



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE AGROINDUSTRIA

“EXTRACCIÓN DE COLORANTE NATURAL (CINABARINA) DEL HONGO ROJO *Pycnoporus sanguineus*, UTILIZANDO DOS SOLVENTES”.

Tesis previa a la obtención del título de ingeniero (a) agroindustrial.

Autor: Leandra Madelyn Carrillo Ruiz

Director: Dra. Lucía Yépez Vásquez, MSc.

Ibarra – Ecuador

2017



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE AGROINDUSTRIA

“EXTRACCIÓN DE COLORANTE NATURAL (CINABARINA) DEL HONGO ROJO *Pycnoporus sanguineus*, UTILIZANDO DOS SOLVENTES”.

Tesis revisada por los miembros del tribunal, por lo cual se autoriza su
presentación como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERA AGROINDUSTRIAL

APROBADA:

Dra. Lucía Yépez, MSc.

FIRMA

DIRECTORA DE TESIS

Lic. Sania Ortega, MSc.

FIRMA

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Luis Armando Manosalvas, MSc.

FIRMA

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Holguer Pineda, MBA.

FIRMA



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR
DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

La Universidad Técnica del Norte dentro del proyecto Repositorio Digital Institucional, determinó la necesidad de disponer de textos completos en formato digital con la finalidad de apoyar los procesos de investigación, docencia y extensión de la Universidad.

Por medio del presente documento dejo sentada mi voluntad de participar en este proyecto, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO

CÉDULA DE IDENTIDAD:	100350480-8		
APELLIDOS Y NOMBRES:	Carrillo Ruiz Leandra Madelyn		
DIRECCIÓN:	San Antonio, Simón Bolívar e Imbabura		
EMAIL:	madelyn_carrillo92@hotmail.com		
TELÉFONO FIJO:	062932568	TELÉFONO MÓVIL:	0998423176

DATOS DE LA OBRA

TÍTULO:	“EXTRACCIÓN DE COLORANTE NATURAL (CINABARINA) DEL HONGO ROJO <i>Pycnoporus sanguineus</i> , UTILIZANDO DOS SOLVENTES”.		
AUTOR:	Carrillo Ruiz Leandra Madelyn		
FECHA:			

SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO

PROGRAMA:	*	PREGRADO	POSTGRADO
TÍTULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniera Agroindustrial		
ASESOR / DIRECTOR:	Dra. Lucía Yépez, MSc		

2. AUTORIZACIÓN DE USO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD

Yo, Leandra Madelyn Carrillo Ruiz, con cédula de identidad número 100350480-8, en calidad de autor y titular de los derechos patrimoniales de la obra o trabajo de grado descrito anteriormente, hago entrega del ejemplar respectivo en formato digital y autorizo a la Universidad Técnica del Norte, la publicación de la obra en el Repositorio Digital Institucional y uso del archivo digital en la Biblioteca de la Universidad con fines académicos, para ampliar la disponibilidad del material y como apoyo a la educación, investigación y extensión; en concordancia con la Ley de Educación Superior Artículo 144.

3. CONSTANCIAS

El autor manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto la obra es original y que es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 27 días del mes de Abril de 2017.

AUTORA:

A handwritten signature in blue ink that reads "Madelyn Carrillo". The signature is written in a cursive style and is positioned above a horizontal line.

Carrillo Ruiz Leandra Madelyn

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por la Srta. Carrillo Ruiz
Leandra Madelyn, bajo mi supervisión.

A handwritten signature in blue ink, reading "Lucía Yépez", is written over a horizontal line.

Dra. Lucía Yépez, MSc

DIRECTORA DE TESIS

DECLARACIÓN

Manifiesto que la presente obra es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros; por lo tanto es original, y que soy el titular de los derechos patrimoniales; por lo que asumo la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldré en defensa de la Universidad Técnica del Norte en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 27 días del mes de Abril de 2017



Leandra Madelyn Carrillo Ruiz

C.I: 100350480-8

**CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
GRADO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL
NORTE**

Yo, Srta. Leandra Madelyn Carrillo Ruiz, con cédula de identidad Nro. 100350480-8, manifiesto mi voluntad de ceder a la Universidad Técnica del Norte los derechos patrimoniales consagrados en la Ley de Propiedad Intelectual del Ecuador, artículos 4, 5 y 6, en calidad de autor de la obra o trabajo de grado denominado: **“EXTRACCIÓN DE COLORANTE NATURAL (CINABARINA) DEL HONGO ROJO *Pycnoporus sanguineus*, UTILIZANDO DOS SOLVENTES”**, que ha sido desarrollado para optar por el título de: **INGENIERA AGROINDUSTRIAL** en la Universidad Técnica del Norte, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente. En condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia suscribimos este documento en el momento que hacemos entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Técnica del Norte.

