

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**“EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DE PIGMENTOS
NATURALES OBTENIDOS A PARTIR DE FLORES DE
ÑACHAG (*Bidens humilis.*), Y FLORES DE MARIGOL (*Tagetes
erecta*) PARA LA TINTURACIÓN DE FIBRAS TEXTILES**

Previa a la obtención de Grado Académico o Título de:

INGENIERO AGROPECUARIO

ELABORADO POR:

ANGEL MAURICIO ROSALES GALLARDO

**SANGOLQUÍ – ECUADOR
2012**

EXTRACTO

El mundo entero se encuentra en un proceso de cambio y concientización debido a los problemas climáticos que el planeta está sufriendo causados por la contaminación. Los colorantes sintéticos son altamente contaminantes y debido a sus bajos costos son ampliamente utilizados en la industria textil. La presente investigación extrajo y evaluó los pigmentos de las flores de Ñachag (*Bidens humilis*) y los pigmentos de las flores de Marigol (*Tagetes erecta*) como alternativa ecológica al uso de colorantes sintéticos. El pigmento natural presente en las flores de Ñachag es la 2,2,4 trihidroxichalcona, el cual es un flavonoides, y el pigmento natural presente en las flores de Marigol es el Beta-caroteno. Los factores evaluados fueron solventes (agua, alcohol al 35% y 70%), presentación de las flores (frescas y deshidratadas), textil (lana, algodón). Se midió la densidad, la concentración y el rendimiento de los pigmentos extraídos a partir de las flores y después de evaluar todos los tratamientos se seleccionó los tres mejores, para luego ser utilizados en la tinturación de los textiles. Se obtuvo una densidad promedio de 0.924 g/ml, una concentración promedio de 8.059 mg/L y un rendimiento de 0.509 g. Los colorantes obtenidos a partir de flores de Ñachag deshidratadas con los tres solventes consiguieron los mejores resultados y fueron seleccionados para ser utilizados en la etapa de tinturación. Después de la tinturación, las muestras fueron sometidas a pruebas de solidez del color al lavado y manchado y solidez del color a la luz artificial. Las muestras de lana presentaron los mejores resultados en las pruebas realizadas.

Palabras Clave: Colorantes, Ñachag, Marigol, Concentración, Densidad, Rendimiento, Lana, Algodón

ABSTRACT

The whole world is in a process of change and awareness due to climatic problems the world is suffering caused by pollution. Synthetic dyes are highly polluting and because of its low costs are widely used in the textile industry. This research extracted and evaluated pigments Ñachag flowers (*Bidens humilis*) and pigments Marigol flowers (*Tagetes erecta*) as a green alternative to the use of synthetic dyes. The natural pigment present in the flowers of Ñachag is trihidroxichalcona 2,2,4, which is a flavonoid, and the natural pigment present in the flowers of Marigol is the Beta-carotene. The factors evaluated were solvents (water, alcohol 35% and 70%), presentation of flowers (fresh and dried), textiles (wool, cotton). We measured the density, concentration and performance of the pigments extracted from flowers and after evaluating all treatments was selected the top three, only to be used in tinturación textiles. We obtained an average density of 0.924 g / ml, an average concentration of 8,059 mg / L and a yield of 0.509 g. The dyes obtained from flowers of Ñachag dehydrated with three solvents achieved the best results were selected for use in tinturación stage. After tinturación, samples were tested for color fastness to washing and staining and color fastness to artificial light. Wool samples showed the best results in tests.

Keywords: Dyes, Ñachag, Marigol, Concentration, Density, Power, Wool, Cotton

**“EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DE PIGMENTOS NATURALES
OBTENIDOS A PARTIR DE FLORES DE ÑACHAG (*Bidens humilis.*), Y
FLORES DE MARIGOL (*Tagetes erecta*) PARA LA TINTURACIÓN DE
FIBRAS TEXTILES**

ANGEL MAURICIO ROSALES GALLARDO

REVISADO Y APROBADO

Ing. Patricia X. Falconí S.

DIRECTORA DE LA CARRERA DE INGENIERIA EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS

Ing. Martha Vargas

DIRECTORA

Ing. Nelson Jaramillo

CODIRECTOR

Abg. Carlos Orozco B. MSc.

SECRETARIO ACADÉMICO

**“EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DE PIGMENTOS NATURALES
OBTENIDOS A PARTIR DE FLORES DE ÑACHAG (*Bidens humilis.*), Y
FLORES DE MARIGOL (*Tagetes erecta*) PARA LA TINTURACIÓN DE
FIBRAS TEXTILES**

ANGEL MAURICIO ROSALES GALLARDO

APROBADO POR LOS SEÑORES MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE
CALIFICACION DEL INFORME TECNICO.

	CALIFICACIÓN	FECHA
Ing. Martha Vargas DIRECTORA	_____	_____
Ing. Nelson Jaramilo CODIRECTOR	_____	_____

CERTIFICO QUE ESTAS CALIFICACIONES FUERON PRESENTADAS EN
ESTA SECRETARIA.

SECRETARIA ACADEMICA

CERTIFICACIÓN

Ing. Martha Vargas.

Ing. Nelson Jaramillo.

Certifican:

Que el trabajo titulado, **“Extracción y evaluación de pigmentos naturales obtenidos a partir de flores de Ñachag (*Bidens humilis.*), y flores de Marigol (*Tagetes erecta*) para la tinturación de fibras textiles**, realizado por Angel Mauricio Rosales Gallardo, ha sido guiado y revisado periódicamente y cumple normas estatutarias establecidas por la ESPE, en el Reglamento de Estudiantes de la Escuela Politécnica del Ejército.

Debido al contenido científico – técnico expuesto en el presente trabajo recomendamos su publicación.

El mencionado trabajo consta de un documento empastado y un disco compactos los cuales contienen los archivos en formato portátil de Acrobat(pdf). Autorizan a Angel Mauricio Rosales Gallardo que lo entregue la Ing. Patricia Falconí S., en su calidad de Coordinador de la Carrera.

Sangolquí, Marzo de 2012.

Ing. Martha Vargas**DIRECTOR**

Ing. Nelson Jaramillo**CODIRECTOR**

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

ANGEL MAURICIO ROSALES GALLARDO

Declaro que:

El proyecto de grado denominado “EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DE PIGMENTOS NATURALES OBTENIDOS A PARTIR DE FLORES DE ÑACHAG (*Bidens humilis.*), Y FLORES DE MARIGOL (*Tagetes erecta*) PARA LA TINTURACIÓN DE FIBRAS TEXTILES”, ha sido desarrollado con base a una investigación exhaustiva, respetando derechos intelectuales de terceros, conforme las citas que constan al pie de las páginas correspondientes, cuyas fuentes se incorporan en la bibliografía. Consecuentemente este trabajo es de mi autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance científico del proyecto de grado en mención.

Sangolquí, Marzo de 2012.

Angel Mauricio Rosales Gallardo

AUTORIZACIÓN

Yo, Angel Mauricio Rosales Gallardo

Autorizo a la Escuela Politécnica del Ejército la publicación, en la biblioteca virtual de la Institución del trabajo “EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DE PIGMENTOS NATURALES OBTENIDOS A PARTIR DE FLORES DE ÑACHAG (*Bidens humilis.*), Y FLORES DE MARIGOL (*Tagetes erecta*) PARA LA TINTURACIÓN DE FIBRAS TEXTILES”, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Sangolquí, Marzo de 2012.

Angel Mauricio Rosales Gallardo

*A los seres que más amo en mi vida, mis padres y mis
hermanos*

Mauricio Rosales G.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer primeramente a Dios por permitirme terminar este proyecto y por darme la felicidad de convertirme en Ing. Agropecuario. También quiero agradecer infinitamente a mis Padres Angel Rosales y Elizabeth Gallardo por haberme apoyado incondicionalmente en todos los sentidos y por brindarme su amor y consejos. A mis hermanos Vanessa y Carlos por ser mis apoyos y cómplices y a Esthercita por también brindarme su cariño

Agradezco a la Escuela Politécnica del Ejército ESPE, por haberme formado como profesional y persona y por haberme permitido vivir momentos inolvidables de mi vida

Agradezco a mis directores de tesis, la Ing. Martha Vargas y el Ing. Nelson Jaramillo, por compartirme sus valiosos conocimientos, así como también por su colaboración, paciencia y dedicación en la ejecución de este proyecto.

Agradezco de manera especial a la Dr. Elena Mafla y al Lic. Marco Taco por su ayuda fundamental en esta investigación.

Agradezco a mis amigos por su compañía, apoyo y por brindarme su amistad sincera e incondicional

HOJA DE LEGALIZACIÓN DE FIRMAS

ELABORADO POR

Angel Mauricio Rosales Gallardo

**DIRECTOR DE LA CARRERA DE INGENIERIA EN
CIENCIAS AGROPECUARIAS**

Ing. Patricia X. Falconí S.

DELEGADO DE LA UNIDAD DE ADMISION Y REGISTRO

Ab. Carlos Orozco Bravo, MSc.

Sangolquí, Marzo de 2012.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS.....	XV
ÍNDICE DE CUADROS.....	XVI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XVII
I. INTRODUCCIÓN.....	2
1.1 OBJETIVOS.....	4
1.1.1. General.....	4
1.1.2. Específicos.....	4
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1. COLORANTES.....	5
2.1.1. <u>Concepto</u>	5
2.1.2. <u>Generalidades</u>	6
2.2. COLORANTES NATURALES.....	8
2.3. PIGMENTOS FLAVONOIDES.....	8
2.3.1. <u>Pigmentos naturales flavonoides</u>	8
2.3.2. <u>Estructura de los flavonoides</u>	10
2.3.2.1. <u>Estructura básica de los flavonoides</u>	11
2.3.3. <u>Propiedades de los flavonoides</u>	12
2.3.4. <u>Ruta de biosíntesis de flavonoides en las plantas</u>	13
2.3.5. <u>Flavonoides menores</u>	14
2.3.6. <u>Extracción y técnicas de identificación de flavonoides</u>	15
2.3.6.1. <u>Extracción con metanol y cromatografía</u>	16
2.3.6.2. <u>Extracción con etanol y separación con borax</u>	16
2.3.6.3. <u>Extracción y separación con sales de plomo</u>	17

2.3.6.4.	<u>Extracción con etanol</u>	18
2.3.6.5.	<u>Reacciones y pruebas de identificación de flavonoides</u>	19
2.4.	PIGMENTOS CAROTENOIDES	20
2.4.1.	<u>Propiedades espectrales de los carotenoides</u>	21
2.4.2.	<u>Comportamiento, extracción e identificación de carotenoides</u>	22
2.4.2.1.	<u>Aislamiento de Carotenoides</u>	23
2.4.2.2.	<u>Identificación de carotenoides</u>	24
2.5.	DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	26
2.5.1.	<u>Descripción botánica de Ñachag (<i>Bidens humilis</i>)</u>	26
2.5.1.1.	<u>Clasificación taxonómica de Ñachag (<i>Bidens humilis</i>)</u>	27
2.5.2.	<u>Descripción taxonomica de Marigol (<i>Tagetes erecta</i>)</u>	27
2.5.2.1.	<u>Clasificación taxonómica de Marigol (<i>Tagetes erecta</i>)</u>	28
2.6.	FIBRAS TEXTILES NATURALES	28
2.6.1.	<u>Fibras de origen vegetal</u>	28
2.6.2.	<u>Fibras de origen animal</u>	30
2.7.	ESPECTROFOTOMETRÍA	31
2.7.1.	<u>Ley de Lambert-Beer</u>	33
2.8.	TINTURACIÓN CON COLORANTES VEGETALES	34
2.8.1.	<u>Colorantes de origen vegetal</u>	34
2.9.	MORDIENTES	35
2.10.	EXTRACCIÓN DE COLORANTES	36
3.	Materiales y metodos	37
3.1.	UBICACIÓN DEL LUGAR DE INVESTIGACIÓN	37
3.1.1.	<u>Ubicación Política</u>	37
3.1.2.	<u>Ubicación Geográfica</u>	37
3.1.3.	<u>Ubicación Ecológica</u>	37
3.2.	MATERIALES	38

3.2.1.	<u>Materia prima</u>	38
3.2.2.	<u>Reactivos</u>	38
3.2.3.	<u>Equipo básico</u>	38
3.3.	MÉTODOS	39
3.3.1.	<u>Obtención de la Muestra</u>	39
3.3.2.	<u>Método de extracción del tinte natural a nivel laboratorio</u>	40
3.3.3.	<u>Distribución de tratamientos</u>	41
3.3.4.	<u>Determinación de la densidad</u>	43
3.3.5.	<u>Determinación del rendimiento</u>	44
3.3.6.	<u>Determinación de la concentración</u>	45
3.3.7.	<u>Método para la tinturación de lana y algodón</u>	49
3.3.8.	<u>Evaluación de las fibras tinturadas</u>	54
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
4.1.	DENSIDAD.....	55
4.2.	CONCENTRACIÓN	58
4.3.	RENDIMIENTO	62
4.4.	FIBRAS TEÑIDAS	66
4.5.	EVALUACION DE FIBRAS TEÑIDAS	69
4.5.1.	<u>Pruebas de solidez del color al lavado y al manchado</u>	69
4.5.2.	<u>Pruebas de solidez del color a la luz artificial</u>	71
5.	CONCLUSIONES.....	73
6.	RECOMENDACIONES	75
7.	BIBLIOGRAFÍA	76

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Color absorbido o transmitido en la región visible del espectro electromagnético	7
Tabla 2: Propiedades de los pigmentos flavonoides	12
Tabla 3: Propiedades espectrales de los pigmentos flavonoides	14
Tabla 4: Diferentes tipos de reacciones para identificación de flavonoides.....	19
Tabla 5: Espectro visible de los carotenoides	21
Tabla 6: Longitudes de onda de máxima absorción de algunas provitaminas A en varios solventes (nm).....	25
Tabla 7.- Distribución de tratamientos para la extracción de tinte.....	42
Tabla 8: Curva de calibración para el calculo de la concentración de beta-caroteno	48
Tabla 9: Distribución de tratamientos para la tinturación	50
Tabla 10 : Concentraciones de la solución tintórea antes y después del baño para lana y algodón para 10g de tela	52
Tabla 11: Porcentaje de agotamiento de las soluciones restantes del baño a diferentes concentraciones iniciales para 10 g de tela	52
Tabla 12: Numeración de tratamientos para evaluación de fibras.....	69

