extracción de sólidos se dispone a nivel de laboratorio de aparatos simples para la extracción semicontinua, que utilizan una mínima cantidad de solvente con el máximo de rendimiento en la extracción y la recuperación del solvente.

El extractor clásico de este tipo es el aparato de Soxhlet, es un aparato semicontinuo, pues en una de las fases (el sustrato) se agrega sólo al principio, mientras que el solvente cumple un ciclo de extracción-purificación continuo. La purificación se realiza en forma paralela, por destilación, de tal manera que el sustrato siempre se contacta con solvente puro. El aparato consta de tres partes principales: el matraz, la cámara de extracción y el refrigerante de reflujo. (Ver apéndice B, figura 19, pág. 106)

El matraz inferior contiene el solvente, que por calor se evapora. La cámara de extracción en su parte inferior tiene un tubo estrecho doblado en U que funciona como sifón. En la cámara de extracción se introduce la sustancia-problema, dentro de un cartucho de papel filtro o en una bolsita de tela tupida.

Los vapores llegan al refrigerante que los condensa y el líquido cae en gotas sobre la sustancia-problema. Cuando el condensado alcanza la altura del sifón refluye al matraz, cargado de principios extraídos.

Se continúa así hasta un número calculado de horas, lo suficiente para agotar el material, es decir, que el líquido pase incoloro por el tubo-sifón.

Es útil en escala laboratorio, porque, si bien la eficiencia de extracción no es muy alta, la regeneración del solvente se produce automáticamente con lo cual se evita el excesivo manipuleo de la extracción discontinua en sucesivas etapas.

1.10 Cromatografía

La cromatografía es una técnica de separación basada en la diferencia de velocidad con que se mueven los solutos a través de un medio estacionario mediante el flujo en un disolvente llamado eluente.

1.10.1 Clasificación de la cromatografía

La cromatografía se clasifica en: cromatografía de reparto, cromatografía de adsorción, cromatografía de exclusión, cromatografía de permeación y cromatografía de intercambio iónico.

1.10.2 Cromatografía de reparto

La separación de una mezcla de solutos es función de la distribución de las moléculas de estos entre una fase estacionaria líquida, soportada sobre un sólido, y la fase móvil o eluente del sistema.

La fase móvil puede ser un líquido o un gas según sea el caso de la cromatografía; en caso de que la cromatografía sea líquida-líquida la fase móvil será un líquido, o de un gas en cuyo caso es cromatografía gas-líquido.

Si el soluto A se disuelve en B y C, la distribución entre ellos está dada por la ecuación:

Coeficiente de reparto = (concentración de A en B)/(concentración de A en C)

La temperatura a la que el coeficiente de reparto se determina es constante.

Cromatografía líquido-líquido: se lleva a cabo principalmente en celulosa y gel de sílice húmeda, el agua se comporta como soporte por lo que se emplea para separar sustancias acuosolubles, se puede realizar en papel, columna o capa fina, la fase estacionaria está constituida por la parte individual de cada fibra.

Cromatografía gas-líquido: se elige la fase estacionaria que presente una estructura análoga a una de las sustancias que presente la mezcla. Se crea una película muy fina para facilitar el reparto, esta capa debe poseer baja volatilidad sobre el soporte sólido y de esta forma aumentar la superficie interfacial entre el gas y el líquido tanto como sea posible.

1.10.3 Cromatografía de adsorción

La adsorción se manifiesta por un aumento de la concentración del soluto en la interfase que rodea el medio estacionario. La separación está basada en la diferencias en el comportamiento, adsorción, deserción de sustancias contenidas en las fases móvil sobre un sólido estacionario y pueden ser sistemas líquido-sólido y gas-sólido. Se deben tomar en cuenta tres variables que influyen en el proceso de adsorción: adsorbente, eluente y solutos. El término adsorción en términos cromatográficos se refiere a interacciones débiles.

Cromatografía líquido-sólido: la fase estacionaria suele ser gel de sílice, alúmina, carbón activado y polvo poliamida. Algunas veces al aplicar alúmina pueden ocurrir cambios químicos, es decir, quimisorción durante el paso del soluto por la fase estacionaria.

Cromatografía gas-sólido: los adsorbentes más usados son alúmina, gel de sílice, carbón activado y mallas moleculares. Se realizan en columna, el material que se utiliza como adsorbente debe presentar una estructura rígida, tamaño uniforme y ser químicamente inerte.

1.10.4 Cromatografía de exclusión

La separación está basada en los diferentes volúmenes moleculares de los solutos. El tiempo de elusión es proporcional al peso molecular de los mismos, lo que da como resultado que no sea muy usada con compuestos de alto peso molecular. En este proceso principalmente, se emplean geles no iónicos de partículas uniformes y porosos como fase estacionaria

Cromatografía de filtración: se emplean geles de filtración como el sephadex, que es un polímero de dextrano. El eluente empleado es agua o soluciones amortiguadoras, los geles aumentan su volumen cuando se ponen en contacto con el eluente e impiden el paso de moléculas de gran tamaño a través de sus poros, y por eso se separan primero.

1.10.5 Cromatografía de permeación

Se emplean polímeros que se disuelven en solventes orgánicos como fase estacionaria.

1.10.6 Cromatografía de intercambio iónico

Se lleva a cabo con materiales especiales de estructura porosa e insoluble los cuales contienen grupos reactivos que están asociados a iones hábiles capaces de intercambiarse con otros iones presentes en el medio que los rodea. Se emplea en separaciones de sustancias iónicas, tanto orgánicas como inorgánicas.

1.10.7 Cromatografía de capa fina

La cromatografía en capa fina es una herramienta importante en la identificación de colorantes naturales. Se realiza por medio de placas cromatográficas, una fase estacionaria y una fase móvil móvil.

1.10.8 Proceso de adsorción

La muestra aplicada en la capa es adsorbida en la superficie del material por la acción de fuerzas electrostáticas (fuerzas de Van der Waals, puentes de Hidrógeno, efectos inductivos, etc.). Luego, cuando la capa es expuesta a un flujo por acción capilar se inicia una competencia de enlaces entre los sitios activos del adsorbente y la sustancia con el solvente.

1.10.9 Fase estacionaria (adsorbentes)

El absorbente o adsorbente, (en algunos casos) más utilizados son: Gel de sílice, que funciona a menudo como soporte para el agua u otros disolventes polares en las separaciones líquido-líquido. Sin embargo, si se seca en un horno la capa del gel de sílice después de preparada, ésta pierde la mayor parte de la humedad y su superficie resulta predominantemente sólida de modo que sirve como adsorbente para separaciones líquido-sólido, se debe tener cuidado para evitar exponer la superficie a la atmósfera, ya que la absorción de la humedad del aire se da en pocos minutos.

Oxido de Aluminio o alúmina (ácida, neutra o básica), tierra silícea o Kieselguhr, celulosa (nativa o micro-cristalina), poliamidas, son otros de los adsorbentes utilizados en los procesos de cromatografía en capa fina.

Estos adsorbentes deben tener ciertas características: tamaño de partícula, volumen de poro, diámetro de poro, área superficial, homogeneidad, pureza.

1.10.10 Preparación de las placas para cromatografía

Las placas para cromatografía en capa fina, pueden prepararse distribuyendo una pasta acuosa del sólido finamente dividido sobre la superficie limpia de una placa de vidrio o de mylar, o un portaobjetos de microscopio. Por lo general, se agrega una sustancia adhesiva a la mezcla para mejorar la adhesión de las partículas sólidas entre sí y con el vidrio. Se deja entonces la placa en reposo hasta que la capa se asienta y se adhiera intensamente a su superficie; en algunos casos puede calentarse en un horno durante varias horas.

La limpieza de las separaciones en la técnica de capa fina depende de la existencia de partículas con un estrecho intervalo de tamaño y de una capa de grosor uniforme.

Se usan como soporte del adsorbente láminas de vidrio, plástico o metálicos, como el aluminio. Los tamaños de la placa para TLC convencional son: 20 cm x 20 cm; 10 cm x 20 cm y 5 cm x 2 cm.

Hay placas que contienen un indicador de fluorescencia: F_{254} ó F_{366}. El número que aparece como subíndice indica la longitud de onda de excitación del indicador utilizado.

1.10.11 Aplicación de la muestra

La muestra se aplica en la capa según el objetivo: banda, punto o mancha. Se coloca una gota de la muestra cerca del extremo de la placa y se marca su posición con un lápiz.

1.10.12 Desarrollo de la placa

Es un proceso mediante el cual los compuestos son transportados a través de la fase estacionaria por la fase móvil.

Después de colocar la gota de muestra se evapora el disolvente de la muestra, se coloca la placa en un recipiente cerrado saturado con los vapores del disolvente utilizado para el desarrollo. Se moja un extremo de la placa con el disolvente, teniéndose cuidado de no mojar la muestra. Después de que el disolvente ha recorrido la longitud de la placa, ésta se retira y se seca; la posición de los componentes se determina por diferentes medios.

1.10.13 Cámaras para desarrollo

Existen varios tipos de cámaras:

- Normal
- Doble compartimiento
- *Sándwich*
- Horizontal
- Vario KS
- U
- Detección o visualización

Dependiendo del tipo de cámara la dirección del flujo puede ser, flujo ascendente, flujo descendente y flujo horizontal.

1.10.14 Identificación de la especie

Si la muestra no es coloreada se requiere de métodos que permitan visualizar el (los) componente(s) presentes. Este procedimiento se conoce también como revelado.

Los métodos son:

- Químicos (por inmersión). Se obtienen derivados coloreados o fluorescentes.

- Físicos (ópticos). Se utiliza radiación UV

Dos métodos comunes, que pueden aplicarse a la mayoría de las mezclas orgánicas, consisten en rociar con soluciones de yodo o ácido sulfúrico; ambos reaccionan con los compuestos orgánicos para dar productos de reacción de color oscuro. También se utilizan reactivos específicos como la ninhidrina, para localizar especies determinadas; se puede incorporar un material fluorescente a la fase estacionaria. Las sustancias fluorescentes se pueden detectar con una lámpara ultravioleta.

Después del desarrollo, se examina la placa con luz ultravioleta. En este caso, toda la placa presenta fluorescencia, excepto en los sitios donde se localizan los componentes no fluorescentes de la muestra.