Ibarra, a los 27 días del mes de Abril de 2017



Leandra Madelyn Carrillo Ruiz.
C.I: 100350480-8

DEDICATORIA

A Dios, por haberme dado salud y fortaleza para seguir adelante en mi camino, dándome la fuerza para culminar esta etapa de mi vida.

Con mucho cariño a mis padres Cruz y Magdalena que me dieron la vida y han estado conmigo en todo momento, gracias por todo papá y mamá por darme una carrera para mi futuro y por creer en mí, aunque hemos pasado momentos difíciles siempre han estado apoyándome y brindándome todo su amor.

Los quiero con todo mi corazón y éste trabajo que requirió del apoyo de todos es para ustedes, por ser la última de sus hijos aquí esta lo que ustedes me brindaron, solamente les estoy devolviendo lo que me dieron en un principio.

A mi hermano Galo, por tus consejos de aliento, apoyo y por enseñarme que con sacrificio y perseverancia todo es posible.

A mi hermana Grace, quien con su sonrisa me contagia la alegría de la vida.

Madelyn Carrillo

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica del Norte por brindar ciencia y tecnología al servicio del Pueblo y darme la oportunidad de haber concluido con los estudios de tercer nivel; en especial a la Escuela de Ingeniería Agroindustrial y sus dignos catedráticos, que pusieron todos sus conocimientos, para que, mediante la investigación y el esfuerzo personal, lleguemos a culminar con éxito nuestra carrera.

A la Dra. Lucía Yépez mi directora de tesis quien con su paciencia y conocimientos guió ágil y acertada la ejecución de este proyecto. A mis asesores: MSc. Sania Ortega, Ing Luis Armando Manosalvas e Ing. Holguer Pineda que en forma oportuna, entusiasta y desinteresada me ayudaron y colaboraron en todo momento, al Dr. José Luis Moreno por su asesoramiento en cada etapa de la elaboración de este proyecto.

A mi amigos/as, gracias por pasar a mi lado los momentos de mi vida universitaria y por recordarme que la vida está hecha para vivirla a cada instante y disfrutarla a cada momento.

Madelyn Carrillo

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CONTENIDO	PÁGINAS
ÍNDICE DE CONTENIDOS	i
ÍNDICE DE TABLAS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	vii
RESUMEN.....	viii
SUMMARY	ix
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1 PROBLEMA.....	1
1.2 JUSTIFICACIÓN	2
1.3 OBJETIVOS	3
1.3.1 OBJETIVO GENERAL.....	3
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
1.4 HIPÓTESIS.....	3
1.4.1 HIPÓTESIS NULA.....	3
1.4.2 HIPÓTESIS ALTERNATIVA.....	3
CAPÍTULO II	4
MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 HONGOS	4
2.1.1 DEFINICIÓN	4
2.1.2 CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS.....	5
2.2 <i>PYCNOPORUS SANGUINEUS</i>	7
2.2.1 CARACTERÍSTICAS DEL <i>P. SANGUINEUS</i>	8
2.2.2 USOS.....	11
2.3 COLORANTES	11
2.3.1 CLASIFICACIÓN DE LOS COLORANTES	12
2.3.2 COLORANTES NATURALES.....	12