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Análisis de varianza de la variable de densidad de los colorantes extraídos a partir de flores de Ñachag y flores de Marigol	55
Cuadro 2: Efecto de los colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por grupos en la variable de densidad.....	56
Cuadro 3: Efecto de los colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por tratamientos en la variable de densidad.....	57
Cuadro 4: Análisis de varianza de la variable de concentración de los colorantes extraídos a partir de flores de Ñachag y flores de Marigol.....	59
Cuadro 5: Efecto de los colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por grupos en la variable de concentración	60
Cuadro 6: Efecto de los colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por tratamientos en la variable de concentración	61
Cuadro 7: Análisis de varianza de la variable de rendimiento de los colorantes extraídos a partir de flores de Ñachag y flores de Marigol.....	63
Cuadro 8: Efecto de los colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por grupos en la variable de rendimiento.....	64
Cuadro 9: Efecto de los colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por tratamientos en la variable de rendimiento.....	65
Cuadro 10: Resultados de la prueba de solidez del color al lavado y manchado	70
Cuadro 11 : Resultados de la prueba de solidez del color a la luz artificial	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura base de los flavonoides.....	9
Figura 2: Esqueleto de los isoflavonoides y neoflavonoides.....	10
Figura 3: Estructura molecular de la flavona	11
Figura 4: Estructura química de beta caroteno	20
Figura 5: Cadena celobiósica de fibras celulósicas	30
Figura 6: Cadena proteica de fibra animal	31
Figura 7: Espectro del colorante obtenido a partir de Marigol deshidratado con alcohol al 35%.....	47
Figura 8: Gráfico de Agotamiento para algodón.....	53
Figura 9: Gráfico de Agotamiento para lana.....	53
Figura 10: Densidad de colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por grupos.....	56
Figura 11: Densidad de colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por tratamientos	58
Figura 12: Concentración de colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por grupos.....	60
Figura 13: Concentración de colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por tratamientos	62
Figura 14.- Rendimiento de colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por grupos	64
Figura 15: Rendimientos de colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por tratamientos .	66
Figura 16: Muestras de algodón y lana tinturadas con colorantes natural obtenido a partir de flores de Ñachag deshidratadas con alcohol al 35% (T5)	67
Figura 17: Muestras de algodón y lana tinturadas con colorante natural obtenido a partir de flores de Ñachag deshidratadas con alcohol al 70% (T6)	67
Figura 18: Muestras de algodón y lana tinturadas con colorante natural obtenido a partir de flores de Ñachag deshidratadas con agua (T4).....	68

I. INTRODUCCIÓN

El mundo entero se encuentra en un proceso de cambio y concientización debido a los problemas climáticos que el planeta está sufriendo causados por la contaminación del agua del aire y del suelo.

No hay duda de que la ecología o protección del medio ambiente está cambiando muchos patrones de comportamiento incluyendo las corrientes de la moda, y así se habla de la “ecología en el vestir”, o de los “ecotextiles”. En esta moda ecológica se contempla entre otros requisitos, la tinturación con colorantes naturales, como lo hicieron nuestros antepasados (Lock, 1997)

La industria textil utiliza colorantes sintéticos muy tóxicos que destruyen la naturaleza. En Ecuador la gran mayoría de industrias textiles no maneja adecuadamente estos químicos y por tal razón contribuyen a dañar el medio ambiente

En general, las moléculas de los colorantes sintético utilizados en la actualidad son de estructuras muy variadas y complejas. La mayoría de ellos son de origen inorgánico, muy solubles en agua, altamente resistentes a la acción de agentes químicos y poco biodegradables. (Mansilla *et al.* 2001)

El grado de concentración de contaminantes industriales en aguas de cuatro de las principales ciudades del país (Quito, Guayaquil, Ambato y Esmeraldas), el deterioro de la calidad de los recursos hídricos es alarmante, sobre todo por la presencia de metales pesados y otras sustancias fenólicas (Da Ros 1995)

Seguramente en los próximos años habrá una reducción considerable del uso de los colorantes sintéticos, debido a que algunos de ellos presentan efectos nocivos para la salud, en su reemplazo, aparece un notable interés por el uso de los colorantes naturales, que hasta ahora no requieren certificación alguna para su empleo y que se pueden obtener a partir de muchas plantas, bien sea de las hojas, de los frutos o de los tallos y raíces (Cano *et al.* 2008)

Es así que en este proyecto se presentan opciones de colorantes naturales a partir de flores de Ñachag (*Bidens humilis*) y flores de Marigold (*Tagetes erecta*), los cuales presentan un alto potencial como alternativa agrícola para los agricultores, especialmente para aquellas pequeñas comunidades que viven de la venta de artesanías, ya que se puede dar un valor agregado a éstas especies silvestres, especialmente al Ñachag, y obtener productos de alta calidad

De la Torre *et al.* (2008), sostiene que con las flores de Ñachag tiñen de amarillo hilos y telas de algodón sin necesidad de mordiente. Los pétalos contienen un colorante llamado luteína que es un oxicaroteno. Afirma también, que el Marigold contiene un pigmento amarillo que es un carotenoide epóxido

1.1 OBJETIVOS

1.1.1. General

Aplicación de pigmentos naturales extraídos a partir de Flores de Ñachag (*Bidens humilis*) y Flores de Marigol (*Tagetes erecta*) como alternativa colorante en fibras textiles

1.1.2. Específicos

- Extraer a nivel laboratorio, el tinte natural de las flores de Ñachag (*Bidens humilis*) y de las flores de Marigol (*Tagetes erecta*), utilizando 3 solventes (agua y alcohol etílico al 35% y al 70%).
- Determinar la concentración de grupos componentes de pigmentos colorantes obtenidos a nivel de laboratorio presentes en los tintes mediante espectrofotometría
- Establecer el rendimiento de colorante de cada una de las especies a nivel de laboratorio
- Aplicar los tintes naturales extraídos, a fibras de lana y algodón

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. COLORANTES

2.1.1. Concepto

Los colorantes son todas aquellas sustancias capaces de teñir las fibras tanto de origen vegetal como de origen animal. Los colorantes pueden ser obtenidos a partir de vegetales, animales y minerales. Para que un colorante sea útil, debe ser capaz de unirse fuertemente a la fibra, y por lavado no debe perder su color. Debe ser estable químicamente y soportar bien la acción de la luz.

Los colorantes se dividen en varios grupos, a saber: colorantes naturales, tintes naturales y pigmentos naturales. Los colorantes naturales son productos que se adicionan a los alimentos para proporcionarles un color específico y hacerlos más agradables a la vista. Los tintes naturales se usan para teñir telas, madera y cuero. Finalmente, los pigmentos naturales son los compuestos responsables del color visible de una planta; además son utilizados por la industria farmacéutica. (Cano *et al.* 2008)

Un pigmento o un tinte es un material que cambia el color de la luz que refleja debido a que selectivamente absorben ciertas ondas luminosas. La luz blanca es aproximadamente igual a una mezcla de todo el espectro visible de luz. Cuando esta luz se encuentra con un pigmento, algunas ondas son absorbidas por los enlaces químicos y sustituyentes del pigmento, mientras otras son reflejadas. Este nuevo

espectro de luz reflejado crea la apariencia del color. Por ejemplo, un pigmento azul marino refleja la luz azul, y absorbe los demás colores.

La apariencia de los pigmentos o tintes está íntimamente ligada a la luz que reciben. La luz solar tiene una temperatura de color alta y un espectro relativamente uniforme, y es considerada un estándar para la luz blanca. La luz artificial, por su parte, tiende a tener grandes variaciones en algunas partes de su espectro. Vistos bajo estas condiciones, los pigmentos o tintes lucen de diferentes colores.

Los tintes sirven para colorear materiales, como los tejidos, mientras que los pigmentos sirven para cubrir una superficie, como puede ser un cuadro. Desde las glaciaciones los humanos empleaban plantas y partes de animales para lograr tintes naturales con los que coloreaban sus tejidos. Luego los pintores han preparado sus propios pigmentos. Desde 1856 aparecieron tintes sintéticos (Pancho, 1989)

2.1.2. Generalidades

Los colorantes son sustancias que nos brindan una gama de colores que pueden usarse para producir un alto grado de coloración cuando se dispersan en otros materiales o se hacen reaccionar con ellos y que, cuando menos temporalmente, destruye la estructura cristalina de las sustancias (Torres, citado por Klinger 2002)

El tono y la permanencia de ciertos colorantes puede variar dependiendo del sustrato y de la facilidad con que el colorante pueda reflejar la energía absorbida hacia el medio circundante sin descomponerse (Klinger 2002)

Si un compuesto orgánico presenta color es por la refracción de luz de una o más frecuencias en la región visible de 380 nm (violeta) a 750 nm (rojo) de longitud de onda, del espectro luminoso

Una sustancia tendrá el color complementario del que absorbe, ya que este color se resta de la luz reflejada o transmitida. Por ejemplo, una sustancia que absorbe la luz azul tendrá un color anaranjado, otra que absorbe la luz amarilla tendrá un color violeta. Las sustancias que no absorben la luz visible son blancas. Mientras aquellas que absorben todas las longitudes de onda son negras. La brillantez en color se relaciona con la definición de la banda de absorción. Las bandas angostas con picos agudos producen brillantez mientras que las bandas anchas y difusas dan lugar a colores opacos

Tabla 1: Color absorbido o transmitido en la región visible del espectro electromagnético

TRANSMITIDO	ABSORCION	LONGITUD DE ONDA ABSORBIDA EN nm
Verde azulado	Rojo	650 – 700
Azul verdoso	Anaranjado	600 - 650
Azul	Amarrillo	570 – 600
Púrpura	Verde	490 – 570
Rojo	Azul verdoso	475 – 490
Amarillo	Azul	440 – 475
Verde Amrillento	Violeta	400 – 440

FUENTE: Badui (1993)

2.2. COLORANTES NATURALES

Los colorantes naturales son los que se obtienen de animales o de extractos vegetales. Son los colorantes más antiguos y en la actualidad han sido reemplazados por los sintéticos, debido al bajo costo de obtención de estos últimos

En este trabajo se estudiará dos grupos de colorantes naturales: los pigmentos flavonoides y los carotenoides

2.3. PIGMENTOS FLAVONOIDES

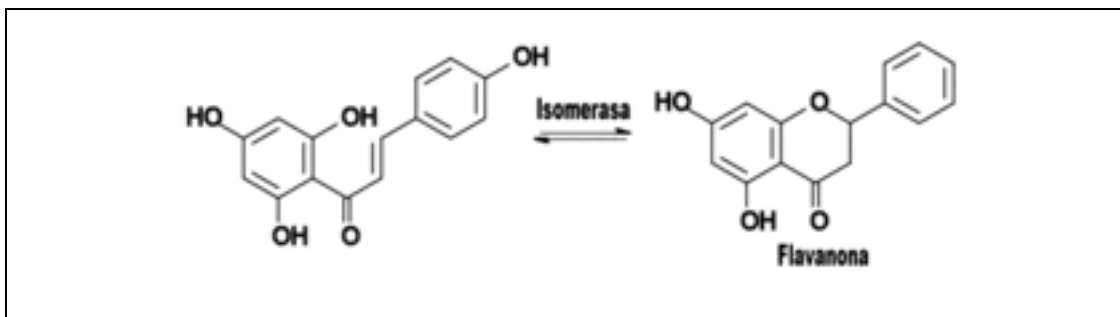
Son compuestos fenólicos que abundan en la naturaleza; dado que tienen una estructura química muy parecida a la de las antocianinas, normalmente se encuentran en diversos frutos junto con ellas ya que ambos grupos de pigmentos siguen un proceso biosintético común (Badui, 1993)

Son glucósidos formados por una aglucona, que en muchos casos deriva de la 2 fenilbenzopirona; entre las principales agluconas se encuentra el flavonol y la flavona (que dan origen a los flavonoles y a las flavonas), además de la isoflavona, la flavanona, el flavonol, las chalconas y los biflavonilos. Estos pigmentos son generalmente amarillos, y a pesar de que existe un número muy grande de ellos, no contribuyen de manera importante al color de los alimentos (Badui, 1993)

2.3.1. Pigmentos naturales flavonoides

Los flavonoides son pigmentos vegetales que poseen un esqueleto carbonado

C6-C3-C6, es uno de los grupos más numerosos y ampliamente distribuidos de constituyentes naturales, conocidos algunas veces como antoxantinas.



FUENTE: Cano et al. (2007)

Figura 1: Estructura base de los flavonoides

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. (Badui 1993)

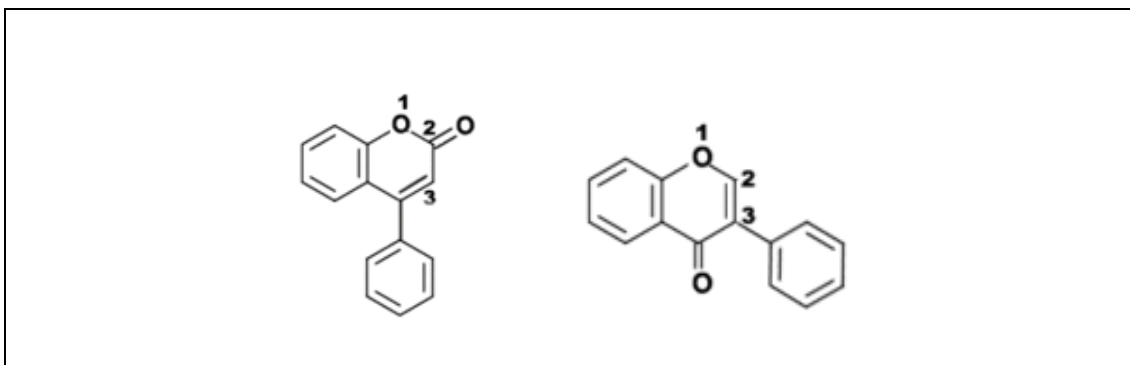
Los flavonoides en general se emplearon durante mucho tiempo como colorantes de lana, y actualmente se usan en la conservación de grasas o jugos de frutas debido a las propiedades antioxidantes de algunas polihidroflavonas. Entre otras

aplicaciones están la de los glucósidos de dihidrochalconas como edulcorantes, de la rotenona como insecticida, etc. (Cano *et al.* 2007)

Lock (1997) sostiene que 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.