1.10.15 Evaluación de un cromatograma de capa fina

La evaluación puede realizarse por los siguientes métodos:

a. Análisis cualitativo
    - Medida de Rf
    - Comparación visual de color/intensidad
    - Propiedades UV/IR/MS/NMR

b. Análisis semi-cuantitativo

Se puede lograr una estimación semicuantitativa de la cantidad presente de un componente realizando una comparación visual del diámetro y la intensidad del color de la mancha contra una serie de manchas patrones de concentración conocida. Se puede obtener mejores datos rascando la mancha de la placa, extrayendo el analito de la fase sólida y midiendo su concentración por medio de un método químico o físico adecuado.

c. Análisis cuantitativo
    - Indirecta
    - Directa
    - Densitometría, se utiliza un densitómetro de barrido para medir la radiación emitida por una mancha por fluorescencia o reflexión.
    - Medida de transmisión, medida de luz transmitida a través de la sustancia.
    - Medida de emisión, medida de luz reflejada desde la sustancia.
    - Espectrofotometría.
    - Fluorescencia.
    - Florescencia con *quenching*.(20)

III. ANTECEDENTES

Los pigmentos naturales para textiles, derivados de plantas, animales y minerales, han sido usados por miles de años. Históricamente, la mayoría de las fuentes de colorantes naturales han sido recolectados en estado silvestre.

Sólo algunos pocos, como el índigo y la cochinilla han sido cultivados comercialmente a gran escala. A mediados de 1800, los químicos empezaron a producir substitutos sintéticos de colorantes naturales y por 1914, solamente el cuatro por ciento del índigo utilizado como colorante para textil era extraído de plantas. Posteriormente, se ha incrementado el interés en colorantes naturales a medida que los consumidores toman conciencia de los problemas ecológicos y ambientales relacionados con el uso de colorantes sintéticos.

El uso de colorantes naturales disminuye significativamente la calidad de afluentes tóxicos relacionados con el proceso de tinción. Los colorantes naturales son, a menudo, utilizados en fábricas de cáñamo o algodón de crecimiento orgánico, el cultivo requiere menos sustancias sintéticas que el cultivo del algodón convencional.

En la actualidad, existe gran cantidad de información que abarca desde la siembra, hasta la aplicación de los colorantes, tanto de origen natural como sintéticos.

El área Maya, por su localización en la franja del trópico, cuenta con una gran diversidad de flora y fauna originada gracias a las grandes diferencias de altitud y pluviometría.

En ella encontramos cuatro de los colorantes más preciados a través de la historia humana, los cuales son: el añil que se extrae de la planta llamada jiquilite, el caracol de la púrpura (*Púrpura patula*) oriundo de las costas del Pacífico y golfo del Caribe, el insecto de la grana cochinilla (*Dactylopius coccus*, antiguamente *Coccus cacti*), huésped de las plantas del género *Opuntia* y *Nopalea* y el *Haematoxylon campechianum* de los yucatecos, que los españoles denominaron **palo de Campeche** en alusión al principal punto de procedencia en las llanuras pantanosas de esa provincia.

Guatemala, desde la época colonial y hasta finales del siglo XIX fue uno de los principales productores y exportadores de materias colorantes naturales en el mundo entero. La cochinilla, el añil y el palo amarillo eran los principales colorantes que se producían.

En los libros antiguos, como los Códices Mayas pueden encontrarse referencias acerca de los colorantes naturales utilizados por los indígenas en los años de esplendor de la cultura Maya. Años después, en la época de la conquista, los mismos españoles llevaron al viejo mundo el añil o jiquilite, materia tintórea de color azul intenso, que los aborígenes de América Central usaban para teñir las plumas de sus

penachos. En la época colonial, los tintes naturales y el cacao, ocuparon un lugar importante en la producción nacional. Se teñían los hilos de lana y algodón con gran variedad de colorantes naturales.

A partir de 1870 aproximadamente, los colorantes químicos empiezan a ser una fuerte competencia para los tintes naturales. Hasta el año 1920, la cochinilla se usaba para teñir en color rojo, la mayor parte de la producción se encontraba en La Antigua Guatemala y Amatitlán.

La necesidad de volver lo natural, en armonía con el medio ambiente, ha influenciado en los estudios de colorantes naturales obtenidos de plantas y animales, para ser utilizados en la industria de los alimentos, textiles, cosméticos y medicamentos, actualmente se han realizado trabajos de investigación sobre este tema y se han establecido de esta manera fundamentos científicos.

En el año 1987, Augusto Domínguez, de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, desarrolla el trabajo de investigación denominado: **Extracción de los pigmentos colorantes del tipo Xantófilas contenido en la flor *Tagetes erecta* (Marigold), (esta flor es una planta ampliamente conocida por su alto contenido de colorantes del tipo carotenoides), utilizando los métodos de saponificación en frío y saponificación en caliente para determinación de Xantofilas,** presentados por el AOAC. en su 13ª. edición (1980), demostrando que mediante el método de saponificación en frío se obtienen resultados más altos, que el método de saponificación en caliente.

En el año de 1999, se realizó un curso de tintorería natural para tejedores momostecos, el cual fue subvencionado por el PROYECTO ALA 94/81 PRODETOTO, SEP/UE, PROSIGUA, PROART, CEDART y ejecutado por la FUNDACIÓN GABINA J.M., éste tenía como objetivo publicar un manual para el tintorero momosteco, en donde se explica el procedimiento del teñido de hilos de algodón y lana con tintes naturales, especifica el equipo y tipo de instalación para el tintorero, proporciona una lista de las sustancias botánicas de donde se extraen algunos tintes, así como los parámetros que deben controlarse en todo proceso de teñido. Es de hacer notar que todo este procedimiento se realiza de manera artesanal.

En la sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería USAC, en las líneas de investigación de Extractos Vegetales de la Inga. Qca. Telma Maricela Cano Morales, se han realizado estudios de Extracción de Colorantes Naturales.

En el año 2000, Marco Donado, de la Facultad de Ingeniería USAC, trabajó en la **Extracción de carotenoides de la caléndula (*caléndula Officinalis L.*) para su utilización como colorante natural en productos para consumo humano**, por dos métodos de extracción a nivel laboratorio, demostrando que sí es factible obtener carotenoides a partir de la flor de caléndula, usando como solvente acetona y éter etílico. En marzo de 2004, Henry Estuardo del Cid Vásquez presentó su trabajo de tesis titulado **Extracción a nivel de 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 cual se estudia el rendimiento promedio de extracto de flavonoides en relación a la cantidad de materia prima utilizando tres solventes y empleando el método Soxhlet, determinando mediante pruebas colorimétricas, cromatográficas y espectrofotométricas, que sí existe presencia de colorantes flavonoides (principalmente Quercetina, hiperósido, rutina). En octubre de 2004 Byron Alfredo Quiñónez Figueroa realizó el trabajo titulado **Extracción de colorante de chile jalapeño (*Capsicum annum L.*) a nivel de laboratorio con tres solventes** con el objetivo de extraer colorantes del tipo carotenoides contenidos en el chile jalapeño (*Capsicum annum L.)* en estado maduro a nivel de laboratorio con tres diferentes solventes provenientes del departamento de Santa Rosa, específicamente Barberena, utilizando un extractor de cuchillas. Concluyendo que existe diferencia significativa entre los rendimientos promedio de cada solvente utilizado en la extracción de colorante del tipo carotenoides provenientes del chile jalapeño.

IV. Objetivos:

1. General

Realizar un estudio fisicoquímico de los tintes extraídos a nivel laboratorio, de la corteza de 3 especies forestales, utilizando 3 diferentes solventes; con el fin de teñir fibras naturales que cumplan con las especificaciones de calidad exigidas por el mercado nacional e internacional.

2. Específicos

Extraer a nivel laboratorio, el tinte natural de la corteza de chaperno(*Lonchocarpus rugosus*), quebracho(*Lisyloma bahamense*) y aliso(*Alnus arguta*), utilizando 3 solventes (agua y alcohol etílico al 35% y al 70%).

Caracterizar fisicoquímicamente los extractos obtenidos a nivel laboratorio, para comprobar la presencia de grupos de componentes de pigmentos colorantes por medio de pruebas colorimétricas y cromatográficas.

Extraer a nivel de planta piloto el tinte natural de la corteza de y chaperno(*Lonchocarpus rugosus*), quebracho(*Lisyloma bahamense*) y aliso(*Alnus arguta*), utilizando 3 solventes (agua y alcohol etílico al 35% y al 70%).

Secar los extractos obtenidos a nivel planta piloto en un secador eléctrico de flujo transversal de bandejas, utilizando bandejas de acero inoxidable, para obtener un tinte en presentación en forma de polvo.

Validar la metodología de extracción y secado para asesorar a los tintoreros del altiplano de Guatemala, en la mejora y tecnificación de su proceso de extracción y conservación de los tintes extraídos.

Aplicación de los tintes naturales extraídos, a fibras de lana, algodón y maguey, utilizando el método de inmersión y agitación en caliente. Este proceso a nivel planta piloto.

Validar la metodología de tinción, lavado y secado de las fibras para asesorar a los tintoreros del altiplano de Guatemala, en la mejora y tecnificación de su proceso de tinción.

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

V. Hipótesis:

HIPOTESIS

Es factible teñir 3 tipos de fibras naturales, lana, maguey y algodón, utilizando tintes naturales extraídos de la corteza de 3 especies forestales, chaperno, quebracho y aliso y que cumplan con estándares de calidad establecidos por el mercado.

HIPÓTESIS ESTADÍSTICA

Hipótesis nula

No existe diferencia significativa entre el rendimiento, del tinte natural extraído de la corteza de las especies forestales, chaperno, quebracho y aliso para cada solvente a utilizar.

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa entre el rendimiento, del tinte natural extraído de la corteza de las especies forestales, chaperno, quebracho y aliso para cada solvente a utilizar.

Hipótesis nula

No existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas del tinte natural extraído de la corteza de las especies forestales, chaperno, quebracho y aliso para cada solvente a utilizar.

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas del tinte natural extraído de la corteza de las especies forestales, chaperno, quebracho y aliso para cada solvente a utilizar.

Hipótesis nula

No existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas de las fibras teñidas de algodón, maguey y lana, obtenidas utilizando los tintes naturales extraídos de la corteza de las especies forestales, chaperno, quebracho y aliso para cada solvente a utilizar.

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas de las fibras teñidas de algodón, maguey y lana, obtenidas utilizando los tintes naturales extraídos de la corteza de las especies forestales, chaperno, quebracho y aliso para cada solvente a utilizar.