2.3.2.1 Colorantes naturales según su naturaleza química y factores que afectan la estabilidad.....	13
2.4. EXTRACCIÓN	15
2.4.1. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	16
2.4.1.1 Prensado	16
2.4.1.2 Maceración.....	16
2.4.1.3 Extracción con solvente en equipo soxhlet	17
2.5 SISTEMAS DE MEDICIÓN DEL COLOR.....	18
2.5.1 SISTEMA DE MEDICIÓN CIE.....	19
2.5.1.1 Valores triestímulo (x y z) y coordenadas de cromaticidad (x y) ...	19
2.5.1.2 Espacios de color (l* a* b*)	19
2.5.2 FACTORES EN LA CAPTURA DEL COLOR.....	20
2.6 TEÑIDO	22
2.6.1 PROCESO DEL TEÑIDO	24
2.6.2 SOLIDEZ DEL COLOR.....	25
4.6.3. SOLIDEZ A LA LUZ	25
CAPITULO III.....	26
MATERIALES Y MÉTODOS	26
3.1 CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.....	26
3.2. MATERIALES, EQUIPOS, INSUMOS Y HERRAMIENTAS	27
3.2.1. MATERIA PRIMA E INSUMOS	27
3.2.2. EQUIPOS	27
3.2.3. MATERIALES DE LABORATORIO	27
3.2.4. REACTIVOS	27
3.2.5. HERRAMIENTAS Y EQUIPO DE TRABAJO.....	28
3.3 MÉTODOS	28
3.3.1 FACTORES EN ESTUDIO	29
3.3.2. TRATAMIENTOS.....	29
3.3.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	30
3.3.4. CARACTERÍSTICAS DEL EXPERIMENTO	30
3.3.5 UNIDAD EXPERIMENTAL	30
3.3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA EL COLORANTE.....	30

3.3.7 ANÁLISIS FUNCIONAL	31
3.4. MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO	31
3.4.1. DIAGRAMA DE FLUJO DE OBTENCIÓN DE COLORANTE ...	31
3.4.2. DESCRIPCIÓN LITERAL DEL PROCESO	32
3.5. VARIABLES EVALUADAS	37
3.5.1. VARIABLES CUANTITATIVAS	37
3.5.2. ANÁLISIS DE LABORATORIO.....	39
CAPITULO IV	42
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
4.1. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA DE ACUERDO AL ESTADO VEGETATIVO	42
4.2 EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DEL COLORANTE	43
4.3 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL COLORANTE FINAL ...	48
4.3.1 CARACTERÍSTICAS DEL COLOR.....	49
4.5 DETERMINACIÓN DE LA SOLIDEZ DEL COLOR A LA LUZ.....	58
4.6. BALANCE DE MATERIALES.	67
CONCLUSIONES	68
RECOMENDACIONES	69
5. BIBLIOGRAFÍA CITADA	70
6. ANEXOS.....	76
ANEXO A. Resultado análisis del laboratorio	77
ANEXO B. Proceso de teñido.....	80
ANEXO C. Resultados solidez del color	83
ANEXO D. Normas	87

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Compuestos aislados de <i>P. sanguineus</i>	9
Tabla 2. Clasificación de los colores naturales según su naturaleza química.	13
Tabla 3. Iluminantes estándares establecidos por la CIE.	21
Tabla 4. Colores obtenidos con <i>P. sanguineus</i> con el uso de mordientes.....	23
Tabla 5. Fórmula para mordentar un kilogramo de lana de oveja.....	23
Tabla 6. Técnicas de tinción en hongos y líquenes.....	24
Tabla 7. Descripción de los tratamientos para la obtención del colorante.....	29
Tabla 8. Esquema de análisis de varianza ADEVA para el rendimiento del colorante.....	30
Tabla 9. Índice de solidez en escala de grises.....	41
Tabla 10. Análisis proximal hongo <i>P. sanguineus</i> en sus dos estados vegetativos.....	42
Tabla 11. Datos experimentales del rendimiento a partir del extracto colorante (mg/g).....	44
Tabla 12. Análisis de Varianza (ADEVA) para el Rendimiento a partir del extracto colorante.....	44
Tabla 13. Prueba tukey al 5% para el Rendimiento a partir del extracto colorante.....	45
Tabla 14. Prueba de diferencia mínima significativa para el factor A (estado vegetativo del hongo).....	45
Tabla 15. Prueba de diferencia mínima significativa para el factor B (tipo de solvente).....	46
Tabla 16. Análisis proximal del colorante cinabarina.....	48
Tabla 17. Datos experimentales de la luminosidad del colorante.....	50
Tabla 18. Análisis de Varianza (ADEVA) para la luminosidad (L*).....	50
Tabla 19. Prueba de diferencia mínima significativa para el factor B (tipo de solvente).....	51
Tabla 20. Datos del valor Hue (h°) calculado.....	52
Tabla 21. Análisis de Varianza (ADEVA) para Hue (h°).....	52
Tabla 22. Prueba de tukey al 5% para la interacción AxB, en el valor Hue.....	53