2.3.2. Estructura de los flavonoides

Se conocen como diez clases de flavonoides, todos contienen quince átomos de carbono en su núcleo básico y están arreglados bajo un sistema C6-C3-C6, 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. (Cano *et al.* 2007)



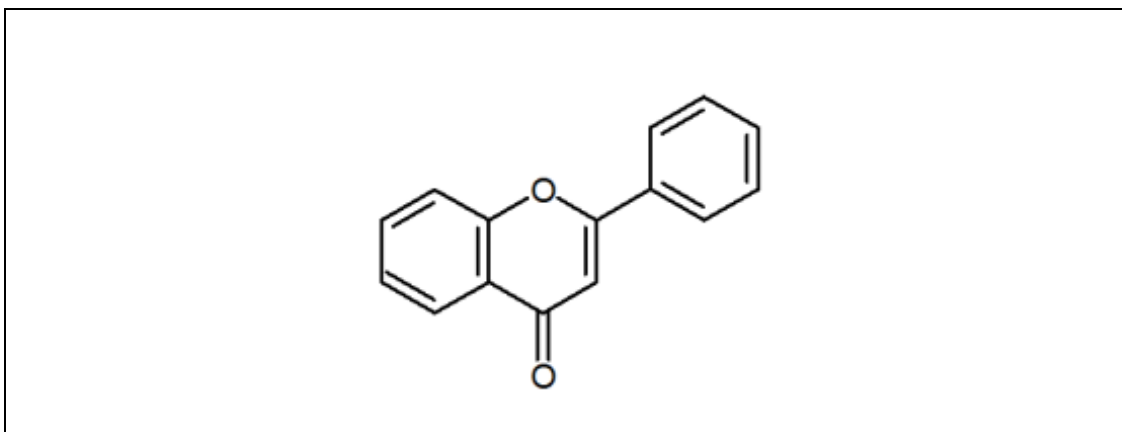
FUENTE: Cano *et al.* (2007)

Figura 2: Esqueleto de los isoflavonoides y neoflavonoides

2.3.2.1. 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. (Cano et al. 2007)



FUENTE: Cano et al. (2007)

Figura 3: Estructura molecular de la flavona

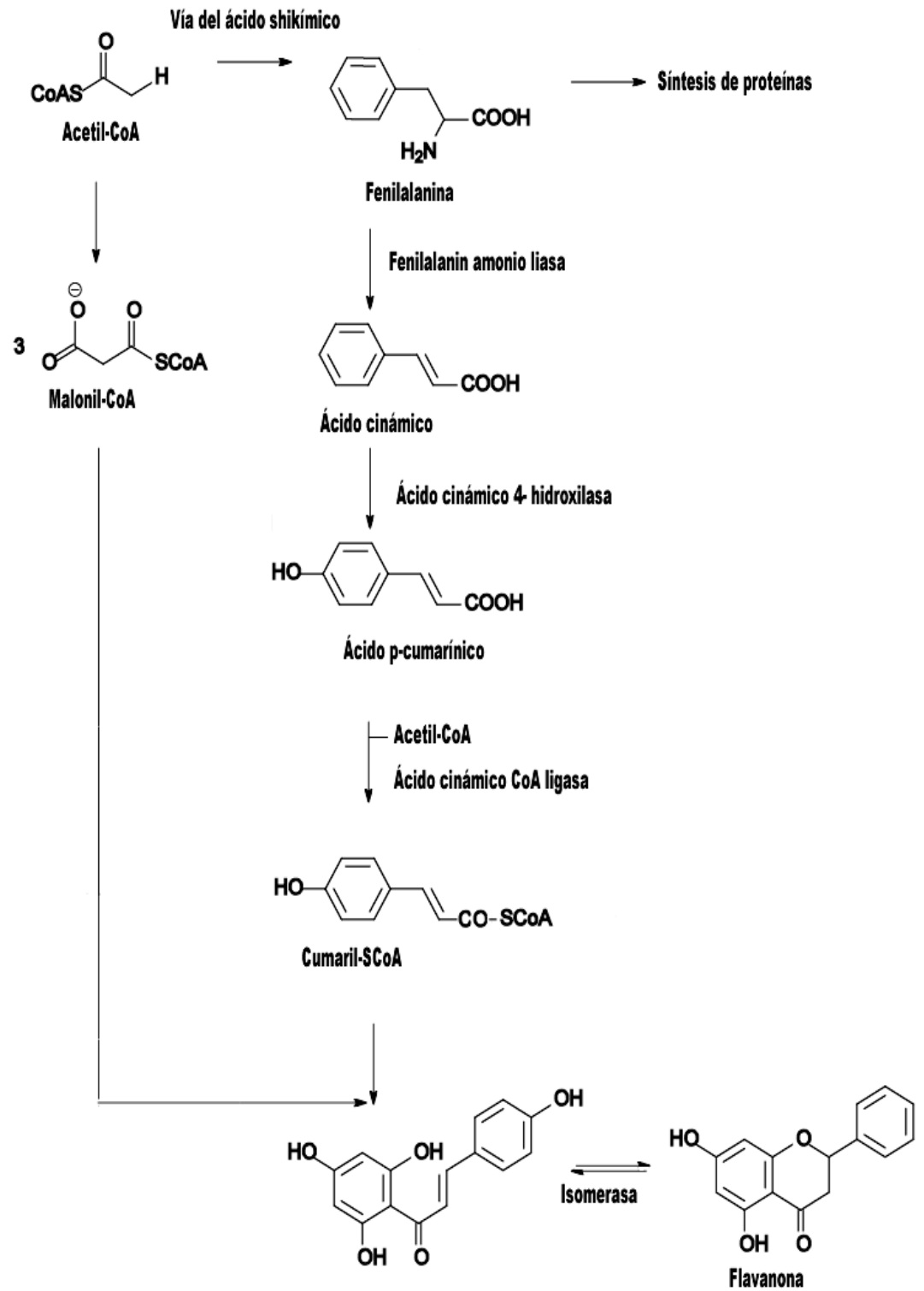
2.3.3. Propiedades de los flavonoides

Tabla 2: Propiedades de los pigmentos flavonoides

PIGMENTOS FLAVONOIDES	DISTRIBUCION	PROPIEDADES
FLAVONAS Y FLAVONOLES	Son incoloros, copigmentos de las flores cianicas y acianicas. Se encuentran en las hojas	Espectro máximo 350 a 386 nm, después del ácido hidrolizado. Espectro máximo 330 a 350 nm, contiene C-C enlaces de azucar
FLAVONOIDES MENORES Chalconas Auronas Biflavonil Flavanonas Isoflavonas	Son incoloros y coloros; casi completamente limitados a pigmentos de flores amarillas de plantas gimnospermas, ocasionalmente están presentes en otros tejidos Son incoloros presente en hojas y frutos especialmente en cítricos Son incoloras, presentes a menudo en raíces; solo son comunes en la familia de las leguminosas	Dan un color rojizo intenso con vapores de amoniaco. Los cambios de color pueden absorberse in situ. Visible máximo de 370 a 410 nm Da color rojo intenso con mg/HCl; ocasionalmente un sabor amargo No hay prueba específica sobre el color
ANTOCIANINAS	Se encuentran en la flores que poseen pigmentos rojos, mauve, azul y escarlata	Son solubles en el agua, máximo visible de 515 a 545 nm

FUENTE: Badui (1993)

2.3.4. Ruta de biosíntesis de flavonoides en las plantas



FUENTE: Badui (1993)

2.3.5. Flavonoides menores

Las charconas y auronas son fácilmente detectables, ya que son en general pigmentos amarillos que cuando se encuentran en los pétalos de las flores al ser sometidos directamente a los vapores alcalinos como el del amoniaco, incluso el humo del cigarrillo, su coloración cambia a rojo o anaranjado intenso. La principal charcona encontrada en plantas superiores es la Buteina. (Gaybor, 1994)

Tabla 3: Propiedades espectrales de los pigmentos flavonoides

Pigmentos flavonoides	Espectro máximo (nm)
Flavonas y biflavonidos	330 – 350
	250 – 270
Flavonoles	350 – 390
	250 – 270
Antocianinas	475 – 560
Flavonoides menores	
Auronas	390 – 430
Chalconas	365 – 390
Flavonas	275 – 290
Flavonoles	c.a. 225
Isoflavonas	255 – 265

FUENTE: Gaybor, 1994

2.3.6. Extracción y técnicas de identificación de flavonoides

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. (Cano *et al.* 2008)

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 (Cano *et al.* 2008)

2.3.6.1. 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 cromatográfica empacada con gel de sílice. El componente principal se eluye con acetato de etilo y se cristaliza en metanol- agua.

2.3.6.2. 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 °C, que se recupera al añadirle un ácido. Al destilar el éter queda kaemferol, p.f. 275 °C como residuo. (Cano *et al.* 2008)

2.3.6.3. 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 °C.

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 °C. (Cano *et al.* 2008)

2.3.6.4. 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 °C. (Cano *et al.* 2008)

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

2.3.6.5. Reacciones y pruebas de identificación de flavonoides

Tabla 4: Diferentes tipos de reacciones para identificación de flavonoides

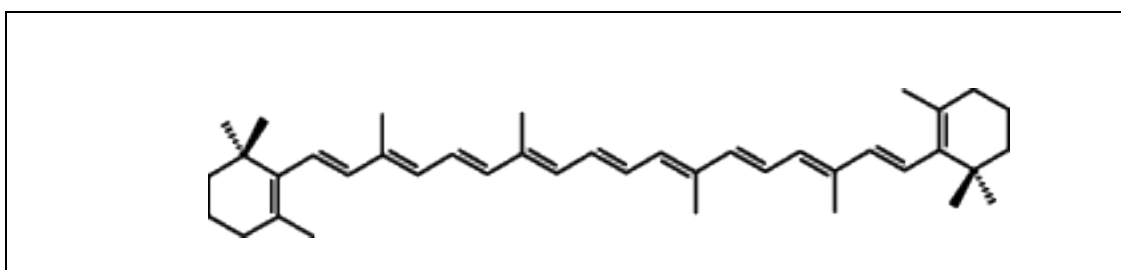
Nombre	Descripción
Reacción de Shinoda	Al extracto alcohólico incoloro o ligeramente amarillo se le coloca un pequeño trozo de magnesio y de 3 a 5 gotas de HCl concentrado el desarrollo inmediato de coloración es indicativo de la presencia de flavonas y flavonoles (amarillo a rojo), flavanonoles (rojo a magenta) flavanonas (rojo, magenta, violeta, azul), isoflavonas (amarillo), isoflavononas, chalconas y auronas no dan coloración.
Reacción con H ₂ SO ₄	Las flavonas y flavonoles dan coloraciones fuertemente amarillas, las flavanonas, anaranjadas o guindas; las chalconas y auronas, rojo guinda o rojo azulado.
Reacción con álcalis	Los extractos acuosos pueden mostrar variaciones de color con el agregado de un álcali, si hay presencia de flavonas, flavanonoles e isoflavonas se ponen amarillas; flavanonas y flavonoles cambian de amarillo a naranja; chalconas de naranja a rojizo
Prueba de Marini Bettolo	Con solución de SbCl ₅ en CCl ₄ , los flavonoides en general dan colores característicos o formación de precipitados; por ejemplo, las flavonas dan precipitados amarillo o anaranjado, y las chalconas, rojo oscuro o violeta.
Reactivo de Dimroth	Solución de H ₃ BO ₃ en Ac ₂ O, las 5- hidroxiflavonas dan soluciones anaranjadas o rojas
Reacción con solución acuosa o etanólica de FeCl ₃	Aunque hay coloración en presencia de cualquier compuesto fenólico, la aparición de un color verde sugiere la presencia de un derivado de catecol y de un color azul de un derivado de pirogalol

FUENTE: Cano *et al.* 2008

2.4. PIGMENTOS CAROTENOIDES

La estructura básica de la mayoría de estos compuestos es poliénica de 40 átomos de carbono, formada por ocho unidades de isopreno, cuyo arreglo se hace inverso en el centro, y pueden ser de cadena lineal o tener ciclizaciones en los extremos. El nombre genérico deriva de la zanahoria, ya que fue de esta hortaliza de donde se aislaron por primera vez (Badui 1993)

En la naturaleza se han identificado mas de 420, y a pesar de que generalmente su color varía de amarillo a anaranjado y rojo, una gran proporción de ellos se encuentra en las hojas verdes y solo hacen su aparición en el invierno siendo la clorofila, que es mucho más abundante, desaparece. Son responsables del color de plátanos, jitomates, chiles, papas, duraznos, zanahorias, trigo, maíz, soya, etc., al igual que de muchas flores y de algunas algas, bacterias fotosintéticas, hongos y levaduras , es decir, se encuentran básicamente en los tejidos que llevan a cabo la fotosíntesis. (Badui 1993)



FUENTE: Badui (1993)

Figura 4: Estructura química de beta caroteno

Los carotenoides se conocen también como lipocromos o cromolípidos, a causa de ser pigmentos solubles en las grasas. Dan color azul intenso con ácido sulfúrico concentrado y también con una solución clorofórmica de tricloruro de antimonio. Cuando se aísla un carotenoides de una planta superior, las posibilidades de que sea un beta caroteno son muy altas, porque es el más común de estos pigmentos; sin embargo en términos cuantitativos no es tan importante como ciertas xantofilas (Gaybor, 1994)

2.4.1. Propiedades espectrales de los carotenoides

Los espectros de los carotenoides son característicos entre 400 y 500 nm con un pico máximo de alrededor de los 450 nm y normalmente los picos menores en cualquiera de los dos lados (Gaybor, 1994)

Tabla 5: Espectro visible de los carotenoides

Pigmento	Espectro máximo (nm)	
	Éter de petróleo	Cloroformo
α -caroteno	422, 444, 473	---, 454, 485
β -caroteno	425+, 451, 482	---, 466, 497
τ -caroteno	437, 462, 494	447, 475, 508
ϵ -caroteno	419, 444, 475	418, 442, 471++
Licopeno	446, 472, 505	456, 485, 520

Xantófilas		
Luteina	420, 447, 477	428, 456, 487
Violaxantina	---, 443, 472	424, 452, 482
Zeaxantina	423, 451, 483	429, 462, 494
Neoxantina	415, 437, 466	421, 447, 477
Rubixantina	432, 462, 494	439, 474, 509
Fucoxantina	425, 450, 478	---, 457, 492
Crytoxantina	425, 451, 483	433, 463, 497

FUENTE: Gaybor, 1994

2.4.2. Comportamiento, extracción e identificación de carotenoides

El mayor problema en el trabajo con carotenoides radica en la inestabilidad inherente de estos pigmentos, porque son especialmente sensitivos a la luz, al calor, al oxígeno del aire, ácidos y en algunos casos (astaxantina, fucoxantina, etc) a álcalis. Estos agentes pueden provocar una transformación parcial cis-trans de ciertos dobles enlaces, lo que puede modificar el color o el valor nutritivo de las sustancias que los contienen. (Pancho, 1989)

La exposición a la luz, en especial a los rayos solares directos o a la luz ultravioleta, induce a la fotoisomerización cis-trans y podría ocasionar la destrucción de los carotenoides. Por esta razón, la termolabilidad de muchos carotenoides, sobre todo

xantofilas, el calor no debe ser usado para la manipulación de estos pigmentos. (Pancho, 1989)

2.4.2.1. Aislamiento de Carotenoides

Debido a que los carotenoides están ampliamente distribuidos en la naturaleza y se encuentran en varios tipos de tejidos, no se puede decir que un método de extracción podría ser universalmente aplicable y adoptado como una técnica standard. Los diversos métodos deben, por tanto, ser considerados como adaptables e incluso intercambiables de acuerdo a lo que las circunstancias demanden. (Pancho, 1989)

Los tejidos a analizarse tendrán que ser los más frescos posibles y no estar dañados. Al ser frescos van a contener un alto porcentaje de agua, y dado que los carotenoides son liposolubles, el solvente organico usado deberá ser miscible en agua, por ejemplo: acetona, metanol, etanol, isopropanol, etc. (Pancho, 1989)

Se suele realizar la extracción de los carotenoides con solventes lipidicos, como el hexano o el éter de petróleo, en frio y en ausencia de luz fuerte. Se han de lavar los solventes para eliminar trazas de peróxidos y así minimizar la posibilidad de cambios estructurales.