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. Laboratorio de análisis físicoquímico de la Sección de Química Industrial, del Centro de Investigaciones de Ingeniería, CII, donde se llevó a cabo la extracción de los tintes naturales a nivel laboratorio y los ensayos fisicoquímicos de: densidad, índice de refracción, identificación de flavonoides con reacciones coloridas, así como las pruebas de solidez a las fibras teñidas.
2. Laboratorio de Investigación en Productos Naturales, LIPRONAT, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la USAC, donde se llevaron a cabo la Identificación de los metabolitos secundarios presentes en los extractos, entre ellos, compuestos fenólicos(ácidos fenólicos y flavonoides) a través de reacciones coloridas y además cromatografía en capa fina para identificar otros metabolitos.
3. Instalaciones de la Fundación Gabina J.M. de Momostenango, Totonicapán, donde se realizó el proceso de tinción del aliso y quebracho.
4. Planta piloto de Extracción-destilación de la sección de Química Industrial, del Centro de Investigaciones de Ingeniería, donde se encuentra instalado el molino de martillos donde se procedió al proceso de molienda y tamizado de la corteza de las especies a estudiar. También aquí se tiene instalada la marmita para extracción de taninos y colorantes y donde se llevó a cabo la extracción de los tintes naturales en cantidades mas grandes comparadas con las obtenidas a nivel laboratorio, las que se utilizaron en el proceso de tinción. Se realizó además en la misma marmita, el proceso de mordentado de las fibras (preparación previa de las mismas) y la posterior tinción de fibras de lana, maguey y algodón, con extractos colorantes de chaperno.
5. Secador solar de las instalaciones del CEDIA de la Facultad de Agronomía, donde se procederá a secar la corteza de las diferentes especies a estudiar.
6. Secador eléctrico instalado en la Planta piloto de Extracción Destilación del Centro de Investigaciones de Ingeniería, donde se llevará a cabo el proceso de secado de la corteza y los extractos tintóreos.

OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS:

La materia vegetal se obtuvo a través de la Fundación Gabina J. M. de Totonicapán y la Fundación FUNCEDESCRI de San Lucas Sacatépequez, Guatemala.

Para las 3 especies: Chaperno, quebracho y aliso se colectó la corteza y se colocó en recipientes herméticos para luego ser llevada hacia el secador solar de la Facultad de Agronomía para realizar la primera fase de secado y posteriormente fue llevada al secador eléctrico de flujo transversal con bandejas para la segunda fase del

secado en donde se eliminó el agua residual hasta llegar a peso constante, controlándose la humedad relativa y temperatura en las diferentes fases del proceso.

La corteza seca se molió en un molino de martillos y se sometió al proceso de extracción de tintes naturales: destilación con reflujo a nivel laboratorio y maceración en caliente con agitación a nivel planta piloto.

Caracterización botánica:

La caracterización se realizó en el Herbario de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, de la USAC.

DISEÑO DE TRATAMIENTOS

Para la evaluación estadística se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo combinatorio, en el cual se aplicó un experimento factorial evaluando 3 especies y 3 tipos de solventes (agua, etanol al 35% y etanol al 70%), con 5 repeticiones para cada una, resultando 9 unidades experimentales, y un total de 45 tratamientos. El tamaño de lote fue fijo con una relación materia seca/solvente de 1:10, tiempo de extracción de 2 horas y a temperatura de ebullición. Se realizó el mismo procedimiento a nivel piloto. Obtenidos los extractos tintóreos, éstos se aplicaron en fibras de lana, maguey y algodón, utilizando el método de tinción descrito mas adelante.

MANEJO DEL EXPERIMENTO:

La materia prima de las 3 especies forestales fue recolectada en los siguientes lugares: El chaperno se colectó en el km 114 municipio de Morazán, el Progreso, el quebracho se colectó en la aldea Tunucó Abajo de Jocotán, Chiquimula y el aliso(Alnus arguta) se colectó en el municipio de Momostenango, Totonicapán y San Juan Sacatepéquez, Guatemala con el apoyo de las Fundaciones Gabina J.M. de Totonicapán y FUNCEDESCRI de San Lucas Sacatepéquez. Dicha materia prima se procedió a secar en el secador solar del CEDIA, Facultad de Agronomía, en una primera fase de secado y posteriormente en el secador eléctrico de flujo transversal de bandejas, se colocó en recipientes herméticos, para luego ser reducida de tamaño en un molino de martillos y de cuchillas según el caso. 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 para obtener el extracto colorante en polvo y guardarlos en frascos color ámbar debidamente etiquetados.

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 experimental.

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

1. Se procede a tamizar la corteza molida de las especies utilizando un tamiz No. 60.
2. El método a utilizar es el de maceración con reflujo. En este método se procede a colocar 60 g del material en un matraz de cuello corto con esmeril 24/40, y se le agrega el solvente respectivo (agua, ó alcohol etílico al 35% y alcohol etílico al 70%), en una relación materia prima seca/solvente de 1:10, procurando que el solvente cubra la materia prima.
3. Se procede a colocar el condensador en el cuello del matraz y todo el equipo se coloca en una manta de calentamiento durante 2 horas a temperatura de ebullición.
4. Se procede a filtrar, utilizando técnica de filtración al vacío.
5. Los extractos obtenidos se secan por evaporación, obteniéndose un polvo de cristales brillantes de color café. Los extractos pulverizados se colocan en recipientes cerrados color ámbar para su posterior caracterización.
6. Para poder analizar la calidad del extracto obtenido se procede de la siguiente manera: se concentra a presión reducida en un rotavapor, a temperatura no mayor de 40ºC y girando a una velocidad constante. El tiempo de extracción de solvente es continuo, hasta que la muestra no tenga presencia de solvente. El residuo obtenido contiene extracto colorante, el que es almacenado en viales debidamente identificados y en refrigeración. Después de obtener los extractos se le realizan 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

El método a usar es el de maceración dinámica en caliente. En este método se procede de la siguiente manera:

1. La materia prima seca, molida y tamizada se coloca en la marmita de acero inoxidable en una relación materia prima seca/solvente 1:10.
2. Se procede a abrir la llave de vapor que en forma indirecta incrementa la temperatura de la mezcla hasta llegar a temperatura de ebullición durante 2 horas.
3. Se procede a descargar la mezcla a través del conducto de salida en la parte inferior de la marmita.
4. Se procede a filtrar, utilizando un recipiente de acero inoxidable para filtración al vacío. Se utiliza manta de algodón como medio filtrante.

5. El extracto así obtenido se seca, utilizando el secador eléctrico de flujo transversal de bandejas, obteniendo un polvo de cristales brillantes y se coloca en frasco color ámbar para su 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 FISICOQUÍMICAS DE LOS EXTRACTOS COLORANTES

Determinación de densidad:

La determinación de la densidad de los extractos tintóreos se realiza con un picnómetro de 10 mL a temperatura de 20^{o}C.

Determinación del índice de refracción

Se utiliza un refractómetro Abbe. Se limpia con Xilol y se vierte una gota del extracto tintóreo en el prisma, tomando nota de la lectura del aparato.

Identificación de flavonoides

Reacciones coloridas:

Para identificar flavonoides se utilizan las siguientes pruebas:

a. Reacción de Shinoda: al extracto alcohólico 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.

b. Reacción con H_2SO_4 concentrado: a la muestra se le agrega 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 utiliza la técnica de capa fina, para realizar este análisis se deben preparar varias fases.

Preparación de la muestra

Se preparan 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.

C. MÉTODO PARA TINCIÓN DE LANA, MAGUEY Y ALGODÓN

1. Se realizó el proceso de lavado de las fibras de lana. Se colocó en agua con detergente durante 12 horas. Posteriormente se lavó solo con agua. Las fibras de maguey y algodón no se lavan.
2. Se realizó el proceso de mordentado de las fibras, el cual consiste en colocar las fibras en una solución de alumbre (Sulfato doble de Potasio y Aluminio, $Al_2(SO_4)_3.K_2SO_4.24\ H_2O$). La cantidad de alumbre agregado representa el 10% en masa de la cantidad de fibra a mordentar.

   Para mordentar la lana, además de alumbre se le agrega a la solución de mordentado ácido tartárico (crémor tártaro), que represente el 5% de la cantidad de lana a mordentar.

   Para mordentar el algodón, además de alumbre se le agrega un extracto tánico, que represente el 25% en peso de corteza fresca de la especie de donde se obtiene dicho extracto , de la cantidad de algodón a mordentar.

   Se introduce la fibra en la solución de mordentado y se procede a aplicarle calor. En el caso de maguey y algodón se ebulle durante 1 hora, moviendo constantemente la fibra. En el caso de lana, se mantiene la temperatura de la mezcla mordiente a una temperatura de 90^oC, sin llegar a ebullición, debido a que la fibra es mas sensible y se destruye.
3. Se realizó el lavado de fibras después del mordentado. Este proceso se realiza utilizando agua con una pequeña cantidad de jabón neutro.
4. Se realizó el proceso de tinción. Para 1 libra de fibra, se utilizó 7.5 litros de agua y de extracto colorante de aliso se utilizó 11.71 g. Para las tinciones con extracto colorante de quebracho se utilizó 22.78 g y para las tinciones con extracto colorante de chaperno se utilizó 8.25g.

   Para el proceso de tinción se procede de la siguiente manera:

   Para 1 libra de fibra se miden los 7.5 litros de agua y se colocan en un recipiente, se le aplica calor hasta llegar a una temperatura aproximada de 70oC, luego se introduce la cantidad necesaria de extracto colorante y se agita durante 5 minutos; se introduce la fibra y se mueve constantemente. Cuando se

tiñe algodón o maguey, se puede llegar a ebullición, pero con la lana solo se puede llegar a una temperatura de 90oC, al igual que en el proceso de mordentado, ya que la fibra se afecta. Desde el momento del inicio de la ebullición ó al llegar a 90oC en el caso de la lana, se mide 1 hora y se saca las fibras de la solución de agua y extracto colorante para realizar el proceso de lavado.

5. Se realizó el lavado de fibras después de la tinción. Este proceso se realiza utilizando agua con una pequeña cantidad de jabón neutro(Se puede usar Shampoo para bebé).
6. Se realizó después el proceso de lavado de las fibras con suficiente agua, se ordenan las madejas de fibras y se procede a secar a la sombra.

   En la presente visita técnica se tiñeron 6 libras de lana; 3 libras utilizando extracto colorante de aliso y 3 libras con extracto colorante de quebracho. Se tiñeron 6 libras de maguey y 6 libras de lana, de igual manera, 3 libras con extracto colorante de aliso y 3 con extracto colorante de quebracho.

   Las tinciones de lana, maguey y algodón, con extracto colorante de quebracho se realizarán en la planta piloto de extracción-destilación, específicamente en la marmita de obtención de extractos colorantes y tánicos. Esto con el objetivo de iniciar el la tecnificación del proceso de tinción.

Se realizó el proceso de mordentado de las fibras, el cual consiste en colocar las fibras en una solución de alumbre (Sulfato doble de Potasio y Aluminio, $Al_2(SO_4)_3.K_2SO_4.24\ H_2O$). La cantidad de alumbre agregado representa el 10% en masa de la cantidad de fibra a mordentar.

Se realizó el proceso de tinción. Para 1 libra de fibra, se utilizó 7.5 litros de agua y de extracto colorante de aliso se utilizó 11.71 g. Para las tinciones con extracto colorante de quebracho se utilizó 22.78 g y para las tinciones con extracto colorante de chaperno se utilizó 8.25g.