Tabla 23. Prueba de diferencia mínima significativa para el factor A (estado vegetativo del hongo).....	55
Tabla 24. Prueba de diferencia mínima significativa para el factor B (tipo de solvente).....	55
Tabla 25. Datos del valor de Croma (C*) calculado.....	57
Tabla 26. Análisis de Varianza (ADEVA) para la Cromaticidad (C*).....	57
Tabla 27. Índice de solidez del color a la luz artificial de lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con acetona	59
Tabla 28. Espacio del Color CIELAB de lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con acetona	60
Tabla 29. Espacio del Color CIELAB de lana tinturada con colorante extraído partir de cuerpos fructíferos con acetona y expuesta a 20 horas de luz artificial..	60
Tabla 30. Índice de solidez del color a la luz artificial de lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con hexano	62
Tabla 31. Espacio del Color CIELAB de lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con hexano.....	64
Tabla 32. Espacio del Color CIELAB de lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con hexano y expuesta a 20 horas de a la luz artificial	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de los colorantes	12
Figura 2. Fenoxazina.....	14
Figura 3. Extracción líquido-líquido por contacto continuo, con recuperación del disolvente.	16
Figura 4. Extractor soxhlet.....	17
Figura 5. Diagrama cromático (a*, b*) del espacio CIELAB.....	20
Figura 6. Diagrama de bloques para la obtención del colorante natural cinabarina	31
Figura 7. Contenido de cinabarina a partir del extracto colorante por cada tratamiento.....	46
Figura 8. Diagrama del color CIELAB para la interacción AxB (estado vegetativo x tipo de solvente).....	54
Figura 9. Representación del ángulo Hue por tratamientos	54
Figura 10. Interacción de los factores AxB, en la variable ángulo del tono Hue	56
Figura 11. Diagrama del color CIELAB para lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con acetona.	62
Figura 12. Resultado del índice de solidez del color en las dos muestras expuestas a 20 horas a la luz artificial.	64
Figura 13. Diagrama del color CIELAB para lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con hexano	66
Figura 14. Balance de materiales para la obtención del colorante natural cinabarina	67

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1. <i>P. Sanguineus</i> , recolectado en la Comunidad de Getsemaní, Cantón Ibarra, Provincia de Imbabura.	9
Fotografía 2. Recolección de <i>P. sanguineus</i>	32
Fotografía 3. Primordios secos de <i>P. sanguineus</i>	33
Fotografía 4. Cuerpos fructíferos secos de <i>P. sanguineus</i>	33
Fotografía 5. Trituración de carpóforos de <i>P. sanguineus</i>	34
Fotografía 6. Pesado de carpóforos triturados de <i>P. sanguineus</i>	34
Fotografía 7. Extracción continua sólido-líquido en equipo soxhlet.....	35
Fotografía 8. Evaporación del solvente acetona a temperatura ambiente (De 17 °C a 23 °C).....	36
Fotografía 9. Colorante cinabarina purificado	37
Fotografía 10. Lana tinturada con colorante extraído con acetona y expuesta a 20 horas de luz artificial.....	59
Fotografía 11. Diferencia de color de muestra patrón de lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con acetona y expuesta a 20 horas de luz artificial.....	60
Fotografía 12. Lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con hexano y expuesta a 20 horas de luz artificial	63
Fotografía 13. Diferencia de color de muestra original de lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con hexano y expuesta a 20 horas de luz artificial.....	65
Fotografía 14. Lana de oveja lavada.....	80
Fotografía 15. Pesado de la muestra de lana.....	81
Fotografía 16. Pesado de alumbre y baño del mordiente.....	81
Fotografía 17. Tinturación de lana de oveja con colorante cinabarina.....	82

RESUMEN

La presente investigación tuvo como propósito, obtener colorante natural cinabarina a partir del basidiomiceto *P. sanguineus* proveniente de la zona cálida de Lita. El trabajo se realizó por fases, la primera tuvo lugar a la caracterización de la materia prima, de acuerdo a su estado vegetativo tanto primordios como en cuerpos fructíferos con la finalidad de conocer sus características fisicoquímicas mediante análisis de humedad, cenizas, proteína total, extracto etéreo y las sustancias consideradas contaminantes como son arsénico, mercurio, plomo y cromo. Posteriormente se procedió a la extracción y obtención del colorante natural cinabarina aplicando el método de extracción soxhlet con la aplicación de un Diseño Completamente al azar con arreglo factorial AxB donde el factor A representó el estado vegetativo del hongo y el factor B el tipo de solvente siendo las variables evaluadas el rendimiento a partir del extracto colorante y los atributos del color luminosidad (L*), ángulo de tono (°h) y cromaticidad (C*).