La identificación de los carotenoides se fundamenta en los valores de Rf, su situación en el cromatograma y datos de los espectros en el ultravioletas, visible o infrarrojo

2.4.2.2. Identificación de carotenoides

Una de las mas importantes características de un carotenoides es su espectro de absorción luminoso, como una función del cromóforo.

La forma del espectro de absorción es a su vez una función, primero , de la estructura del carotenoides y segundo del grado de pureza del mismo. La determinación del espectro de absorción visible, y en varios casos ultravioleta, en diferentes solventes, es por lo tanto uno de los procedimientos fundamentales en la identificación de carotenoides.

El espectro de absorción de los carotenos es determinado, usualmente, en éter de petróleo o hexano; mientras que las xantofilas suelen serlo en etanol. Otros solventes que pueden emplearse, para ambos tipos de carotenoides son acetona, cloroformo, benceno, disulfuro de carbono y menos comúnmente éter dietílico, metanol, piridina y tolueno . (Pancho, 1989)

La concentración ideal requerida de muestra para determinaciones exactas están en el orden de un miligramo. La exactitud y reproductibilidad en la región de 400 a 500 nm, de muchos registradores espectrofotométricos se encuentra entre +1-2 nm, por lo que no es de extrañar los escasos valores diferentes que aparecen en la literatura.

La posición de las máximas absorciones dependen normalmente del solvente usado (por ejemplo, valores bajos para éter y altos para disulfuro de carbono).

La posición de los picos, usualmente tres, de un carotenoides es función del número de dobles enlaces de la molécula, ya que un incremento en los mismos resulta en un incremento paralelo de las longitudes de onda máxima absorción.

Por otro lado, se debe mencionar que la existencia de agua afecta al espectro de absorción de los carotenoides en solventes miscibles en agua. En efecto, altas concentraciones de agua causan disminución en la extinción en la región visible que, frecuentemente, resulta en la aparición de picos en la región cercana al ultravioleta. La presencia del 30% de agua en etanol ocasiona una pérdida del 20% en el caso del Beta-caroteno. (Pancho, 1989).

Tabla 6: Longitudes de onda de máxima absorción de algunas provitaminas A en varios solventes (nm)

Componente	Eter de petróleo	Hexano	Disulfuro de Carb.	Benceno	Etanol	Cloroformo	Isooctano
α -caroteno	447	442	477	--	--	--	446
β -caroteno	451	450	485	--	452	466	451
χ -caroteno	462	--	496	477	--	477	--
Criptoxantina	452	452	483	--	452	463	--
Neo- β -caroteno	--	443	--	--	--	--	--
Neo- β -caroteno U	--	--	--	--	--	--	443

FUENTE: Pancho 1989

2.5. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

2.5.1. Descripción botánica de Ñachag (*Bidens humilis*)

Planta anual, comúnmente ramificada desde la base, con o sin pelos. Puede llegar a medir hasta de 1m de alto. El tallo es cuadrangular, ramificado, con pocos pelos o sin ellos. Las hojas son pecíolos de hasta 8 cm de largo; lámina de hasta 13.5 cm de largo y 11 cm de ancho, partida en 3 a 5 foliolos simples, ovados a lanceolados, agudos a acuminados en el ápice, toscamente aserrados, con pelos esparcidos en ambas caras. La inflorescencia tiene varias cabezuelas agrupadas en cimas corimbosas en las porciones terminales de las ramas. Las flores son en forma de cabezuela con involucre anchamente campanulado a subhemisférico, brácteas exteriores 7 a 10, lineares a linear espatuladas, de 3 a 5 cm de largo, verdes, ciliadas, las interiores 8 a 10, lanceoladas, de 3 a 5 mm de largo, café pero con los márgenes hialinos, sin pelos; receptáculo plano a convexo, páleas lineares; flores liguladas ausentes pero llegan a observarse en la periferia del disco de 1 a 5 pequeñas flores tubulosas fértiles de corola blanca; flores del disco 35 a 75 de corola amarilla, de 3 a 4 mm de largo, con pocos pelos o sin ellos en el tubo, anteras oscuras. Frutos y semillas son aquenios de 5 a 18 mm de largo, los interiores lineares y más largos, los exteriores mas o menos comprimidos dorso ventralmente y más cortos, negruzcos a café, vilano por lo común de 3 aristas amarillas, de 1 a 3 mm de largo. (Bernal 1991)

2.5.1.1. Clasificación taxonómica de Ñachag (*Bidens humilis*)

Reino	Plantae
Subreino	Traqueobionta
Subdivisión	Spermatophyta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Genero	<i>Bidens</i>
Especie	<i>Bidens humilis</i>

2.5.2. Descripción taxonomica de Marigol (*Tagetes erecta*)

Hierba anual, erecta, de 1m, más o menos, de altura, glabra y fragante; hokas opuestas, imparipinnadas, pecioladas, pinnas lanceoladas, aserradas, 3.2 cm de largo, glabras, lámica 6.5 cm de largo; inflorescencia terminal o axilar; cabezuelas amarillas, largamente pedunculadas, solitarias, pedúnculo 10.5cm de largo, involucro cilíndrico, 11mm de largo, brácteas glabras, agudas en el ápice, cabezuelas heterógamas, radiadas; flores del radio femeninas, corolas liguladas, lígulas amarillas, 8mm de largo, flores del disco hermafroditas, corolas tubulosas; aquenios lineales, negros. (Bernal 1991)

2.5.2.1. Clasificación taxonómica de Marigol (*Tagetes erecta*)

Reino	Plantae
Subreino	Traqueobionta
Superdivisión	Spermatophyta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Genero	Tagetes
Especie	<i>Tagetes erecta</i>

2.6. 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, tallos, hojas y frutos de 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.

2.6.1. Fibras de origen vegetal

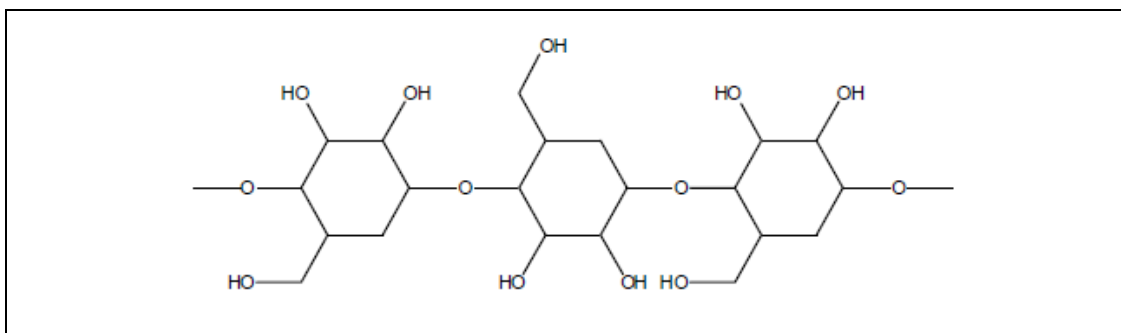
La celulosa es el alto polímero natural más extendido e importante y constituye

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 liber, estas últimas se subdividen en fibras de tallo como el lino y en fibras de hoja como el henequén o yute. (Cano *et al.* 2007)

El soporte de la constitución química de todas las fibras vegetales es la celulosa, la cual entra en proporciones más o menos grandes y adulterada con otros compuestos, dando lugar a una serie de fibras que se extienden desde su forma más simple en el algodón, hasta los compuestos de rayón viscosa, cupromoniacal, etc., pasando por las denominadas fibras bastas. Toda esta clase de fibras pueden quedar encuadradas en el mismo grupo en cuanto a su conducta tintórea se refiere, existiendo como es natural diferencias en su comportamiento, que no alteren en modo alguno la base general de la conducta tintórea del conjunto (Cegarra *et. al.* 1981)



FUENTE: Badui (1993)

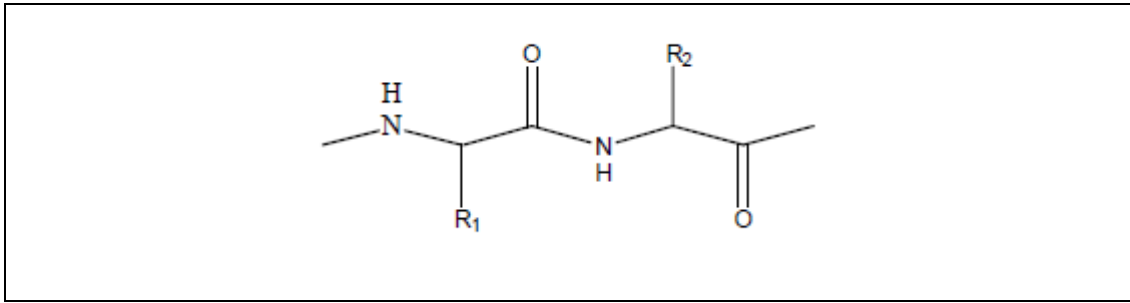
Figura 5: Cadena celobiósica de fibras celulósicas

2.6.2. 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. (Klinger 2002)

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 enrollada de unos mil metros de longitud. (Cano *et al.* 2007)



FUENTE: Badui (1993)

Figura 6: Cadena proteica de fibra animal

2.7. ESPECTROFOTOMETRÍA

La espectrofotometría es una técnica que mide la interacción de moléculas con la radiación electromagnética. La luz que se encuentra en la luz visible y la luz ultravioleta de los espectros electromagnéticos presenta una energía de 150- 400 $kJmol^{-1}$. La energía de la luz es usada para promover electrones de un estado de excitación a otro. Un espectro es obtenido cuando la absorción de luz es medida en función de una frecuencia o longitud. Moléculas con electrones deslocalizados en sistemas aromáticos a menudo absorben la luz a 150-400 nm (ultravioleta) o en la región visible de 400-800 nm .

La espectrofotometría de absorción es usualmente usada con moléculas disueltas en un solvente transparente. La absorbancia de un soluto depende linealmente de la concentración y por consiguiente la espectrofotometría de absorción es ideal para

hacer mediciones cuantitativas. La longitud de absorción y la fuerza de absorbancia de una molécula no sólo depende de la naturaleza química, si no del ambiente molecular en donde se encuentre el cromóforo. Un cromóforo es la parte o conjunto de átomos de una molécula responsable de su color. También se puede definir como una sustancia que tiene muchos electrones capaces de absorber energía o luz visible, y excitarse para así emitir diversos colores, dependiendo de las longitudes de onda de la energía emitida por el cambio de nivel energético de los electrones, de estado excitado a estado fundamental o basal.

Cuando una molécula absorbe ciertas longitudes de onda de luz visible y transmite o refleja otras, la molécula tiene un color. Un cromóforo es una región molecular donde la diferencia de energía entre dos orbitales atómicos cae dentro del rango del espectro visible. La luz visible que incide en el cromóforo puede también ser absorbida excitando un electrón a partir de su estado de reposo. En las moléculas biológicas útiles para capturar o detectar energía lumínica, el cromóforo es la semimolécula que causa un cambio en la conformación del conjunto al recibir luz

La espectrofotometría de absorción es por lo tanto una excelente técnica para seguir reacciones de unión a ligando, catálisis enzimáticas y transiciones. El espectrofotómetro nos permitirá medir la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción para antocianinas. Además nos permitirá saber la cantidad de flavonoides y carotenoides presentes en las muestras a analizar.

2.7.1. Ley de Lambert-Beer

Esta ley expresa la relación entre absorbancia de luz monocromática (de longitud de onda fija) y concentración de un cromóforo en solución:

$$A = \log I/I_0 = \epsilon \cdot c \cdot l$$

La absorbancia de una solución es directamente proporcional a su concentración, a mayor número de moléculas mayor interacción de la luz con ellas; también depende de la distancia que recorre la luz por la solución a igual concentración, cuanto mayor distancia recorre la luz por la muestra más moléculas se encontrará; y por último, depende de ϵ , una constante de proporcionalidad denominada coeficiente de extinción que es específica de cada cromóforo. Como A es adimensional, las dimensiones de ϵ dependen de las de c y l . La segunda magnitud (l) se expresa siempre en cm mientras que la primera (c) se hace, siempre que sea posible, en M, con lo que las dimensiones de ϵ resultan ser $M^{-1} \cdot cm^{-1}$. Este coeficiente así expresado, en términos de unidades de concentración molar (o un submúltiplo apropiado), se denomina coeficiente de extinción molar (ϵ_M). Cuando, por desconocerse el peso molecular del soluto, la concentración de la disolución se expresa en otras unidades distintas de M, por ejemplo $g \cdot L^{-1}$, las dimensiones de ϵ resultan ser distintas, por ejemplo $g^{-1} \cdot L \cdot cm^{-1}$, y al coeficiente así expresado se denomina coeficiente de extinción específico (ϵ_s). (Díaz, Bárcena . *et al.* 2007)

La ley de Lambert-Beer se cumple para soluciones diluidas; para valores de c altos, ϵ varía con la concentración, debido a fenómenos de dispersión de la luz, agregación de moléculas, cambios del medio, etc. (Díaz, Bárcena . *et al.* 2007)

2.8. TINTURACIÓN CON COLORANTES VEGETALES

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 fibra de algodón o lana, de tal manera, que la transforman en una sustancia no hidrolizante, que lo hace ser un colorante sustantivo, es decir no necesita mordiente o fijador, en cambio otras necesitan ayuda de fijador, para que el colorante se fije en la fibra. (Cano *et al.* 2007)

2.8.1. Colorantes de origen vegetal

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 tinturación son desechos de las plantas, por ejemplo, del aguacate se utiliza la pepita, del coco la cáscara. (Cano *et al.* 2007)

2.9. MORDIENTES

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

La función del mordiente es favorecer la fijación del colorante en las fibras. Este término es usado principalmente en la industria textil para designar a aquellas sales metálicas (de aluminio, hierro, plomo, etc.), ácidos (el ácido tánico, usado para fijar colores básicos), sustancias orgánicas (caseína, gluten, albúmina, etc.), que sirven para fijar los colores de estampados en los textiles

Algunas plantas como el nogal (tocte) y la lengua de vaca se llaman “mordientes vegetales”, puesto que contienen en si mismas una sustancia química que sirve como mordiente y se puede tinturar con estas plantas sin usar mordientes adicionales

Antiguamente se utilizaban estas “mordientes vegetales” para fijar el color pero obviamente el color de la planta mordientes influye mucho en el matiz de la tinturación, por lo cual convienen más las mordientes minerales (Pérez 1999)

El alumbre $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ es una sal mineral que se encuentra en cierto tipo de barro. En su forma limpia se presenta como cristales de color blanco. Es una

mordiente barata y normalmente fácil de conseguir. El alumbre es la mordiente más usada, puesto que no daña la lana y casi no influye en el color de la planta, así que es buena para obtener colores claros y vivos. El alumbre es una mordiente apta para todos los colores, pero sobre todo para colores amarillos. Se calculan 3 cucharadas por libra de lana (Pérez 1999)

2.10. EXTRACCIÓN DE COLORANTES

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 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. (Domínguez, 1985)

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. UBICACIÓN DEL LUGAR DE INVESTIGACIÓN

3.1.1. Ubicación Política

El estudio se llevó a cabo en el laboratorio de química de la Carrera de Ciencias Agropecuarias de la ESPE, localizadas en la Provincia de Pichincha, Cantón Rumiñahui, Parroquia San Fernando, dentro de la Hacienda “El Prado”.