C. MÉTODO PARA CARACTERIZACION DE LAS FIBRAS TEÑIDAS

DETERMINACION DE PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LAS FIBRAS TEÑIDAS

-SOLIDEZ AL BLANQUEO CON PEROXIDO

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 35ºBé, 0.1 g/L cloruro de magnesio cristalizado pH 10.5, 1 hora a 90ºC. Relación de baño 30:1

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

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

BAÑO 4: 20mL/L peroxido de hidrogeno 30%, 5mL/L silicato de sodio 35ºBé, pH 10, 2 horas a 70ºC. 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.

- SOLIDEZ AL LAVADO

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

Test 1/40ºC:

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

Test 3/60ºC:

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

Test 4/95ºC:

5g/L jabón, 2 g/L soda ash, 30 minutos a 95ºC, 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 20ºC 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 30ºC 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 150ºC
a) a 180ºC
a) a 210ºC

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

Planchas de calentamiento
Equipo de filtración a nivel laboratorio
Condensadores
Refractómetro
Balanza analítica
Molino de aspas
Bomba de vacío
Potenciómetro
Espectrofotómetro
Reactor
Secador eléctrico
balones de cuello corto con esmeril 24/40 de 5 000 mL de capacidad
mantas de calentamiento con controlador, de 2000-5000 mL
condensadores tipo pirex de 500 mm de largo con esmeril 24/40.
cámara digital
analizador de humedad.
Equipo de filtración a nivel piloto.

VII RESULTADOS Y SU DISCUSIÓN

TABLA 1
Rendimiento porcentual de extractos colorantes

ESPECIE	SOLVENTE	RENDIMIENTO (%)
ALISO	AGUA	13.46
	ETANOL 35%	25.91
	ETANOL 70%	20.52
QUEBRACHO	AGUA	8.55
	ETANOL 35%	17.00
	ETANOL 70%	19.37
CHAPERNO	AGUA	10.43
	ETANOL 35%	14.71
	ETANOL 70%	13.31

En la tabla 1 se muestra el rendimiento porcentual del extracto colorante obtenido al procesar tanto la corteza de Aliso común como de chaperno y quebracho, en ella se puede apreciar que la especie que presenta mayor valor de rendimiento es el aliso, que es 25.91% utilizando como solvente etanol al 35%. El menor valor de rendimiento se obtenido es de 8.55% para la especie quebracho utilizando agua como solvente.

Según el análisis de varianza para un modelo bifactorial y aplicando la comparación de medias por medio de la prueba de Tukey se estableció que sí hay diferencia significativa en el rendimiento del extracto colorante en función de la especie y en función del solvente utilizado. Cada uno de los solventes tiene diferente poder extractivo en función de la especie y existe diferencia significativa entre la interacción entre especies y solventes. En cuanto al solvente, con el etanol se produce un mayor rendimiento que con el agua.

GRAFICO 1

Porcentaje de rendimiento de los extractos de colorante de las especies de Aliso, Quebracho y Chaperno en función del tipo de solvente.

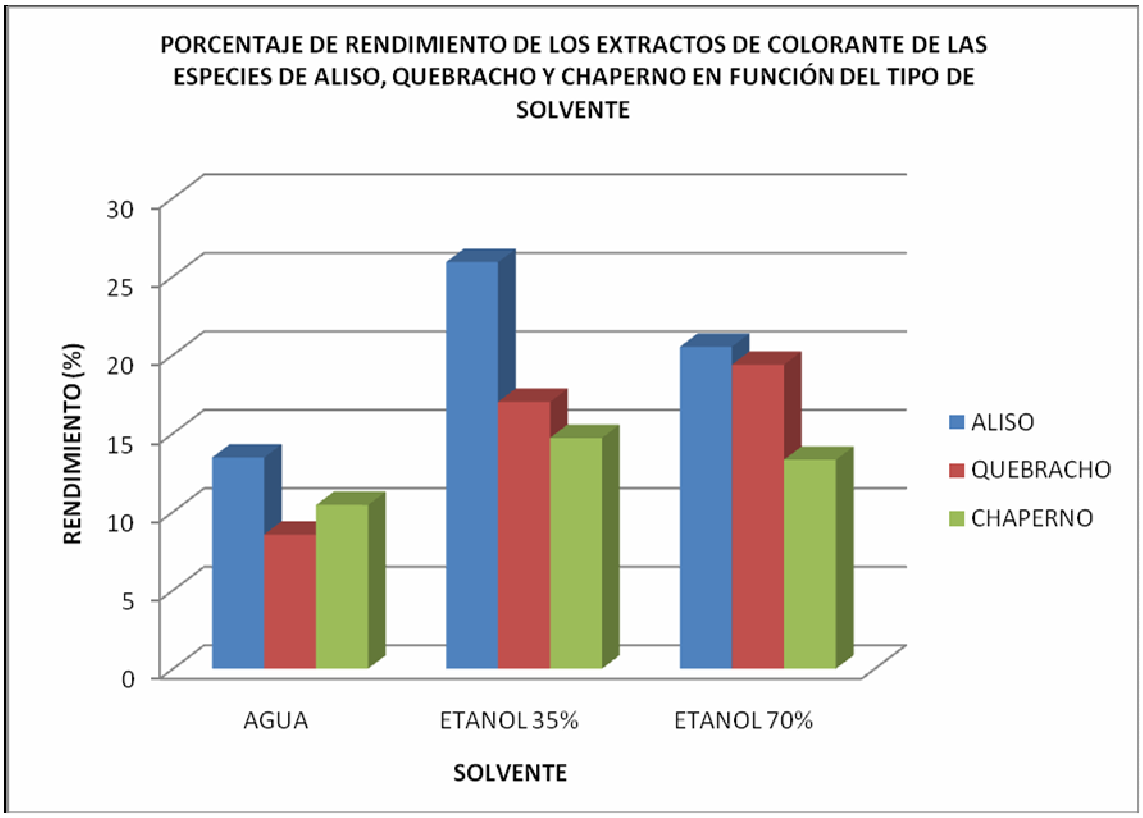


TABLA 2.
Tabla de propiedades fisicoquímicas de los extractos colorantes

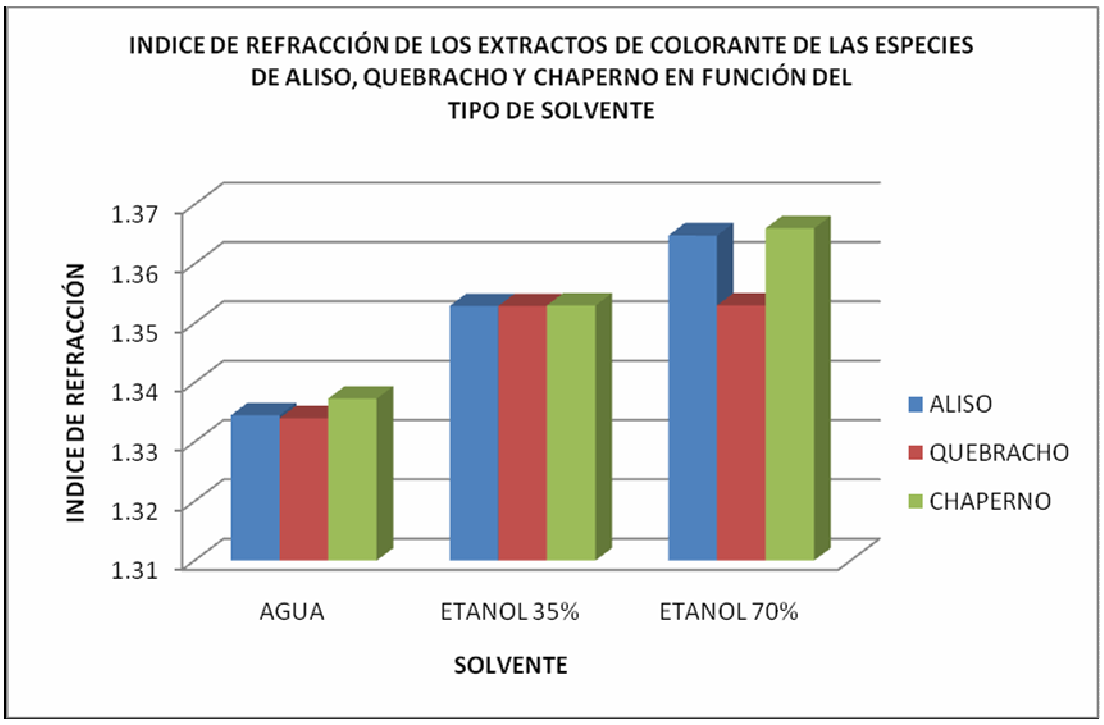
ESPECIE	SOLVENTE	DENSIDAD (g/mL)	INDICE DE REFRACCIÓN
ALISO	AGUA	0.9796	1.3345
	ETANOL 35%	0.9463	1.3532
	ETANOL 70%	0.8717	1.3662
QUEBRACHO	AGUA	1.0481	1.3340
	ETANOL 35%	1.0002	1.3529
	ETANOL 70%	0.9208	1.3648
CHAPERNO	AGUA	0.9791	1.3373
	ETANOL 35%	0.9559	1.3530
	ETANOL 70%	0.8704	1.3660

INDICE DE REFRACCIÓN

Para los valores obtenidos del índice de refracción, Sí hay diferencia significativa en los valores obtenidos para los diferentes solventes utilizados, pero no hay diferencia significativa entre especies. Utilizando como solvente alcohol etílico al 70% se obtienen los valores mas altos , se obtienen valores intermedios con alcohol etílico al 35% y los valores mas bajos se obtienen con agua.

GRAFICO 2

Índice de refracción de los extractos de colorante de las especies de Aliso, Quebracho y Chaperno en función del tipo del solvente.



DENSIDAD

Para los valores de densidad obtenidos se tiene que sí hay diferencia significativa entre especies y entre solventes, también se tiene diferencia significativa en la interacción especie solvente. A nivel individual los extractos colorantes de aliso y de chaperno tienen menor densidad y los extractos colorantes de quebracho presentan los mayores valores.