Una vez obtenido el colorante se caracterizó mediante análisis fisicoquímicos de humedad, cenizas, actividad de agua, frente de retención y microelementos (As, Hg, Pb, Cr).

Con el análisis estadístico se determinó el rendimiento a partir del extracto colorante y del resultado obtenido se eligió los dos mejores tratamientos siendo estos T3 (cuerpos fructíferos con acetona) con 26,38% y T4 (cuerpos fructíferos con acetona) con 19,83% con los cuales se realizó el teñido de una fibra natural de lana, para posteriormente realizar la prueba de solidez del color mediante la exposición a la luz UV visible donde se obtuvieron como resultados 2 y 1,5 de solidez en escala de grises al exponerse a 20 horas de luz artificial, considerándose baja y deficiente-mala según la NTE INEN-ISO B02:2014.

Sin embargo la cinabarina al ser un metabolito secundario, podría ser utilizada como un agente antibiótico, de igual forma se implementaría en la industria alimenticia una vez determinado su grado de toxicidad.

PALABRAS CLAVE: *P. sanguineus*, extracción, cinabarina, rendimiento, fibra, solidez del color.

SUMMARY

The present research aimed to obtain cinnabarina natural dye from the basidiomycete *P. sanguineus* of the warm zone Lita. The work was carried out in phases, the first took place to the characterization of the raw material, according to its vegetative state both primordial and fruiting bodies in order to know their physicochemical characteristics through analysis of moisture, ash, total protein, ethereal extract and the substances considered pollutants such as arsenic, mercury, lead and chromium. We proceeded to the extraction and obtaining of the natural cinnabarina dye were carried out by applying the soxhlet extraction method with the application of a completely random design with factorial arrangement A x B where factor A represented the vegetative state of the fungus and factor B the type of Solvent, the variables being evaluated the yield from the coloring extract and the attributes of the color luminosity (L *), hue angle (°h) and chromaticity (C *).

Once the dye was obtained it was characterized by physicochemical analysis of moisture, ash, water activity, retention front and microelements (As, Hg, Pb, Cr).

With the statistical analysis, the yield was determined from the dye extract and from the obtained result the best two treatments were chosen: these were T3 (fruiting bodies with acetone) with 26.38% and T4 (fruiting bodies with acetone) with 19.83% With which the dyeing of a natural wool fiber was carried out, after the color fastness test was carried out by means of exposure to visible UV light where 2 and 1.5 grayscale fastness results were obtained when exposed to 20 hours of artificial light, considered low and poor-bad according to NTE INEN-ISO B02: 2014.

However, cinnabarina being a secondary metabolite, could be used as an antibiotic agent, just as it would be implemented in the food industry once its degree of toxicity has been determined.

KEY WORDS: *P. sanguineus*, extraction, cinnabarina, yield, fiber, color fastness.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 PROBLEMA

La diversidad biológica presente en Ecuador es muy variada y mega diversa, esto se debe principalmente a los diferentes pisos climáticos y hábitats presentes en el país, dando como resultado una biodiversidad distribuida de forma heterogénea en este territorio (Blackwell, 2011). Por ello, Ecuador se ubica entre los primeros del ranking mundial de los países mega diversos (M.A.E, 2015); albergando aproximadamente 96000 especies conocidas, dentro de las cuales se encuentran una variedad importante de hongos macromicetos (Pérez Daniëls, 2015).

En el Ecuador, particularmente en las zonas cálidas y tropicales, existe una riqueza fúngica, dentro de la misma, se encuentra el macromiceto conocido con el nombre común Hongo Rojo *P. sanguineus*, el cual tiene un escaso aprovechamiento agroindustrial y biotecnológico, esto se debe a la falta de conocimiento de las propiedades, usos, información tecnológica sobre la aplicabilidad en el área alimenticia y no alimenticia.

Lastimosamente la generación de una alternativa de industrialización y la transferencia de una tecnología de obtención de colorantes naturales a partir de macromicetos es escasa ya que en la actualidad existe una cantidad considerable de colorantes obtenidos a través de procesos sintéticos, claro está que estos colorantes presentan menores costos de producción y mayores características

funcionales y tecnológicas, pero no son saludables, esto se debe a la gran cantidad de químicos que contienen, los que pueden provocar efectos nocivos para la salud.