3.1.2. Ubicación Geográfica

La hacienda “El Prado” se encuentra a una altitud de 2748 msnm, latitud de 0° 23' 28.29'' S y longitud de 78° 24' 48.72'' O (Estación meteorológica del IASA, 2009).

3.1.3. Ubicación Ecológica

La ubicación ecológica correspondiente a una zona de vida de bosque húmedo pre montano, con una temperatura que varía entre 20.06 °C a 8.08 °C, y un promedio de 16.35 °C. La precipitación es de 1200 mm/año (Estación meteorológica del IASA, 2009).

3.2. MATERIALES

3.2.1. Materia prima

- Flor de Ñachag (*Bidens humilis*)
- Flor de Marigol (*Tagetes erecta*)
- Lana de oveja
- Algodón

3.2.2. Reactivos

- Etanol a 35° y a 70°
- Agua
- Buffers
- Acido Cítrico
- Sulfato de aluminio (alumbre)

3.2.3. Equipo básico

- Espectrofotómetro
- Calentador agitador
- Refrigerador

- Pipetas
- Celdas de cuarzo de un centímetro
- Mortero
- Espátula
- Cuchillo
- Papel aluminio
- Agitador de vidrio
- Embudo
- Vasos de precipitación
- Elenmeyer
- Agua destilada
- Probetas
- Balanza analítica
- Papel filtro whatman No.1.
- Tubos de ensayos
- Calculadora
- Computadora
- Cámara fotográfica

3.3. MÉTODOS

3.3.1. Obtención de la Muestra

Las flores de la planta de Ñachag (*Bidens humilis*) fueron obtenidas de áreas cercanas a la facultad de forma aleatoria. Se recogió tan solo la cabezuela de las flores y se eliminó el pedúnculo y hojas. Inmediatamente después de la recolección

de las flores de Ñachag se procedió a llevarlas al laboratorio de Química para colocarlas en la estufa a una temperatura de 60 °C por 72 horas para eliminar así toda la humedad.

Para aquellos tratamientos en los cuales se utilizó flores frescas, las muestras fueron tomadas de la misma forma que se explicó anteriormente con la diferencia de que después de la recolección se procedió a trabajar de manera inmediata con este material.

Las flores de Marigol (*Tagetes erecta*) fueron obtenidas de plantas compradas en viveros. Al ser la flor de Marigol de diferente tipo que las flores de Ñachag, las partes que se utilizaron en este caso fueron los pétalos, ya que es en éstas estructuras donde se encuentran acumulados los pigmentos naturales. Es así que se eliminó las partes sobrantes de las flores y se procedió a realizar con los pétalos el mismo tratamiento que se le hizo a las flores de Ñachag, tanto para los tratamientos con flores frescas como para los tratamientos con flores deshidratadas.

3.3.2. Método de extracción del tinte natural a nivel laboratorio

El método utilizado para la extracción del tinte es un proceso adaptado de maceración con reflujo utilizado por Cano *et al.* (2008), en el cual se utilizó 2g de muestra (Flores de Ñachag o pétalos de Marigol) con 200 ml de solvente (Alcohol al 35% , alcohol al 70% y agua) dándonos así una relación 1:100 entre muestra y

solvente que es lo que recomienda Cano *et al.* (2008). Adicionalmente se añadió 0.6g de ácido cítrico a los tratamientos que contenían alcohol, obteniéndose así una solución alcohol-ácido cítrico al 0.3%. El uso del ácido cítrico es debido a que los flavonoides y especialmente los carotenoides son sensibles al pH y al ser el alcohol una solución con pH básico es necesario regular esto para que no altera la composición y estructura de los compuestos.

A continuación, se colocó la solución alcohol-ácido cítrico junto con el material vegetal en un vaso de precipitación de 350ml de capacidad y se llevó al calentador-agitador a una temperatura de 60°C con 150 rpm de agitación por una hora

Después de transcurrido el tiempo se retiró el vaso de precipitación de la plancha calentadora y se procedió a filtrar el extracto obtenido con papel filtro.

Los extractos obtenidos se secaron por evaporación en una estufa a 60°C por 24 horas, obteniéndose un polvo de cristales brillantes de color café amarillento en el caso de las flores de Ñachag y de color rojizo con los tratamientos de Marigol. Los extractos pulverizados se colocaron en recipientes cerrados color ámbar y almacenados en refrigeración para su posterior caracterización.

3.3.3. Distribución de tratamientos

Se llevó a cabo dos etapas en la investigación, la primera etapa es la fase de extracción y la segunda es la fase de tinturación

En la primera etapa se evaluaron 2 distintas fuentes de colorante (Ñachag y Marigol) en 2 diferentes presentaciones (Frescas y deshidratadas) y 3 tipos de solvente (agua, etanol al 35% y etanol al 70%), con 3 repeticiones para cada una, resultando 12 tratamientos, y un total de 36 unidades experimentales. El tamaño de lote será fijo con una relación materia/solvente de 1:100, y con las condiciones que ya se han explicado anteriormente

Tabla 7.- Distribución de tratamientos para la extracción de tinte

Fuente de colorante	Tipo de presentación	Solventes	Repeticiones
	Grupos	Tratamientos	
Ñachag	Fresco G1	Agua T1	T1A1, T1B1, T1C1
		Etanol al 35% T2	T2A1, T2B1, T2C1
		Etanol al 70% T3	T3A1, T3B1, T3B1
	Deshidratado G2	Agua T4	T4A1, T4B1, T4C1
		Etanol al 35% T5	T5A1, T5B1, T5C1
		Etanol al 70% T6	T6A1, T6B1, T6C1
Marigol	Fresco G3	Agua T7	T7A1, T7B1, T7C1
		Etanol al 35% T8	T8A1, T8B1, T8C1
		Etanol al 70% T9	T9A1, T9B1, T9C1
	Deshidratado G4	Agua T10	T10A1, T10B1, T10C1
		Etanol al 35% T11	T11A1, T11A2, T11C1
		Etanol al 70% T12	T12A1, T12B1, T12C1

El la primera etapa del ensayo se dispondrá bajo un diseño completamente aleatorio en arreglo factorial (2 x 2 x 3) con tres repeticiones, cuyo modelo matemático es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + X_i + S_j + E_k + XS_{ij} + SE_{ij} + XE_{ik} + XSE_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = variable aleatoria

μ = media general

X_i = efecto del i-ésimo fuente de colorante (Fijo o Aleatorio)

S_j = efecto del j-ésimo tipo de presentación (Fijo o Aleatorio)

E_k = efecto del k-ésimo solvente (Fijo o Aleatorio)

XS_{ij} = efecto de la interacción fuente de colorante x tipo de presentacion (Fijo o Aleatorio)

XE_{ik} = efecto de la interacción fuente de colorante x solvente (Fijo o Aleatorio)

SE_{jk} = efecto de la interacción tipo de presentación x solvente (Fijo o Aleatorio)

XSE_{ijk} = efecto de la interacción fuente de colorante x tipo de presentación x solvente (Fijo o alatorio).

ε_{ijk} = error aleatorio asociado con la unidad experimental

Para las comparaciones entre los tratamientos se realizaron pruebas de comparación de medias al 5%.

3.3.4. Determinación de la densidad

La determinación de la densidad de los extractos tintóreos se realizó con la ayuda de un picnómetro de 10 mL a temperatura ambiente. Para lo cual se utilizó la fórmula siguiente:

$$\rho = \frac{m_f - m_i}{V}$$

Donde:

ρ = densidad

m_f = masa final

m_i = masa inicial

3.3.5. Determinación del rendimiento

El rendimiento de colorante se obtuvo pesando el polvo de cristales brillantes obtenidos después de la evaporación. El porcentaje de rendimiento se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$\% = \frac{100 \times m}{2}$$

Donde:

% = Rendimiento

100 = porcentaje de la muestra original

2 = Gramos de muestra original

m = masa obtenida de los polvos de cristales (Ñachag, marigol)

3.3.6. Determinación de la concentración

La concentración de flavonoides presentes en los tratamientos con Ñachag fue determinado con la ley de Lamber-Beer la cual establece la siguiente formula :

$$A = \log I / I_0$$

De lo cual:

$$A = \varepsilon \cdot C \cdot l$$

$$C = \frac{A}{\varepsilon \cdot l}$$

$$C = \frac{A \cdot PM \cdot FD \cdot 1000}{(\varepsilon \cdot l)}$$

Donde:

C = Concentración de pigmento

A = Absorbancia

PM = Peso molecular

FD = Factor de dilución

ε = Valor de épsilon

l = Ancho de la celda en cm.

Con la ayuda del espectrofotómetro se midió la absorbancia de cada uno de los tratamientos. Se tomó una alícuota de los extractos obtenidos y se hizo la lectura de la absorbancia. Para el caso de los tratamientos con flores de Ñachag la longitud de

onda utilizada fue de 300 nm y para el caso de los tratamientos con Marigol se hizo con un valor de 361 nm. Estos valores son específicos para cada compuesto bioquímico y a continuación se justifica el porqué de su uso.

Corrales (1994), estableció que el flavonoides presente en la flores de Ñachag es el 2,2,4 trihidroxichalcona, el cual pertenece al grupo de las chalconas que son flavonoides menores.

Por otro lado, Blanco *et. al* (1997), determinó que la absorbancia máxima para las chalconas se da con una longitud de onda de 300.8 nm y también menciona que el valor de épsilon para estos compuestos bioquímicos es de $49800 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Adicionalmente, Rodney *et. al* (1987) establece que el peso molecular para las chalconas es de $24000 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Todos estos valores antes mencionados fueron utilizados para el calculo de la concentración de la chalconas con la ayuda de la formula obtenida a partir de la ley de Lamber-Beer.

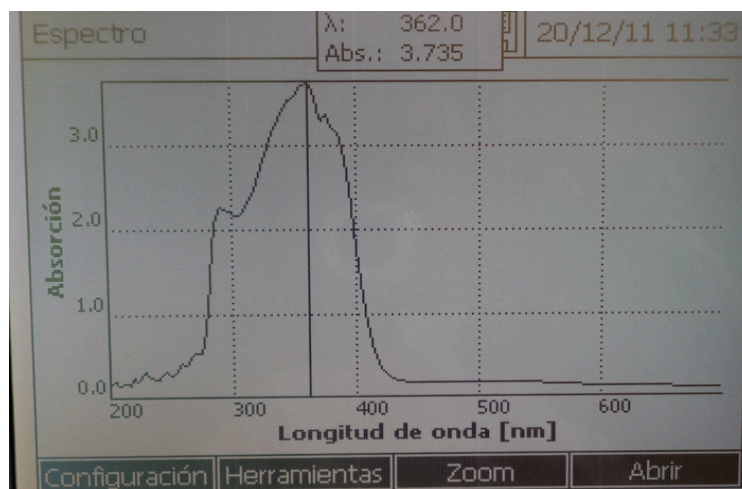
Así mismo para el caso de los tratamientos con Marigol, se tomó una alícuota de los extractos y se midió su absorbancia en una longitud de onda de 361 nm.

Pancho (1989) considera que el Beta-caroteno es el carotenoide predominante en más de un 80% del total de carotenos. Por lo tanto, es el Beta-caroteno el ingrediente activo presente en los extractos de Marigol.

Pancho (1989) adicionalmente establece que la máxima absorbancia de carotenoides

obtenidos a partir de alcohol se da en la longitud de onda de 452 nm, pero así mismo afirma que la presencia de agua afecta al espectro de absorción de los carotenoides obtenidos a partir de solventes miscibles en agua. En efecto, altas concentraciones de agua causan disminución en la extinción en la región visible que, frecuentemente, resulta en la aparición de picos en la región cercana al ultravioleta. La presencia del 30% de agua en etanol ocasiona una pérdida del 20% en el caso del Beta-caroteno.