GRÁFICO 3

Densidad de los extractos de colorante de las especies de Aliso, Quebracho y Chaperno en función del tipo de solvente

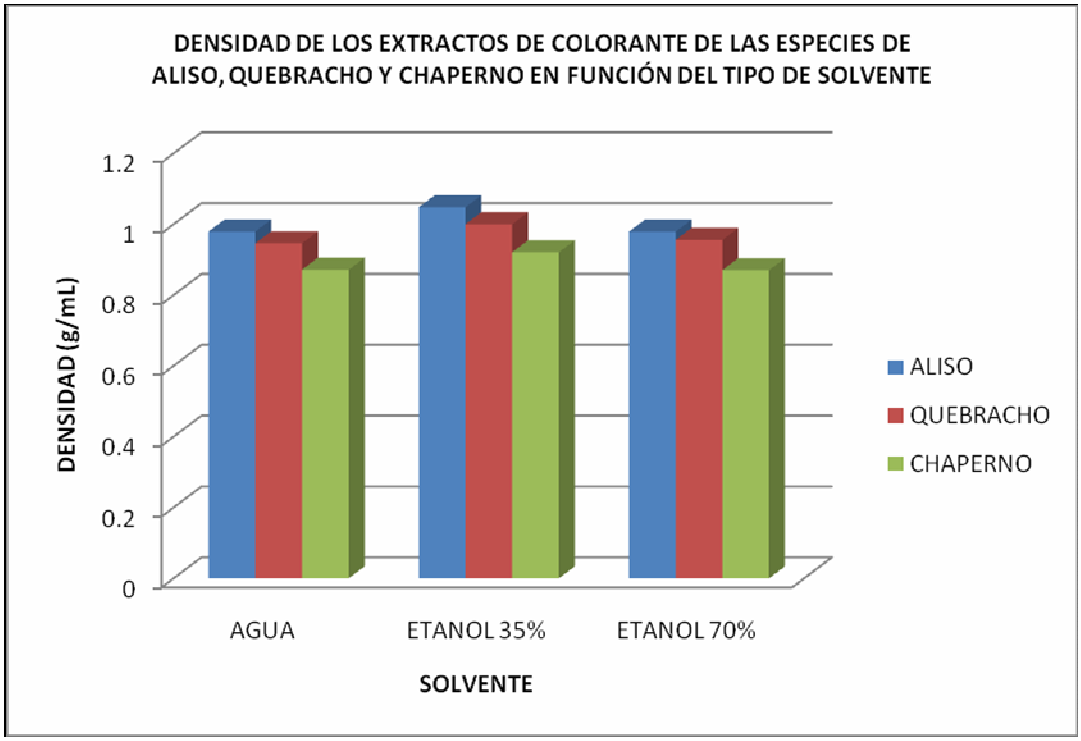


TABLA 3
Reacción colorida de Shinoda, para la identificación de flavonoides en el extracto colorante.

ESPECIE	SOLVENTE	GRUPO FENOLICO IDENTIFICADO
ALISO	**AGUA**	Flavonas y Flavonoles
	ETANOL 35%	Flavonas y Flavonoles
	ETANOL 70%	Flavonas y Flavonoles
QUEBRACHO	**AGUA**	No Identificado
	ETANOL 35%	No Identificado
	ETANOL 70%	No Identificado
CHAPERNO	**AGUA**	Ácido Fenólico
	ETANOL 35%	Ácido Fenólico
	ETANOL 70%	Ácido Fenólico

Los compuestos fenólicos se originan principalmente a través de dos rutas biosintéticas: la ruta del ácido sikímico que conduce, mediante la síntesis de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina), a los ácidos cinámicos y sus derivados (**fenoles sencillos**, **ácidos fenólicos** y derivados, **cumarinas**, **lignanos** y derivados del fenilpropano), y la ruta de los poliacetatos por la cual se originan **quinonas, xantonas, orcinoles**, etc. Igualmente, algunos de los compuestos fenólicos que se consideran como principios activos de plantas medicinales se originan a través de rutas mixtas que combinan la vía del sikimato y del acetato, es el caso por ejemplo de los **flavonoides**, o que surgen a través de la combinación de la vía del mevalonato, origen de los compuestos terpénicos, con la vía del sikimato (furano y piranocumarinas, etc.).

Se observa en el extracto colorante de la corteza de aliso común(Alnus arguta) están presentes los Flavonoides denominados Flavonas y Flavonoles, mientras que en el extracto colorante de la corteza de chaperno están presentes los ácidos fenólicos, en los dos casos, independiente del tipo de solvente utilizado, mientras que en el extracto colorante de la corteza de quebracho no fue identificado con esta prueba ningún grupo fenol.

TABLA 4
Reacción colorida de Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) , para la identificación de flavonoides en el extracto tánico.

ESPECIE	SOLVENTE	FLAVONOIDE IDENTIFICADO
ALISO	AGUA	Flavonas y Flavonoles
	ETANOL 35%	Flavonas y Flavonoles
	ETANOL 70%	Flavonas y Flavonoles
QUEBRACHO	AGUA	No Identificado
	ETANOL 35%	No Identificado
	ETANOL 70%	No Identificado
CHAPERNO	AGUA	Ácido Fenólico
	ETANOL 35%	Ácido Fenólico
	ETANOL 70%	Ácido Fenólico

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(Alnus arguta), los Flavonoides identificados son Flavonas y Flavonoles, mientras que en el extracto colorante de la corteza de chaperno se identificó el ácido fenólico y en el extracto colorante de la corteza de quebracho no se identificó ningun grupo.

TABLA 5
Análisis cromatrográfico en capa fina, para la determinación de la presencia de Quercitina, Rutina, Ácido clorogénico, Hiperósido y Ácido Caféico en extractos colorantes.

ESPECIE	SOLVENTE	ÁCIDO CLOROGÉNICO	RUTINA	HIPERÓSIDO	QUERCITINA	ÁCIDO CAFÉICO
ALISO	AGUA	-	-	-	+	
	ETANOL 35%	-	-	-	+	
	ETANOL 70%	-	-	-	+	
QUEBRACHO	AGUA	-	-	-	-	-
	ETANOL 35%	-	-	-	-	-
	ETANOL 70%	-	-	-	-	-
CHAPERNO	AGUA	-	-	-	-	+
	ETANOL 35%	-	-	-	-	+
	ETANOL 70%	-	-	-	-	+

El grupo de ácidos fenólicos se caracteriza por poseer en su estructura química el anillo aromático y el grupo hidroxílico comunes a los compuestos fenólicos y una función carboxílica. Los ácidos fenólicos que tienen interés terapéutico son derivados del ácido benzoico o del ácido cinámico (cafeíco, ferúlico, *p*-cumárico).

Se observa que el extracto colorante de aliso común(Alnus arguta), posee rutina, independiente del solvente utilizado, mientras que el extracto colorante de chaperno posee ácido cafeico, las demás pruebas son negativas para todas las especies.

TABLA 6
Prueba de taninos para extractos colorantes

ESPECIE	SOLVENTE	GELATINA GEL 1%	GELATINA SAL	CLORURO FÉRRICO	TIPO DE TANINO
ALISO	AGUA	+	+	+	Pirogalol
	ETANOL 35%	+	+	+	Pirogalol
	ETANOL 70%	+	+	+	Pirogalol
QUEBRACHO	AGUA	+	+	+	Catecol
	ETANOL 35%	+	+	+	Catecol
	ETANOL 70%	+	+	+	Catecol
CHAPERNO	AGUA	+	+	+	Pirogalol
	ETANOL 35%	+	+	+	Pirogalol
	ETANOL 70%	+	+	+	Pirogalol

Los taninos son compuestos polifenólicos, derivados de la ruta de los sikimatos, mas o menos complejos, de origen vegetal, masa molecular relativamente elevada, sabor astringente, conocidos y empleados desde hace muchos siglos por su propiedad de ser capaces de convertir la piel en cuero, es decir de curtir las pieles. Esto se debe a su capacidad para unirse a macromoléculas como hidratos de carbono y proteínas. Precipitan con sales de metales pesados, proteínas y alcaloides.

Se trata de compuestos hidrosolubles, dando a veces disoluciones coloidales en agua, solubles también en alcohol y en acetona e insolubles en disolventes orgánicos apolares.

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

Las 3 pruebas para determinar presencia de taninos en los extractos colorantes de quebracho fueron positivas, independiente del solvente utilizado, estableciéndose según las pruebas que el tipo de tanino en este extracto es catecol y para el extracto colorante de chaperno las pruebas fueron positivas independiente del solvente utilizado, estableciéndose que el tipo de taninos es pirogalol.

TABLA 7
Porcentaje de tanino en el extracto colorante Quebracho

ESPECIE	SOLVENTE	MUESTRA	TANINO (%)
QUEBRACHO	AGUA	1	4.58
		2	4.79
		3	4.59
	ETANOL 35%	1	6.76
		2	7.10
		3	6.97
	ETANOL 70%	1	9.44
		2	9.71
		3	9.32

TABLA 8
Determinación de cumarinas y antocianinas en los extractos colorantes

ESPECIE	SOLVENTE	CUMARINAS	ANTOCIANINAS
ALISO	AGUA	-	-
	ETANOL 35%	-	-
	ETANOL 70%	-	-
QUEBRACHO	AGUA	-	-
	ETANOL 35%	-	-
	ETANOL 70%	-	-
CHAPERNO	AGUA	-	-
	ETANOL 35%	-	-
	ETANOL 70%	-	-

Las pruebas para determinación de cumarinas y antocianinas resultó negativa para los tres extractos, independiente del solvente utilizado.

TABLA 9

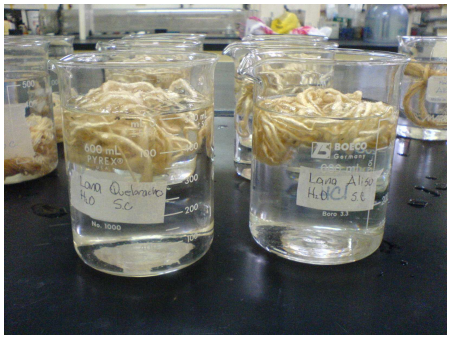
Pruebas de solidez a fibras naturales de lana, maguey y algodón, teñidas con colorantes extraídos de la corteza de aliso, quebracho y chaperno.