Es por eso que al haber utilizado alcohol al 35 y 70% es de esperarse que la absorbancia máxima se de en una longitud de onda menor a la establecida por la literatura. Al tener la solución alcohólica mas del 30% de agua se puede calcular que la absorbancia máxima se va a dar con una longitud de onda de 362 nm, lo cual se confirmó en la practica al realizar un barrido de los extractos con Marigol en el espectrofotómetro y obtener la absorbancia máxima del extracto en una longitud de onda de 362nm, lo cual nos indica que el resultado obtenido esta en concordancia con la literatura. (Figura 7)



FUENTE: Rosales 2012

Figura 7: Espectro del colorante obtenido a partir de Marigol deshidratado con alcohol al 35%

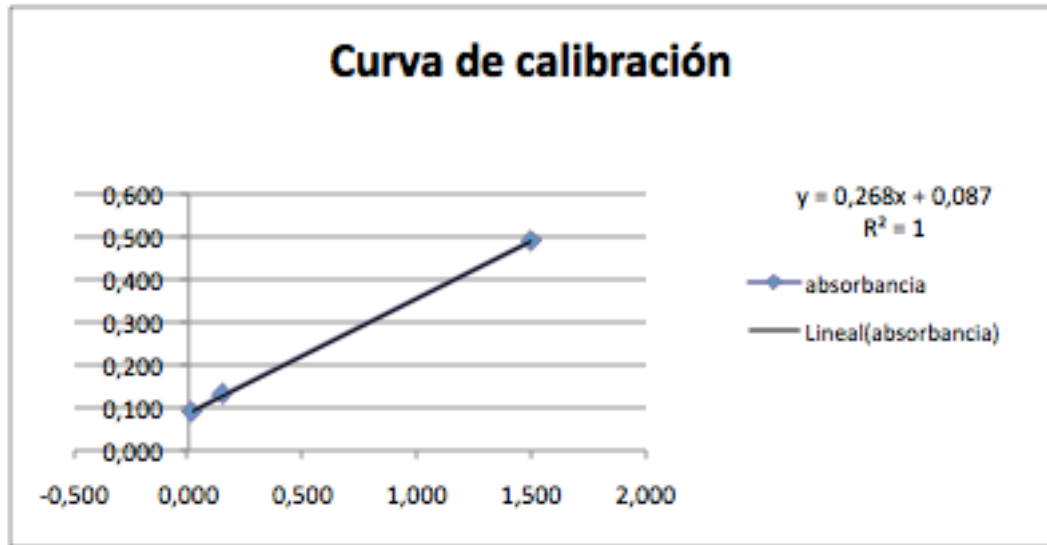
Para poder determinar la concentración del Beta-caroteno presente en los extractos es necesario obtener el valor de ϵ para carotenoides obtenidos a partir de alcohol, pero no fue posible encontrar la este valor en la literatura, es por tanto que se realizó una curva de calibración o curva padrón para poder determinar dicho valor.

Se obtuvo Beta-caroteno puro y se intento disolver en una solución alcohólica pero dicho compuesto no es soluble en alcohol debido a sus características y propiedades apolares. Por este motivo se decidió utilizar aceite debido a sus características lipídicas y a su fácil manipulación y disponibilidad.

Es así que se elaboraron soluciones de aceite-beta-caroteno a diferentes concentraciones y se la llevó al espectrofotómetro para medir su absorbancia a 361 nm, obteniéndose una ecuación lineal la cual nos servirá para determinar la concentración de Beta-caroteno, es así:

Tabla 8: Curva de calibración para el calculo de la concentración de beta-caroteno

Concentración (X)	Absorbancia (Y)
1.500	0.490
0.150	0.129
0.015	0.090



FUENTE: Rosales 2012

$$Y = 0.2686 \cdot X + 0.0873$$

Con esta ecuación podemos determinar fácilmente la concentración de Beta-caroteno, al remplazar Y por los valores de absorbancia leídos anteriormente en el espectrofotómetro de los extractos de Marigol.

3.3.7. Método para la tinturación de lana y algodón

Se adaptó la metodología seguida por Cano *et al.* (2007) para la tinturación de la tela de lana y algodón con colorantes naturales.

Los colorantes utilizados en esta etapa son aquellos que obtuvieron mejores resultados y que por estadística demostraron ser los mejores acorde a las variables medidas (T4, T5, T6)

Tabla 9: Distribución de tratamientos para la tinturación

Fibra textil	Colorante
Lana	Ñachag deshidratado obtenido con alcohol al 70%
	Ñachag deshidratado obtenido con alcohol al 35%
	Ñachag deshidratado obtenido con agua
Algodón	Ñachag deshidratado obtenido con alcohol al 70%
	Ñachag deshidratado obtenido con alcohol al 35%
	Ñachag deshidratado obtenido con agua

FUENTE: Rosales 2012

Primeramente se lavó la tela de lana. Se colocó en agua con detergente durante 12 horas. Posteriormente se lavó solo con agua. La tela de algodón no se lavó

Se realizó el proceso de mordentado de las telas de algodón y lana, el cual consistió en colocar las fibras en una solución de alumbre (Sulfato Aluminio). La cantidad de alumbre agregado representa el 10% en masa de la cantidad de tela a mordentar. En este caso se tomó muestras de 10g para cada tratamiento.

Se introduce la tela en la solución de mordentado y se procede a aplicarle calor. En el caso del algodón se llevó a ebullición durante 1 hora, moviendo constantemente la

fibra. En el caso de lana, se mantiene la temperatura de la mezcla mordiente a una temperatura de 90oC, sin llegar a ebullición.

Para determinar la cantidad adecuada de colorante necesario para el baño de los textiles, se llevaron a cabo pruebas previas. Estas pruebas nos permitieron establecer la concentración correcta para la tinturación de las fibras. Se procedió a realizar soluciones tintóreas de Ñachag deshidratado obtenido con alcohol al 35% a diferentes concentraciones, como indica la tabla 9,. Después de realizado el proceso tintóreo siguiendo la metodología utilizada por Cano *et. al.* Se tomo una alícuota de la solución restante del baño y se la llevo al espectrofotómetro para leer su absorbancia a una longitud de onda de 300 nm. Con la ayuda de la formula de la Ley de Lamber-Beer, descrita anteriormente, se pudo establecer la concentración final de la solución y con la fórmula de agotamiento descrita por Quintero (2004), se pudo establecer la cantidad correcta de tinte a utilizar en las pruebas posteriores

$$\text{Agotamiento} = \frac{Ci - Cf}{Ci} \times 100\%$$

Donde:

Ci = Concentración inicial

Cf = Concentración final

Tabla 10 : Concentraciones de la solución tintórea antes y después del baño para lana y algodón para 10g de tela

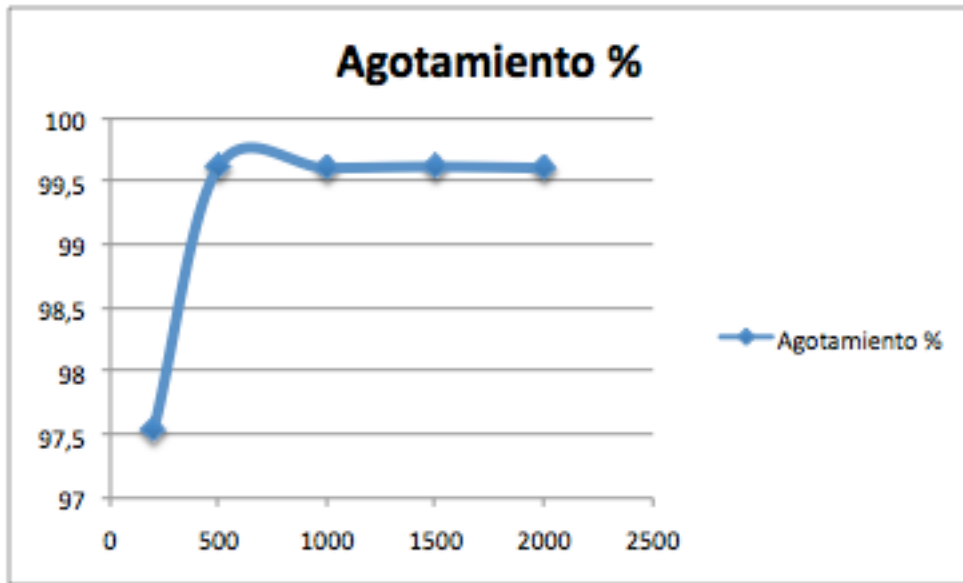
Concentración inicial (mg/L)	Peso de tela (g)	Concentración final (mg/L)	
		Algodón	Lana
200	10	4.92	1.20
500	10	1.88	2.80
1000	10	3.95	5.59
1500	10	5.63	8.50
2000	10	7.75	11.25

FUENTE: Rosales 2012

Con estas concentraciones y la fórmula de agotamiento anteriormente descrita se puede obtener la siguiente tabla:

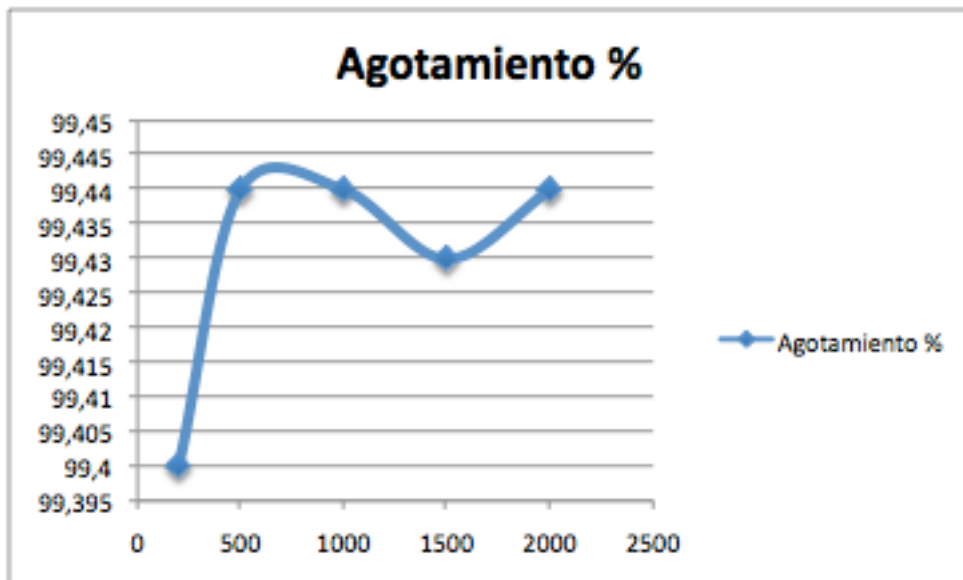
Tabla 11: Porcentaje de agotamiento de las soluciones restantes del baño a diferentes concentraciones iniciales para 10 g de tela

Concentración (mg/L)	Agotamiento (%)	
	Algodón (10g)	Lana (10g)
200	97.54%	99.40%
500	99.62%	99.44%
1000	99.61%	99.44%
1500	99.62%	99.43%
2000	99.61%	99.44%



FUENTE: Rosales 2012

Figura 8: Gráfico de Agotamiento para algodón



FUENTE: Rosales 2012

Figura 9: Gráfico de Agotamiento para lana

Claramente se puede determinar que a una concentración inicial de 500 mg/L el porcentaje de agotamiento alcanza su máximo porcentaje tanto para la 10g de lana como para 10g de algodón. Se puede observar en la gráfica que a pesar de que la concentración aumenta, el porcentaje de agotamiento se mantiene lo cual nos indica que con una concentración de 500mg/L debemos realizar las tinturaciones ya que si añadiéramos más colorante al baño sería desperdiciado.

Para el proceso de tinturación se aplicó el procedimiento seguido por Cano *et. al* (2008), al cual se le dió calor hasta llegar a una temperatura aproximada de 70°C, luego se introdujo la cantidad necesaria de colorante y se agitó durante 5 minutos; se introdujo la fibra y se agitó constantemente. Para el algodón, se pudo llegar a ebullición, pero con la lana solo se pudo llegar a una temperatura de 90°C, al igual que en el proceso de mordentado, ya que la tela se afecta. Desde el momento del inicio de la ebullición ó al llegar a 90°C en el caso de la lana, se midió 1 hora y se sacó las fibras de la solución colorante.

3.3.8. Evaluación de las fibras tinturadas

A todas las muestras teñidas se les practicó pruebas de solidez del color al lavado y manchado y pruebas de solidez del color a la luz, las cuales fueron realizadas en la Escuela Politécnica Nacional en el Centro de Textiles de la Facultad de Ingeniería Química.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. DENSIDAD

Al establecer el análisis de varianza para la variable de densidad se encontró diferencias estadísticas a nivel del 5% en tratamientos, al mismo nivel se encontró diferencias significativas entre las comparaciones ortogonales a excepción de la comparación entre el grupo 1 y el grupo 2. (Cuadro 1)

El promedio general de la densidad fue de 0.924 g/ml, con un coeficiente de variación de 0.409.

Cuadro 1: Análisis de varianza de la variable de densidad de los colorantes extraídos a partir de flores de Ñachag y flores de Marigol

FdV	Gl	SC	CM	F
Total	35	0.056		
Tratamientos	(11)	0.056	0.005	357.931 *
Entre grupos	3	5.497E-05	1.832E-05	1.286 ns
G2vsG1G3G4	1	5.208E-05	5.208E-05	3.655 *
G2vsG3G4	1	2.964E-05	2.964E-05	2.080 *
G1vsG2	1	1.252E-05	1.252E-05	0.878 ns
DG1	2	0.015	0.007	519.228 *
DG2	2	0.012	0.006	430.324 *
DG3	2	0.014	0.007	504.008 *
DG4	2	0.014	0.007	513.131 *
Error	24	0.00	1.425E-05	
X (g/ml)			0.924	
CV (%)			0.409	

Al analizar los grupos en estudio se determinó que las densidades obtenidas de los colorantes de flores de Ñachag y Marigol no presentan ninguna diferencia (Cuadro 2 y Figura 9).