SOLIDEZ	ALGODÓN									LANA									MAGUEY								
	ALISO			QUEBRACHO			CHAPERNO			ALISO			QUEBRACHO			CHAPERNO			ALISO			QUEBRACHO			CHAPERNO		
	AGUA	ET1	ET2	AGUA	ET1	ET2	AGUA	ET1	ET2	AGUA	ET1	ET2	AGUA	ET1	ET2	AGUA	ET1	ET2	AGUA	ET1	ET2	AGUA	ET1	ET2	AGUA	ET1	ET2
AL LAVADO																											
TEST 1 /40ºC	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	5	3	5	5	5	4	4	4	3	3	3	4	4	4	4	4	4
TEST 2 /60ºC	3	3	1	4	4	4	4	4	4	5	3	5	4	4	4	5	5	5	3	3	3	3	3	3	3	3	3
TEST 3 /95ºC	3	1	1	3	3	3	5	5	5	5	5	5	3	3	3	5	5	5	3	3	3	3	3	3	3	3	1
AL HIPOCLORITO ENERGICO	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
AL CLORO	3	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	2	4	2	4	4	4	4	4	4
A LA SUBLIMACION																											
T=150ºC	3	3	3	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
T=180ºC	5	5	5	4	5	5	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
T=210ºC	5	5	5	3	3	3	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
A LA LUZ	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

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 y se pondera el efecto de acuerdo a la siguiente escala: 1 = Escasa, 3 = Regular, 5 = Buena, 7 = Muy Buena, 8 = Excelente
En las fibras de maguey y algodón teñidas con colorantes de aliso, quebracho o chaperno, se observó un oscurecimiento fuerte de las mismas, por lo que se les asigna un valor de 3 (resistencia regular a la degradación del color). Se realizó la prueba a muestras testigo, que son fibra de maguey y algodón sin teñir y se observó también un oscurecimiento fuerte de la mismas, 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, quebracho o chaperno, se observó solo un ligero oscurecimiento por lo que se le asigna un valor de 5 (resistencia 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.
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 no resisten la solidez al lavado a temperatura de 40oC, utilizando extracto colorante de aliso y sí resisten solidez al lavado a 60oC y 95 oC. Al utilizar extracto colorante de quebracho, la fibra si resiste a temperatura de 40oC, asignándole un valor máximo de 5 y va disminuyendo conforme aumenta la temperatura. Cuando se utiliza el extracto colorante de chaperno, la solidez menor es para temperatura de 40oC y se va incrementando conforme aumenta la temperatura. La fibra teñida de maguey es la que menos resiste a la prueba de lavado y la menor resistencia se manifiesta con el extracto colorante de aliso a las tres diferentes temperaturas. Con extracto colorante de quebracho y chaperno tiene una ligera resistencia a temperatura de 40oC y disminuye a mayor temperatura. Se observa que en esta fibra se incrementa el color al ser sometida a calentamiento por 30minutos, de igual manera se observa para el algodón con los diferentes extractos colorantes. Con el único extracto colorante que se presenta solidez firme al lavado para la fibra de algodón es con chaperno a temperatura de 95oC.

El tercer ensayo es el de la solidez al hipoclorito enérgico, para el cual se observó que las fibras tienen escasa solidez, asignándoles un valor de 1. Se observa que al someter las fibras de lana, maguey y algodón a esta prueba, se observa una drástica decoloración.

Figura 3. Solidez al hipoclorito enérgico



Las fibras de lana, maguey algodón teñidas con los extractos colorantes de corteza de aliso, quebracho y chaperno fueron tratadas por 60 minutos a 20^{o}C con una solución de hipoclorito de sodio conteniendo 2.0 g/L de cloro activo, observándose decoloración total en la fibra de maguey por lo que se le asigna un valor de solidez de 1(resistencia escasa 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 4(Muy buena resistencia del colorante sobre la fibra a la acción del cloro), para los tres colorantes y tres fibras, con algunas excepciones.

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 los tres extractos colorantes y las dos fibras de lana y maguey, pero la fibra de algodón se obscureció drásticamente a temperatura de 210oC, se observó deterioro de la fibra teñida, por lo que le asigna un valor de solidez de 3 con extracto colorante de quebracho(regular resistencia de la fibra teñida a la acción del calor).

IX CONCLUSIONES

1. sí hay diferencia significativa en el rendimiento del extracto colorante en función de la especie y en función del solvente utilizado.

2. Cada uno de los solventes tiene diferente poder extractivo en función de la especie y existe diferencia significativa entre la interacción entre especies y solventes. En cuanto al solvente, con el etanol se produce un mayor rendimiento que con el agua.

3. Sí hay diferencia significativa en los valores obtenidos para índices de refracción para los diferentes solventes utilizados, pero no hay diferencia significativa entre especies.

4. Utilizando como solvente alcohol etílico al 70% se obtienen los valores mas altos , de índice de refracción, se obtienen valores intermedios con alcohol etílico al 35% y los valores mas bajos se obtienen con agua.

5. Para los valores de densidad obtenidos se tiene que sí hay diferencia significativa entre especies y entre solventes,

6. En el extracto colorante de la corteza de aliso común(Alnus arguta) están presentes los Flavonoides denominados Flavonas y Flavonoles, en el extracto colorante de la corteza de chaperno están presentes los ácidos fenólicos, independiente del tipo de solvente utilizado y en el extracto colorante de la corteza de quebracho no fue identificado con esta prueba ningún grupo fenol.

7 .El extracto colorante de aliso común(Alnus arguta), posee rutina, independiente del solvente utilizado, mientras que el extracto colorante de chaperno posee ácido cafeico,

8. El extracto colorante de la corteza de aliso común(Alnus arguta) están presentes los Flavonoides denominados Flavonas y Flavonoles, mientras que en el extracto colorante de la corteza de chaperno están presentes los ácidos fenólicos,

9. El tipo de tanino en el extracto colorante de quebracho es catecol y para los extractos colorantes de chaperno y quebracho es pirogalol..

X. RECOMENDACIONES

1. Aplicar las fibras teñidas de algodón, lana y maguey, en la manufactura de artesanías, ropa de cama, alfombras, etc.

2. Realizar pruebas fisicomecánicas para determinar la resistencia de las fibras teñidas.

3. Realizar pruebas sensoriales a las fibras teñidas para determinar la aceptación en el mercado.

4. Continuar la tecnificación del proceso de tinción.

XI. REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA

A. Referencias:

1 George T. Austin. **Manual de procesos químicos en la industria.** **(**Colombia: Editorial McGrawHill, 1997) pp. 573-578.

2 Olga Lock Sing. **Colorantes naturales**. (Perú: Fondo Editorial, Pontificia Universidad Católica de Perú, 1997)

3 Marco Antonio Donado Miranda. Extracción de carotenoides de la caléndula (calendula officinalis L.) para su utilización como colorante natural en productos para consumo humano. Tesis Ingeniero Químico. Facultad de Ingeniería. USAC. Guatemala, 2000.

4 Armando Cáceres. **Plantas de uso medicinal en Guatemala**. (Guatemala: Editorial Universitaria, 1996) pp 305-307

5 Aceites esenciales y oleorresinas. Estudio de distintos productos y de mercados importantes. Financiado por el Gobierno de Dinamarca. CCI, UNCTAD/GATT. Ginebra, 1986

6 http://mail.udlap.mx/~tesis/meiq/perez_l_09/capitulo4.pdf, octubre de 2003

7 Manual del tintorero. Fundación Gabina J.M. (Guatemala. 1999)

8 Jorge Hernán Torres Romero. **Contribución al Conocimiento de las Plantas tánicas registradas en Colombia**. (Bogotá: Fondo Colombiano de Investigaciones Científicas y Proyectos Especiales. Instituto de Ciencias Naturales. Museo de Historia Natural Universidad Nacional de Colombia, 1983)

9 Fritz Ullman. **Enciclopedia de química industrial** (Versión del alemán bajo dirección del Doctor Jose Estalella. Gustavo Gil, Editor; Barcelona: 1985) Tomos V pp 808-815, XII pp 457-476, XIII pp 693-703.

10 Claudia Lorena Barillas Aragón. Determinación de la concentración y rendimiento de 7-metoxicumarina y aceite esencial, en cinco estados de desarrollo del pericón (*Tagetes lucida Cav*) en la Alameda, Chimaltenango. Tesis Ing. Agrónoma. Facultad de Agronomía. USAC. Guatemala 1995.

11 José Vicente Martínez Arévalo. **Contribuciones al estudio del pericón *Tagetes lucida Cav*. en Guatemala**. Revista Tikalia. Facultad de Agronomía. Volumen xix. 2001

12 Jorge Alejandro Domínguez. **Métodos de investigación fitoquímica. (**México: Editorial Limusa, 1985)

13 Douglas Montgomery. **Diseño y análisis de experimentos**. (México: Grupo Editorial Iberoamericana, 1991)

14 Cromatografía de capa fina.www.ccf.com, 21 de septiembre de 2004

B. Bibliografía:

1. Aceites esenciales y oleorresinas. Estudio de distintos productos y de mercados importantes. Financiado por el Gobierno de Dinamarca. CCI, UNCTAD/GATT. Ginebra, 1986.

2. Austin, George T. **Manual de procesos químicos en la industria.** Colombia. Editorial McGrawHill. 1997. pp. 573-578.

3. Barillas Aragón, Claudia Lorena. Determinación de la concentración y rendimiento de 7-metoxicumarina y aceite esencial, en cinco estados de desarrollo del pericón (*Tagetes lucida Cav*) en la Alameda, Chimaltenango. Tesis Ing. Agronoma. Facultad de Agronomía. USAC. Guatemala 1995.

4. Cáceres, Armando. **Plantas de uso medicinal en Guatemala**. Guatemala: Editorial Universitaria, 1996, pp 305-307

5. Domínguez, Jorge Alejandro. **Métodos de investigación fitoquímica.** México. Editorial Limusa, 1985

6. Donado Miranda, Marco Antonio. Extracción de carotenoides de la caléndula (calendula officinalis L.) para su utilización como colorante natural en productos para consumo humano. Tesis Ingeniero Químico. Facultad de Ingeniería. USAC. Guatemala, 2000.

7. Gibaja Oviedo, Segundo. Pigmentos naturales quinónicos. Fondo Editorial UNMSM, 1988.

8. Lock Sing, Olga. **Colorantes naturales**. Perú: Fondo Editorial, Pontificia Universidad Católica de Perú, 1997

9. Manual del tintorero. Fundación Gabina J.M.Guatemala. 1999

10. Marmion, Daniel M. **Handbook of U:S: colorants foods, drugs, and cosmetic**. Second Edition. (USA: John Whiley & Sons, 1984)

11. Martínez Arévalo, José Vicente. Contribuciones al estudio del pericón *Tagetes lucida Cav*. En Guatemala. Revista Tikalia. Facultad de Agronomía. Volumen xix. 2001

12. Montgomery, Douglas. **Diseño y análisis de experimentos**. México. Grupo Editorial Iberoamericana. 1991

13. Rodríguez Hernández, Claudia María. Autenticación Citohistológica de cuatro plantas medicinales nativas. Tesis Químico Farmacéutico. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC. Guatemala 2000.

14. Torres Romero, Jorge Hernán. **Contribución al Conocimiento de las Plantas tánicas registradas en Colombia**. Instituto de Ciencias Naturales. Museo de Historia Natural Universidad Nacional de Colombia. Fondo Colombiano de Investigaciones Científicas y Proyectos Especiales. Bogota 1983.

15. Ullman, Fritz Dr. **Enciclopedia de Química Industrial** (Versión del alemán bajo dirección del Doctor Jose Estalella. Gustavo Gil, Editor). Barcelona 1985. Tomos V pp 808-815, XII pp 457-476, XIII pp 693-703.

16. http://www.fundaciónpobreza.cl/publicaciones/archivadores/Silvo agropecuario/capítulo_iv_9.html, mayo de 2003

17. http://www.mifarmacia.es/contenido/artículos/artículo_hiperico.htm pp 1-2, mayo de 2003

18. http://orbita.starmecia.com/~plantamed/h sanjuan.htm pp. 2-3, mayo de 2003

19. http://www.medestética.com/cientifica/Bancoartículos/1999/03Hiperico.htm, mayo de 2003

20. http://mail.udlap.mx/~tesis/meiq/perez_l_09/capitulo4.pdf, octubre de 2003

21. Cromatografía de capa fina.www.ccf.com, 21 de septiembre de 2004

ANEXO

DATOS ORIGINALES

TABLA 10
Rendimiento porcentual de extractos tánicos colorantes, tamaño de partícula (mesh) 50.