Cuadro 2: Efecto de los colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por grupos en la variable de densidad

Grupos	X densidad (g/ml)
G1 Ñachag fresco	2.775 a
G2 Ñachag deshidratado	2.766 a
G3 Marigol fresco	2.773 a
G4 Marigol deshidratado	2.775 a

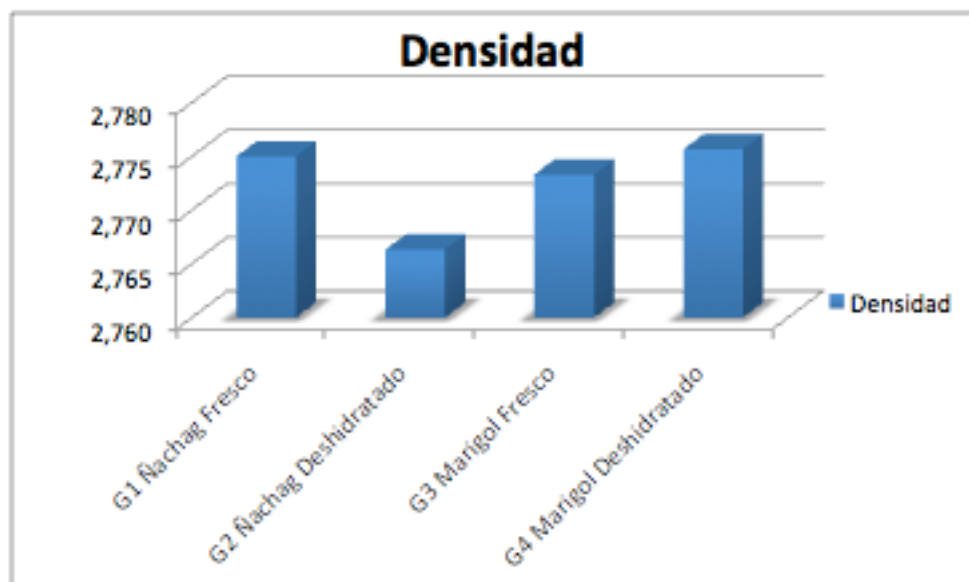


Figura 10: Densidad de colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por grupos

Así mismo al analizar cada uno de los tratamientos individualmente se pudo determinar que no existen diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos como muestra el cuadro 3 y la figura 10

Cuadro 3: Efecto de los colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por tratamientos en la variable de densidad

Tratamientos	Densidad (g/ml)
T1	0.969 a
T2	0.934 a
T3	0.871 a
T4	0.958 a
T5	0.937 a
T6	0.871 a
T7	0.966 a
T8	0.936 a
T9	0.871 a
T10	0.966 a
T11	0.939 a
T12	0.870 a

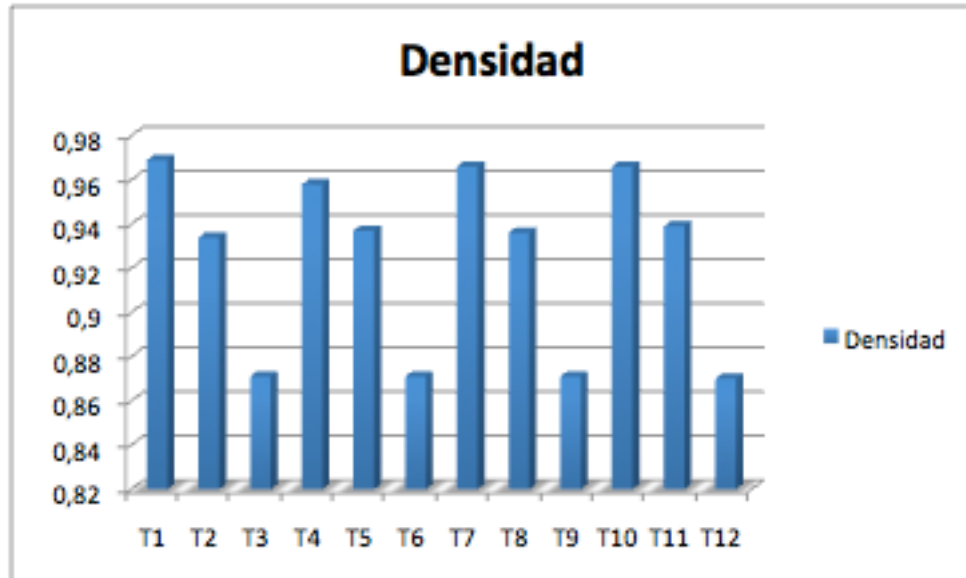


Figura 11: Densidad de colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por tratamientos

4.2. CONCENTRACIÓN

Al realizar el análisis de varianza de la variable de concentración se pudo determinar que existe diferencias estadísticas a nivel del 5% en todas las fuentes de variación a excepción de DG3. (Cuadro 4)

El promedio general de la concentración es de 8.059 mg/L, con un coeficiente de variación de 23.74%

Cuadro 4: Análisis de varianza de la variable de concentración de los colorantes extraídos a partir de flores de Ñachag y flores de Marigol

FdV	GI	SC	CM	F
Total	35	2059.574		
Tratamientos	11	1971.702	179.246	48.961 *
Entre grupos	3	1222.635	407.545	111.321 *
G2vsG1G3G4	1	924.300	924.300	252.472 *
G2vsG3G4	1	548.496	548.496	149.821 *
G1vsG2	1	204.828	204.828	55.949 *
DG1	2	90.203	45.102	3.953 *
DG2	2	280.724	140.362	12.302 *
DG3	2	5.479	2.740	0.240 ns
DG4	2	372.661	186.330	16.330 *
Error	24	87.872	3.661	
X(mg/L)		8.059		
CV (%)		23.74		

Al analizar los grupos en estudio se determinó que existe diferencias significativas entre los mismos. El grupo 2 (G2) que está compuesto por los tratamientos de Ñachag deshidratado con los diferentes solventes, alcanzó concentraciones superiores a los demás grupos. Esto nos indica que la disponibilidad de los pigmentos naturales es mayor cuando las flores han perdido toda su humedad y que los flavonoides son fácilmente extraídos con solventes polares (Cuadro 5 y figura 11)

Cuadro 5: Efecto de los colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por grupos en la variable de concentración

Grupos	X concentración (mg/L)
G1 Ñachag fresco	15.45 b
G2 Ñachag deshidratado	50.51 a
G3 Marigol fresco	3.16 c
G4 Marigol deshidratado	27.59 b

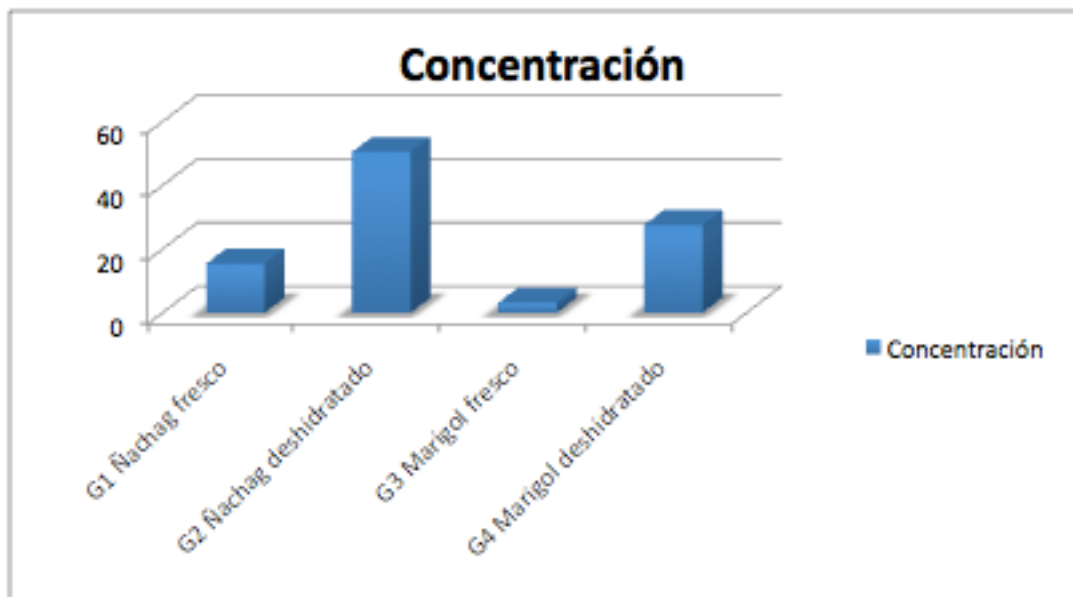


Figura 12: Concentración de colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por grupos

Así mismo al analizar cada uno de los tratamientos individualmente se puede determinar que existen diferencias significativas entre la mayoría de tratamientos. Claramente se observa que T6 (Ñachag deshidratado con alcohol 70%) es el tratamiento con mayor concentración, lo cual nuevamente nos indica que el solvente que mejor resultados presenta es el alcohol al 70% y que las flores de Ñachag deshidratadas son excelente fuente de colorante natural como muestra el cuadro 6 y la figura 11

Cuadro 6: Efecto de los colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por tratamientos en la variable de concentración

Tratamientos	Concentración (mg/L)
T1	4.17 c
T2	1.85 c
T3	9.42 c
T4	10.48 b
T5	15.95 b
T6	24.08 a
T7	0 d
T8	1.3 c
T9	1.86 c
T10	2.22 c
T11	7.63 c
T12	17.74 b

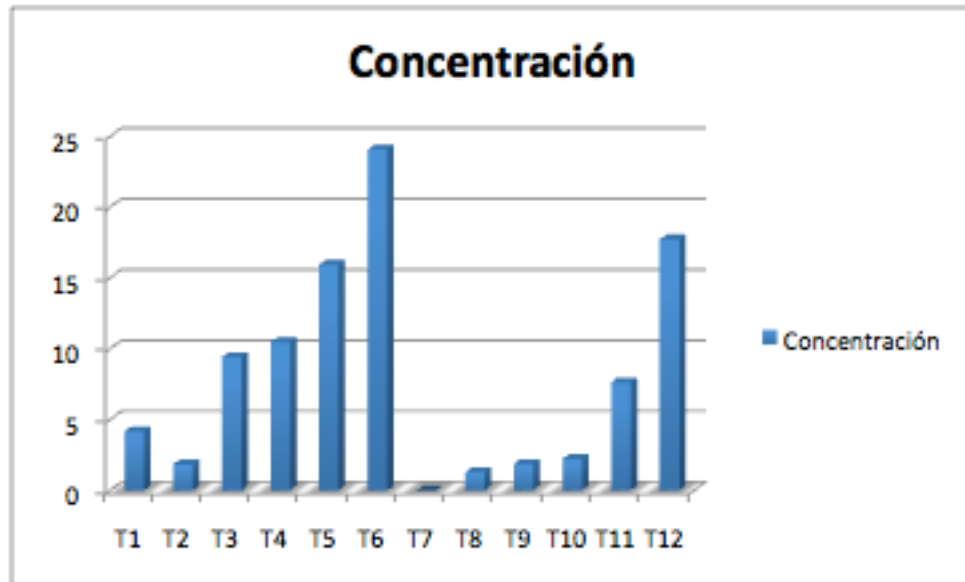


Figura 13: Concentración de colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por tratamientos

4.3. RENDIMIENTO

Al realizar el análisis de varianza de la variable de concentración se pudo determinar que existe diferencias estadísticas a nivel del 5% en todas las fuentes de variación (Cuadro 7)

El promedio general de la concentración es de 0.509 g, con un coeficiente de variación de 15.218 %

Cuadro 7: Análisis de varianza de la variable de rendimiento de los colorantes extraídos a partir de flores de Ñachag y flores de Marigol

FdV	Gl	SC	CM	F
Total	35	3.354		
Tratamientos	11	3.209	0.292	48.514 *
Entre grupos	3	0.370	0.123	20.535 *
G2vsG1G3G4	1	0.261	0.261	43.412 *
G2vsG3G4	1	0.108	0.108	17.986 *
G1vsG2	1	0.102	0.102	17.005 *
DG1	2	0.714	0.357	59.337 *
DG2	2	0.455	0.227	37.818 *
DG3	2	0.325	0.163	27.061 *
DG4	2	1.344	0.672	111.808 *
Error	24	0.144	0.006	
X(g)		0.509		
CV(%)		15.218		

Al analizar los grupos en estudio se determinó que existe diferencias significativas entre los mismos. El grupo 2 (G2) que esta compuesto por los tratamientos de Ñachag deshidratado con los diferentes solventes, alcanzó rendimientos superiores a los demás grupos.

Cuadro 8: Efecto de los colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por grupos en la variable de rendimiento

Grupos	X rendimiento (g)
G1 Ñachag fresco	1.18 c
G2 Ñachag deshidratado	1.97 a
G3 Marigol fresco	1.31 c
G4 Marigol deshidratado	1.64 b

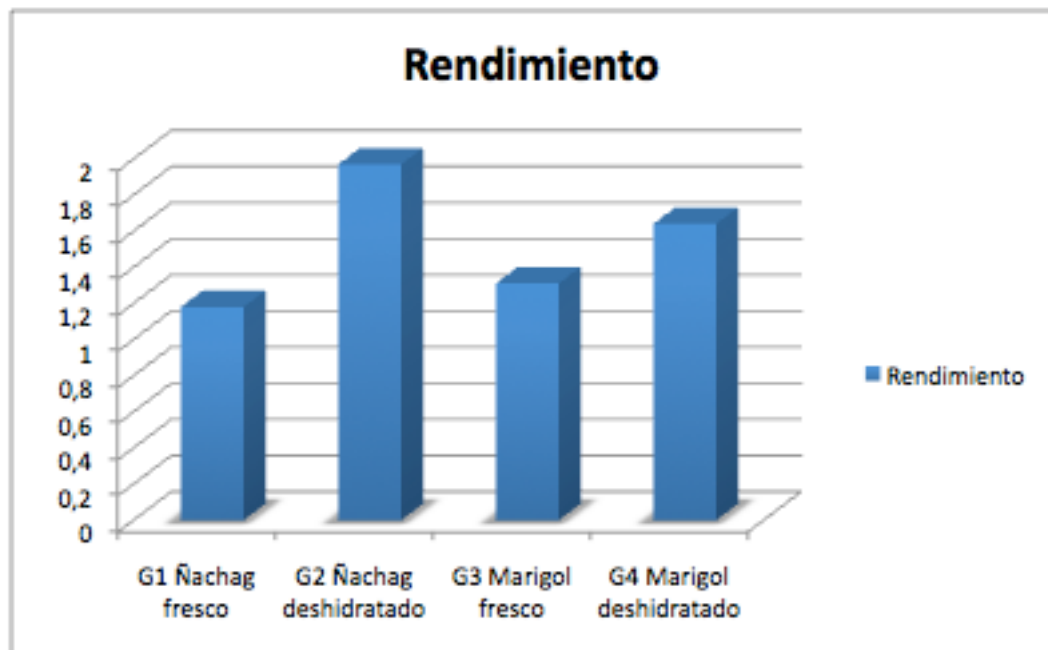


Figura 14.- Rendimiento de colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por grupos

Así mismo al analizar cada uno de los tratamientos individualmente se puede determinar que existen diferencias significativas entre la mayoría de tratamientos. Claramente se observa que T5 (Ñachag deshidratado con alcohol 35%) es el tratamiento con mayor rendimiento, lo cual nos indica que el solvente que mejor resultados presenta es el alcohol al 35% y que las flores de Ñachag deshidratadas nuevamente demuestran ser excelentes fuentes de colorante natural como muestra el cuadro 8 y la figura 14

Cuadro 9: Efecto de los colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por tratamientos en la variable de rendimiento

Tratamientos	Rendimiento (g)
T1	0 d
T2	0.553 b
T3	0.633 b
T4	0.343 c
T5	0.86 a
T6	0.766 ab
T7	0.17 c
T8	0.593 b
T9	0.55 b
T10	0 d
T11	0.82 a
T12	0.82 a