ESPECIE	SOLVENTE	MUESTRA	RENDIMIENTO (%)
ALISO	AGUA	1	14.27
		2	13.30
		3	7.90
	ETANOL 35%	1	27.50
		2	25.40
		3	24.83
	ETANOL 70%	1	19.33
		2	21.83
		3	20.40
QUEBRACHO	AGUA	1	9.77
		2	7.96
		3	7.92
	ETANOL 35%	1	16.71
		2	17.04
		3	17.26
	ETANOL 70%	1	19.15
		2	19.07
		3	19.89
CHAPERNO	AGUA	1	21.77
		2	10.21
		3	10.64
	ETANOL 35%	1	13.22
		2	14.41
		3	15.00
	ETANOL 70%	1	17.81
		2	13.65
		3	12.97

TABLA 11
Densidad de los extractos colorantes a 20°C

ESPECIE	SOLVENTE	MUESTRA	DENSIDAD (g/cc)
ALISO	AGUA	1	0.9800
		2	0.9790
		3	0.9800
	ETANOL 35%	1	0.9460
		2	0.9470
		3	0.9460
	ETANOL 70%	1	0.8740
		2	0.8720
		3	0.8690
QUEBRACHO	AGUA	1	1.0466
		2	1.0505
		3	1.0473
	ETANOL 35%	1	0.9977
		2	1.0043
		3	1.0046
	ETANOL 70%	1	0.9190
		2	0.9209
		3	0.9224
CHAPERNO	AGUA	1	0.9727
		2	0.9789
		3	0.9857
	ETANOL 35%	1	0.9491
		2	0.9526
		3	0.9661
	ETANOL 70%	1	0.8742
		2	0.8694
		3	0.8676

TABLA 12
Índice de refracción de los extractos colorantes

ESPECIE	SOLVENTE	MUESTRA	INDICE DE REFRACCIÓN
ALISO	AGUA	1	1.3340
		2	1.3345
		3	1.3350
	ETANOL 35%	1	1.3520
		2	1.3535
		3	1.3540
	ETANOL 70%	1	1.3660
		2	1.3665
		3	1.3660
QUEBRACHO	AGUA	1	1.3340
		2	1.3340
		3	1.3340
	ETANOL 35%	1	1.3527
		2	1.3530
		3	1.3530
	ETANOL 70%	1	1.3635
		2	1.3650
		3	1.3660
CHAPERNO	AGUA	1	1.3410
		2	1.3355
		3	1.3355
	ETANOL 35%	1	1.3528
		2	1.3548
		3	1.3533
	ETANOL 70%	1	1.3665
		2	1.3673
		3	1.3643

ANALISIS ESTADÍSTICO

Univariate Analysis of Variance

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Rendi

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Especie	209.900	2	104.950	137.667	.000
Solvente	309.536	2	154.768	203.015	.000
Especie * Solvente	82.416	4	20.604	27.027	.000
Error	11.435	15	.762		
Corrected Total	667.775	23			

Post Hoc Tests

Especie

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Rendi
Tukey HSD

(I) Especie	(J) Especie	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
ALISO	CHAPERNO	7.1556	.46018	.000	5.9603	8.3509
	QUEBRACH	4.9944	.41160	.000	3.9253	6.0636
CHAPERNO	ALISO	-7.1556	.46018	.000	-8.3509	-5.9603
	QUEBRACH	-2.1611	.46018	.001	-3.3564	-.9658
QUEBRACH	ALISO	-4.9944	.41160	.000	-6.0636	-3.9253
	CHAPERNO	2.1611	.46018	.001	.9658	3.3564

Homogeneous Subsets

Rendi

Tukey HSD

Especie	N	Subset 1	2	3
CHAPERNO	6	12.8133		
QUEBRACH	9		14.9744	
ALISO	9			19.9689
Sig.		1.000	1.000	1.000

Solvente

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Rendi
Tukey HSD

(I) Solvente	(J) Solvente	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound
AGUA	ETA35	-8.9025	.43656	.000	-10.0365	-7.7685
	ETA70	-7.4200	.43656	.000	-8.5540	-6.2860
ETA35	AGUA	8.9025	.43656	.000	7.7685	10.0365
	ETA70	1.4825	.43656	.010	.3485	2.6165
ETA70	AGUA	7.4200	.43656	.000	6.2860	8.5540
	ETA35	-1.4825	.43656	.010	-2.6165	-.3485

Homogeneous Subsets

Rendi

Tukey HSD

Solvente	N	Subset 1	2	3
AGUA	8	10.8663		
ETA70	8		18.2863	
ETA35	8			19.7688
Sig.		1.000	1.000	1.000

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
Especie	ALISO	9
	CHAPERNO	6
	QUEBRACH	9
Solvente	AGUA	8
	ETA35	8
	ETA70	8

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Densidad

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.076	8	.009	811.168	.000
Intercept	21.028	1	21.028	1805094.422	.000
Especie	.018	2	.009	763.779	.000
Solvente	.055	2	.028	2371.095	.000
Especie * Solvente	.001	4	.000	11.126	.000
Error	.000	15	1.16E-005		
Total	21.977	24			
Corrected Total	.076	23			

Post Hoc Tests

Especie

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Densidad
Tukey HSD

(I) Especie	(J) Especie	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upp
ALISO	CHAPERNO	-.004161	.0017989	.085	-.008834	.000511
	QUEBRACH	-.057811	.0016089	.000	-.061990	-.053632
CHAPERNO	ALISO	.004161	.0017989	.085	-.000511	.008834
	QUEBRACH	-.053650	.0017989	.000	-.058322	-.048978
QUEBRACH	ALISO	.057811	.0016089	.000	.053632	.061990
	CHAPERNO	.053650	.0017989	.000	.048978	.058322

Homogeneous Subsets

Densidad

Tukey HSD

Especie	N	Subset 1	Subset 2
ALISO	9	.932556	
CHAPERNO	6	.936717	
QUEBRACH	9		.990367
Sig.		.073	1.000

Solvente

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Densidad
Tukey HSD

(I) Solvente	(J) Solvente	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper
AGUA	ETA35	.035463	.0017065	.000	.031030	.039895
	ETA70	.116713	.0017065	.000	.112280	.121145
ETA35	AGUA	-.035463	.0017065	.000	-.039895	-.031030
	ETA70	.081250	.0017065	.000	.076817	.085683
ETA70	AGUA	-.116713	.0017065	.000	-.121145	-.112280
	ETA35	-.081250	.0017065	.000	-.085683	-.076817

Homogeneous Subsets

Densidad

Tukey HSD

Solvente	N	Subset 1	Subset 2	Subset 3
ETA70	8	.889288		
ETA35	8		.970538	
AGUA	8			1.006000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
Especie	ALISO	9
	CHAPERNO	6
	QUEBRACH	9
Solvente	AGUA	8
	ETA35	8
	ETA70	8

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Refracc

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.004	8	.000	627.332	.000
Intercept	42.254	1	42.254	54240929.460	.000
Especie	5.50E-006	2	2.75E-006	3.529	.055
Solvente	.004	2	.002	2403.555	.000
Especie * Solvente	1.68E-006	4	4.20E-007	.539	.710
Error	1.17E-005	15	7.79E-007		
Total	43.818	24			
Corrected Total	.004	23			

Post Hoc Tests

Especie

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Refracc
Tukey HSD

(I) Especie	(J) Especie	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upp
ALISO	CHAPERNO	-.0005	.00047	.536	-.0017	.0007
	QUEBRACH	.0007	.00042	.244	-.0004	.0018
CHAPERNO	ALISO	.0005	.00047	.536	-.0007	.0017
	QUEBRACH	.0012	.00047	.051	.0000	.0024
QUEBRACH	ALISO	-.0007	.00042	.244	-.0018	.0004
	CHAPERNO	-.0012	.00047	.051	-.0024	.0000

Homogeneous Subsets

Refracc

Tukey HSD

Especie	N	Subset 1	Subset 2
QUEBRACH	9	1.3506	
ALISO	9	1.3513	1.3513
CHAPERNO	6		1.3518
Sig.		.294	.514

Solvente

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Refracc
Tukey HSD

(I) Solvente	(J) Solvente	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper
AGUA	ETA35	-.0187	.00044	.000	-.0199	-.0176
	ETA70	-.0310	.00044	.000	-.0322	-.0299
ETA35	AGUA	.0187	.00044	.000	.0176	.0199
	ETA70	-.0123	.00044	.000	-.0134	-.0111
ETA70	AGUA	.0310	.00044	.000	.0299	.0322
	ETA35	.0123	.00044	.000	.0111	.0134

Homogeneous Subsets

Refracc

Tukey HSD

Solvente	N	Subset 1	Subset 2	Subset 3
AGUA	8	1.3346		
ETA35	8		1.3533	
ETA70	8			1.3656
Sig.		1.000	1.000	1.000

Explore

```
>Warning # 704 in column 37.  Text: Especie
>This procedure cannot use string variables longer than 8 characters.  Only
```

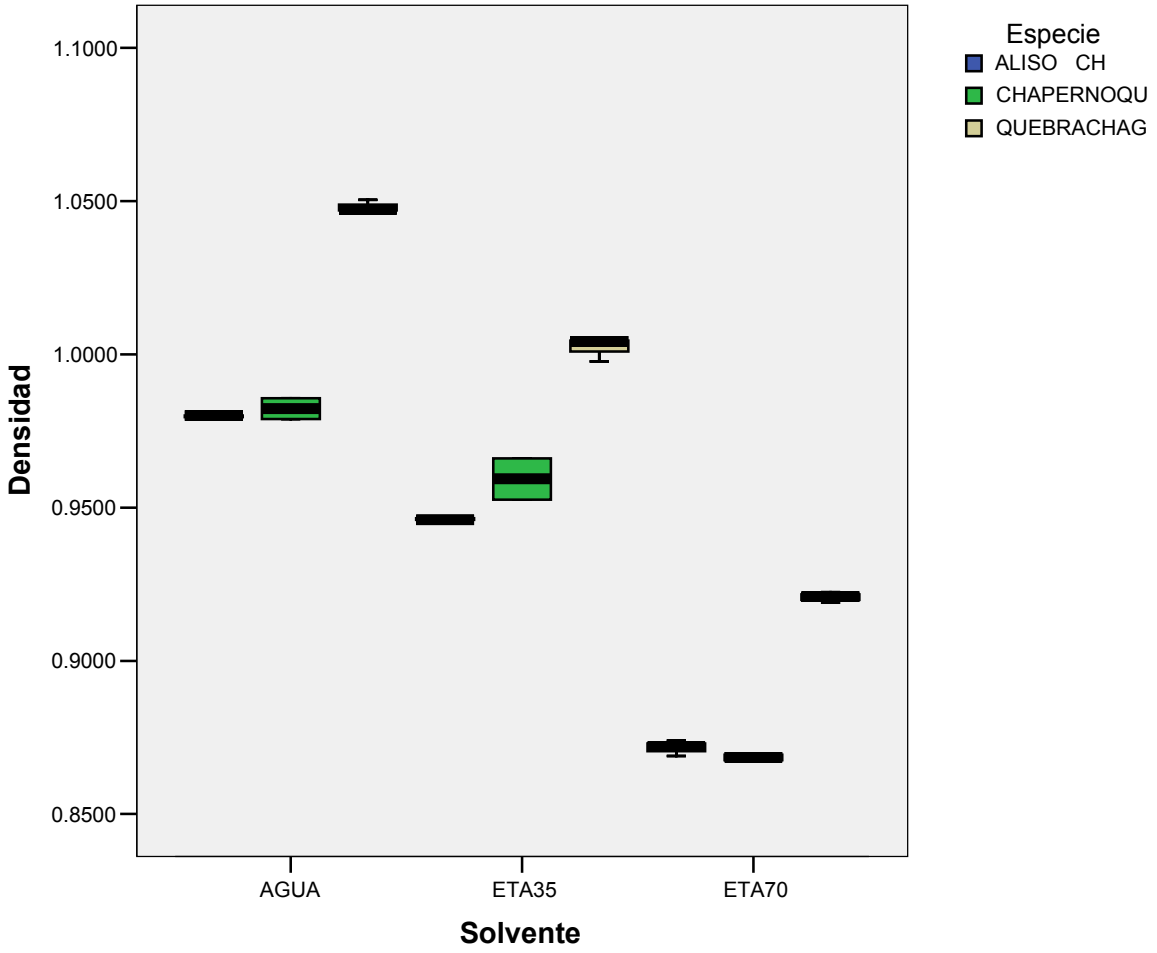
```
>the first 8 will be used.
```

Solvente*Especie

Case Processing Summary

			Solvente	Especie	Cases		
Densidad	AGUA	ALISO	3	100.0%	0	.0%	3
		CHAPERNO	2	100.0%	0	.0%	2
		QUEBRACH	3	100.0%	0	.0%	3
	ETA35	ALISO	3	100.0%	0	.0%	3
		CHAPERNO	2	100.0%	0	.0%	2
		QUEBRACH	3	100.0%	0	.0%	3
	ETA70	ALISO	3	100.0%	0	.0%	3
		CHAPERNO	2	100.0%	0	.0%	2
		QUEBRACH	3	100.0%	0	.0%	3

Densidad



Explore

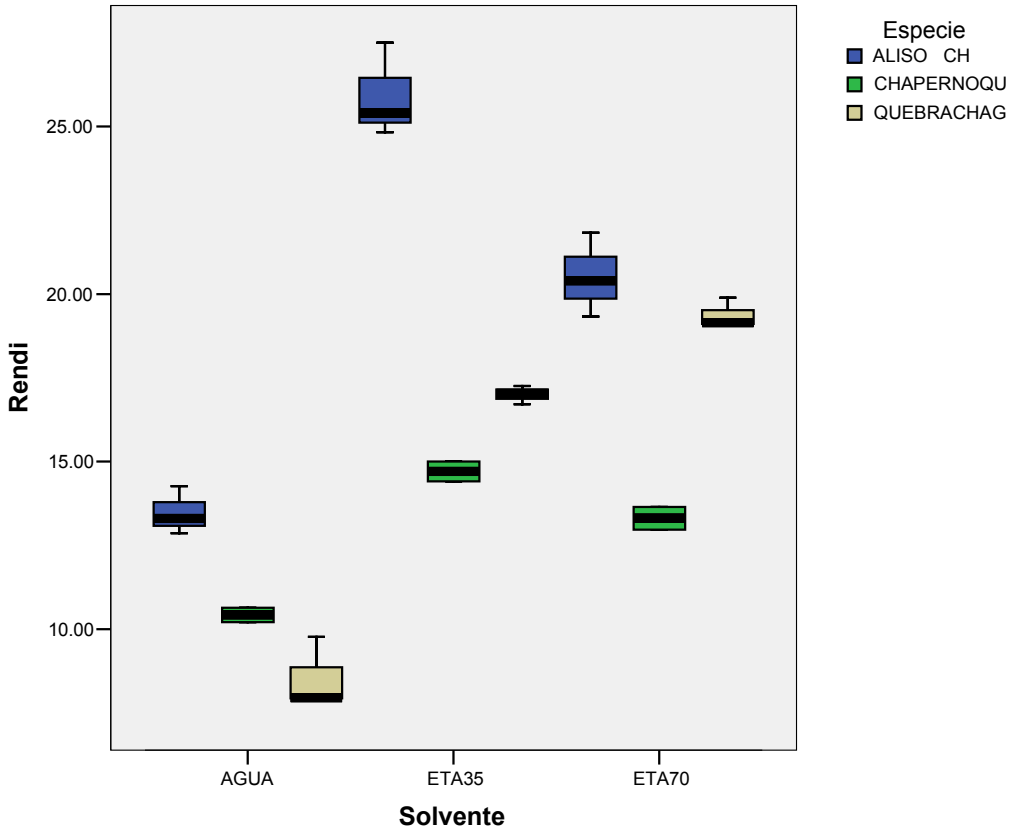
```
>Warning # 704 in column 34.  Text: Especie
>This procedure cannot use string variables longer than 8 characters.  Only
>the first 8 will be used.
```

Solvente*Especie

Case Processing Summary

			Solvente	Especie		Cases		
Rendi	AGUA	ALISO	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
		CHAPERNO	2	100.0%	0	.0%	2	100.0%
		QUEBRACH	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	ETA35	ALISO	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
		CHAPERNO	2	100.0%	0	.0%	2	100.0%
		QUEBRACH	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	ETA70	ALISO	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
		CHAPERNO	2	100.0%	0	.0%	2	100.0%
		QUEBRACH	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%

Rendi



Explore

Warnings

Refracc is constant when Solvente = AGUA , Especie = CHAPERNO. It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.

Refracc is constant when Solvente = AGUA , Especie = QUEBRACH. It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.

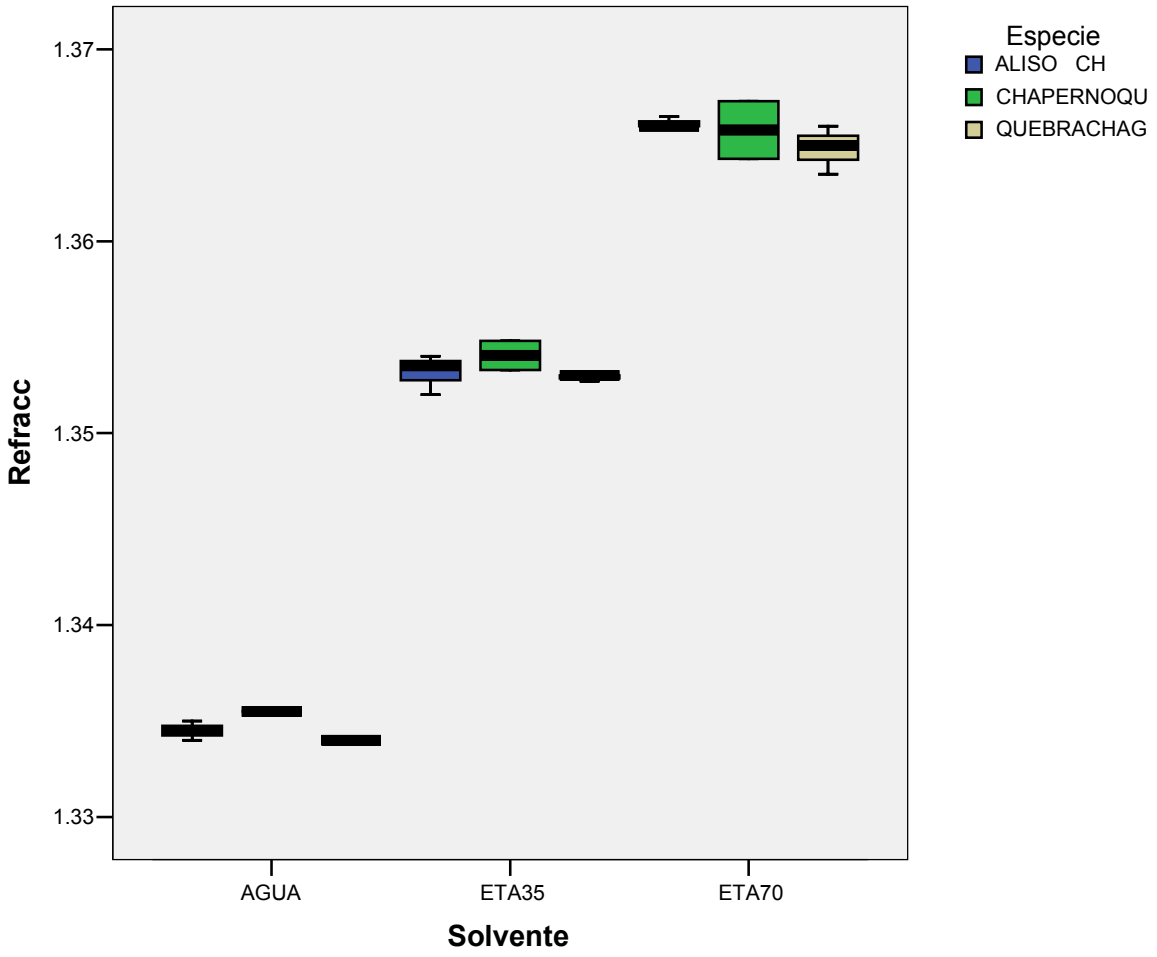
```
>Warning # 704 in column 36.  Text: Especie
>This procedure cannot use string variables longer than 8 characters.  Only
>the first 8 will be used.
```

Solvente*Especie

Case Processing Summary

			Solvente	Especie			Cases	
Refracc	AGUA	ALISO	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
		CHAPERNO	2	100.0%	0	.0%	2	100.0%
		QUEBRACH	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	ETA35	ALISO	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
		CHAPERNO	2	100.0%	0	.0%	2	100.0%
		QUEBRACH	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	ETA70	ALISO	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
		CHAPERNO	2	100.0%	0	.0%	2	100.0%
		QUEBRACH	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%

Refracc


Especie
ALISO CH
CHAPERNOQU
QUEBRACHAG
Refracc
1.37
1.36
1.35
1.34
1.33
AGUA
ETA35
ETA70
Solvente