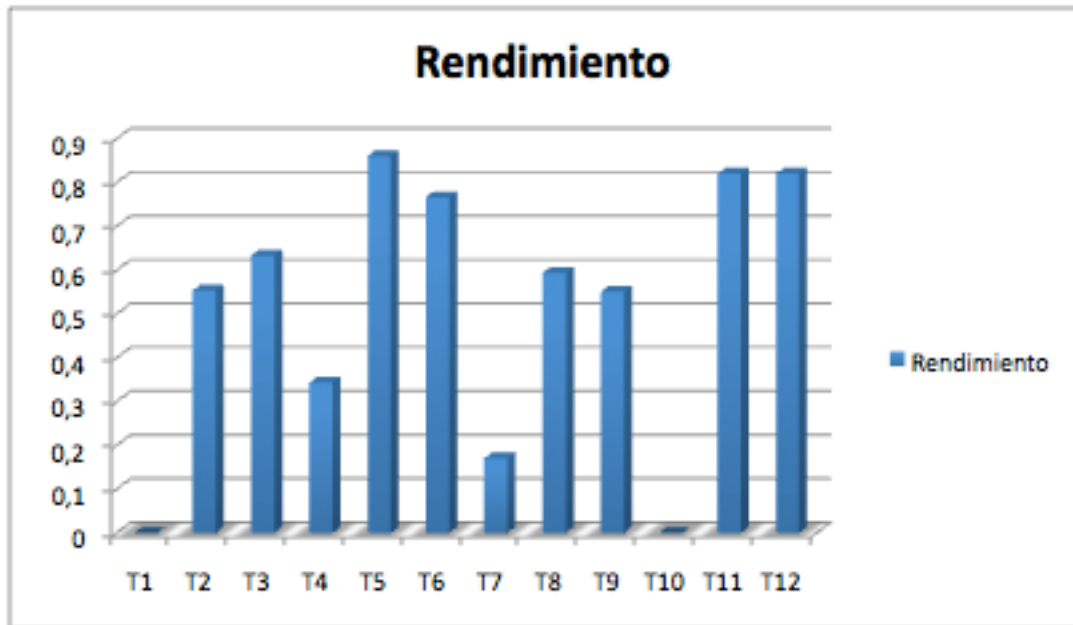


Figura 15: Rendimientos de colorantes de flores de Ñachag y de Marigol por tratamientos

4.4. FIBRAS TEÑIDAS

Como se ha dicho anteriormente, los tintes naturales utilizados fueron los del grupo 2 (T4, T5 y T6), los cuales mostraron claramente los mejores resultados de la investigación. Estos tintes provienen de las flores de Ñachag deshidratadas obtenidos con los diferentes solventes. En la metodología se describió claramente el procedimiento que se llevó a cabo en la tinturación de las fibras. A continuación se muestran los resultados obtenidos :



Figura 16: Muestras de algodón y lana tinturadas con colorantes natural obtenido a partir de flores de Ñachag deshidratadas con alcohol al 35% (T5)



Figura 17: Muestras de algodón y lana tinturadas con colorante natural obtenido a partir de flores de Ñachag deshidratadas con alcohol al 70% (T6)



Figura 18: Muestras de algodón y lana tinturadas con colorante natural obtenido a partir de flores de Ñachag deshidratadas con agua (T4)

Podemos observar que todas las muestras tienen diferentes tonos de amarillo y que en las muestras de lana, el color se encuentra más acentuado que en las muestras de algodón, lo cual nos indica que los flavonoides tienen mayor afinidad con las fibras de origen animal. Adicionalmente podemos decir, que los tintes obtenidos con alcohol tienen diferente color que los obtenidos con agua.

4.5. EVALUACION DE FIBRAS TEÑIDAS

Como se mencionó en la metodología, la evaluación de las fibras teñidas fueron hechas en el laboratorio del Centro Textil Politécnico del Departamento de Ingeniería Química de la Escuela Politécnica Nacional.

4.5.1. Pruebas de solidez del color al lavado y al manchado

Antes de realizar las pruebas, las muestras fueron numeradas de la siguiente manera:

Tabla 12: Numeración de tratamientos para evaluación de fibras

Tratamiento	Numeración
Lana tinturada con colorante de flores Ñachag deshidratado con alcohol al 35%	T1-L
Algodón tinturada con colorante de flores Ñachag deshidratado con alcohol al 35%	T1-A
Lana tinturada con colorante de flores Ñachag deshidratado con alcohol al 70%	T2-L
Algodón tinturadp con colorantes de flores Ñachag deshidratado con alcohol al 70%	T2-A
Lana tinturada con colorantes de flores Ñachag deshidratado con agua	T3-L
Algodón tinturado con colorantes de flores Ñachag deshidratado con agua	T3-A

Se realizó pruebas de solidez del color al lavado y manchado utilizando la norma AATCC 61-Test 3A, dando los siguientes resultados:

Cuadro 10: Resultados de la prueba de solidez del color al lavado y manchado

Muestra	Solidez al lavado	Solidez al manchado (Sobre algodón)
T1-L	2	4-5
T2-L	2	4
T3-L	2-3	3-4
T1-A	1	4
T2-A	1	4
T3-A	1-2	4

Nota: La solidez al lavado y manchado se evalúan en escala de grises, desde 1 hasta 5, siendo 1 el peor resultado posible y 5 el mejor resultado

Podemos ver que las muestras de lana presentaron mejor solidez del color al lavado y manchado que las muestras de algodón. Sin embargo, ninguna de las muestras analizadas alcanzó una solidez al lavado y manchado adecuada. Esto es debido a que el mordiente utilizado no fue conveniente para este tipo de tinte natural.

También podemos ver que la muestra de lana teñida con tinte de flores de Ñachag deshidratadas obtenido con agua, presentaron la mejor solidez al lavado, lo que nos

indica que este tinte natural a pesar de tener un bajo rendimiento, tiene mejor calidad que todos los otros tintes evaluados.

4.5.2. Pruebas de solidez del color a la luz artificial

Se realizo pruebas de solidez del color a la luz artificial (Arco de xenon) utilizando la norma ISO 105-B02 (0.55 W/m²; temperatura de panel negro: 89 °C; 44horas)

Cuadro 11 : Resultados de la prueba de solidez del color a la luz artificial

Muestra	Solidez a la luz
T1-L	5
T2-L	6
T3-L	3
T1-A	4-5
T2-A	4-5
T3-A	2

Nota: La solidez a la luz se evalúa en escala de azules, desde 1 hasta 8, siendo 1 el peor resultado posible y 8 el mejor resultado

De igual forma, las muestras de lana nuevamente alcanzaron mejores resultados que las muestras de algodón en las pruebas de solidez del color a la luz artificial. La

muestra de lana teñida con tintes de flores de Ñachag deshidratadas con alcohol al 70% obtuvo el mejor resultado.

Los resultados obtenidos son más satisfactorios, pero no excelentes. Como ya se menciono anteriormente, el mordiente que se utilizo no es el mas indicado para este tipo de tintes, lo cual nos a dado resultados poco satisfactorios.

5. CONCLUSIONES

- Los colorantes obtenidos a partir de flores de Ñachag deshidratadas son los mejores para la tinturación de fibras de origen animal
- Las flores de Marigol no son una buena opción como fuente de colorante natural para la tinturación de fibras textiles, ya que su pigmento es apolar y los solventes necesarios para su obtención no son una alternativa ecológica ni económica
- El mejor tratamiento fue el T6 (colorante natural obtenido a partir de flores de Ñachag deshidratadas con alcohol al 70%), él cual obtuvo un rendimiento de 0.86g (43%), una concentración de 24.08 mg/L de flavonoides y una densidad de 0.871g/ml
- El mejor grupo de tratamientos fue el G2 (T4, T5, T6), los cuales estadísticamente demostraron tener mejor rendimiento y mejor concentración. Todos estos tratamientos fueron a base de flores de Ñachag deshidratadas
- El mejor solvente para la obtención de tintes naturales fue el alcohol al 70%, ya que los tratamientos que tuvieron este solvente, estadísticamente demostraron conseguir mejores rendimientos y concentraciones de flavonoide
- La variable de densidad no es una herramienta útil para el análisis y determinación de los mejores tintes naturales, ya que esta presentó un coeficiente de variación de 0.409%,

- Las muestras de lana tinturada con colorantes naturales obtenidos a partir de flores de Ñachag deshidrata consiguieron mejores resultados en las pruebas de solidez de color al lavado, al manchado y a la luz artificial, por lo tanto estos tintes naturales son mas adecuados para utilizarlos en fibras de origen animal

6. RECOMENDACIONES

- Se recomienda utilizar los colorantes naturales obtenidos de flores de Ñachag deshidratadas con alcohol al 70% en la industria textil y en el sector artesanal, ya que son una excelente opción ecológica
- Se recomienda utilizar alcohol como solvente para la extracción de colorantes naturales en aquellos tejidos vegetales que tengan en su estructura pigmentos polares
- Se recomienda utilizar diferentes tipos de mordientes para la tinturación de fibras naturales con colorantes de flores de Ñachag, ya que el sulfato de aluminio no demostró ser un mordiente efectivo para este tipo de tinturas
- Se recomienda realizar una investigación en relación a mordientes naturales, para establecer si podrían ser una alternativa sustentable y sostenible para la industria textil y para el sector artesanal
- Se recomienda realizar investigación con los tintes naturales obtenidos a partir de flores de Ñachag en el área alimenticia ya que estos presentan excelentes características de utilidad en este campo

7. BIBLIOGRAFÍA

- Arce M. 2009. Normal climática y distribución de la precipitación de la hacienda El Prado-IASA. Boletín Técnico 8, Serie Zoológica 4-5: 126-128.
- Badui, D. S. 1993. Química de los alimentos. Addison Wesley Longman de México, S. A. DE C. V. México D. F., México.
- Bernal, H., Correa, J., 1991. Especies Vegetales Promisorias de los Países del Convenio Andres Bello. Programa de Recursos Vegetales del Convenio Andres Bello. Tomo VII. Bogota Colombia.
- Blanco, E., Ferretti, F. 1997. Determination of absorptivity and formation constant of a chalcone association complex. (en línea). San Luis, Argentina. Departamento de Química. Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis. Consultado el 7 de febrero del 2012. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914097002099>
- Bruneton, J. 2001. Farmacognasia, Fitoquímica Plantas Medicinales. Segunda edición. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, España.

- Cano, M., Cano D., De Leon M., Godínez L., Barrientos G., Saravia M., Mérida M., Guerrero G., Portillo G., Barrera G. 2007. 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. (en línea). Ciudad de Guatemala, Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Consultado el 8 de febrero del 2011. Disponible en: http://digi.usac.edu.gt/bvirtual/investigacio_files/INFORMES/PUIDI/INF-2007-020.pdf
- Cano, M., Cano D., Mérida M., Godínez L., De Leon M., Barrientos G., Ortiz Q., Cano, M., Enriquez L., 2008., Evaluación de la Capacidad Tintórea de los Tintes Naturales Obtenidos de los Desechos Agroindustriales del Coco y del Aguacate en el Proceso de Tinción de Fibras Naturales Utilizadas en Elaboración de Artesanías. (en línea). Ciudad de Guatemala, Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Consultado el 2 de febrero del 2011. Disponible en: http://digi.usac.edu.gt/bvirtual/investigacio_files/INFORMES/PUIDI/INF-2008-081.pdf
- Cegarra, J., Puente, P., Valldeperas, J. 1981. Fundamentos Científicos y Aplicados de la Tintura de Materiales Textiles. Universidad Politecnica de Barcelona. ETSIT Terrassa. Barcelona, España

- Corrales, F.1994. Aplicación de los Colorantes de la Flor de Ñaccha (*Bidens humilis*) en el teñido de lana. Tesis de grado. Facultad de Ingeniería Química. Escuela Politécnica Nacional. Quito Ecuador
- Da Ros, G. 1995. Contaminación de Aguas en el Ecuador: Una Aproximación Económica. Pontificia Universidad Católica del Ecuador PUCE. Ediciones Abya Yala. Quito, Ecuador
- De la Torre, L., Navarrete, H., Muriel, P., Macía, M. J. y Balslev, H. 2008. Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador. Herbario QCA Escuela de Ciencias Biológicas PUCE. Quito, Ecuador
- Díaz, A., Bárcena, A. *et al.* 2007. Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. (en línea).Córdoba. Consultado 18 jul. 2011. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2005/fap821c/doc/fap821c.pdf>
- Dominguez, J. 1985. Métodos de Investigación Fitoquímica. Editorial Limusa. México D.F.
- Garzón, G. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión (en línea). Bogotá, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Consultado 10 de febrero del 2011. Disponible en: <http://www.virtual.unal.edu.co/revistas/actabiol/PDF's/v13n3/v13n3a2.pdf>

- Gaybor, M. 1994. Extracción de colorantes de pétalos de desecho de rosas para exportación. Tesis de grado. Facultad de Ingeniería Química. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito, Ecuador
- Klinger, W., Pinzón, A., Pachón, M., Rojas, L., Aragón, J. 2002. Estudio de Especies Promisorias Productoras de Colorantes en el Trapecio Amazónico. Centro de Investigación y Desarrollo Científico. Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Bogotá, Colombia
- Koning, H., Cantanhede A., Benavides L. 1994 . Desechos Peligrosos y Salud en América Latina y el Caribe. (en línea). Washington, Estados Unidos. Organización Panamericana de la Salud OPS. Consultado el 2 de Mayo del 2011. Disponible en: <http://www.bvsde.ops-oms.org/eswww/fulltext/resipeli/desechos/desechos.html>
- Lock, O. S. 1997. Colorantes Naturales. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, Perú.
- Mansilla, D., Lizama C., Gutarra A. y Rodríguez J. 2001. Tratamiento de residuos líquidos de la industria de celulosa y textil, en Eliminación de contaminantes por fotocatalisis heterogénea, Blesa M.A. editor, Editorial CYTED. La Plata, Argentina.

- Organización Mundial de la Salud.1990. Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias comisión del Codex Alimentarius.
- Pancho, V. 1989. Obtención de los Colorantes Contenidos en los Residuos de la Extracción del Aceite de Palma. Tesis de grado. Facultad de Ciencias de la Educación Departamento de Química. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito Ecuador
- Perez, H. 1999. Manual de Tinturación. Proyecto de Educación Bilingüe Intercultural. Ediciones Abya Ayala. Quito Ecuador
- Quintero, C. 2004. Efecto de la Copigmentación Sobre el Color y Estabilidad del Pigmento en un Sistema Modelo (bebida), Usando Antocianina de Rábano. (en línea). Puebla, México. Tesis de grado. Departamento de Química y Biología. Escuela de Ciencias. Universidad de las Américas Puebla. Consultado el 12 de Febrero del 2012. Disponible en: http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lqf/quintero_h_cm/portada.html