1.2 JUSTIFICACIÓN

En la actualidad el estudio de las cualidades que ostentan las distintas especies de hongos han tenido un auge, debido a las propiedades que presentan los mismos y a la diversidad de especies que se encuentran en el medio ambiente. Por lo que se ha convertido en una alternativa para la obtención de productos alimenticios o no, pudiendo de esta manera contribuir a la diversificación de actividades agroindustriales.

Es importante reconocer que al realizar esta investigación, se está aportando al aprovechamiento de hongos macromicetos existentes en el país, en especial basidiomicetos de la variedad *P. sanguineus* que actualmente no tiene un profundo estudio de sus propiedades, realidad que puede ser superada mediante el aprovechamiento biotecnológico, utilizando técnicas y transfiriendo nuevas tecnologías que permita aprovechar la diversidad existente en el país.

El presente trabajo de investigación tiene como propósito la obtención de un colorante natural a partir del macromiceto *P. sanguineus*, esto se debe a la preocupación de los consumidores por uso de colorantes artificiales, debido a su toxicidad o sus efectos a largo plazo, por lo que es necesario que muchos de ellos sean reemplazados por colorantes naturales (Cedano Maldonado y Villaseñor Ibarra , 2006), de esta manera este estudio se plantea como una excelente alternativa del cultivo y a la necesidad de aumentar la gama de colores naturales; utilizando técnicas y métodos que permitan la elaboración de producto transformados o de mayor valor agregado y el fortalecimiento del desarrollo productivo del país.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Extraer colorante natural (Cinabarina) del hongo rojo *Pycnoporus sanguineus*, utilizando dos solventes.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar mediante análisis fisicoquímicos la composición de la materia prima de acuerdo al estado vegetativo del hongo rojo *Pycnoporus sanguineus*.
- Evaluar el rendimiento según la influencia del estado vegetativo del macromiceto y el tipo de solvente a emplear en la extracción del colorante natural.
- Caracterizar mediante análisis fisicoquímicos el colorante obtenido.
- Evaluar la solidez del color a la luz en una fibra natural tinturada.

1.4 HIPÓTESIS

1.4.1 HIPÓTESIS NULA

El estado vegetativo del macromiceto y tipo de solvente, NO INFLUYEN en la extracción del colorante natural (Cinabarina) a base del hongo rojo *Pycnoporus sanguineus*.

1.4.2 HIPÓTESIS ALTERNATIVA

El estado vegetativo del macromiceto y tipo de solvente, INFLUYEN en la extracción del colorante natural (Cinabarina) a base del hongo rojo *Pycnoporus sanguineus*.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 HONGOS

2.1.1 DEFINICIÓN

En un estudio El Magno (2009), menciona que los hongos no son organismos vegetales ni amínales aunque se asemejen en algunas de sus características tanto a las como a los otros. Se asemejan a las plantas ya que tienen un estilo de vida sedentaria es decir que se encuentran fijos en un sustrato y que mientras estén vivos siguen creciendo. A los animales por tener compuestos celulares como la quitina constituyente principal del que está compuesto el revestimiento exterior de los insectos. (p. 6)

Los hongos son organismos que no producen su propio alimento, viven de la materia orgánica, ya sea viva o muerta y que dependen de otros compuestos y la descomposición para alimentarse de ella. Las especies que se desarrollan sobre materia viva son las parasitas que crecen dentro de las células vegetales o animales incluyendo al hombre. La especie desarrollada sobre materia orgánica muerta son los saprófitos que viven en un equilibrio ecológico; pudiendo crecer en el suelo, troncos o sobre desechos agrícolas, los que degradan para su alimento. (Guzman, Mata, y Salmones, 2010)

Los hongos están constituidos por el micelio, mientras que los cuerpos fructíferos son las estructuras que se observan a simple vista sobre el sustrato. Su principal función es producir esporas para ser diseminadas en el medio ambiente. Los cuerpos fructíferos son estacionales y de corta vida, al contrario del micelio, el cual puede permanecer en el sustrato por varios años.

En lo que respecta a la composición química de los hongos De Michelis y Rajchenberg, (2006) manifiesta que muchos hongos de la misma especie presentan valores de nutrientes similares, la relación de contenidos difiere de un hongo a otro, aún en hongos de la misma especie pero de distintos orígenes. Asimismo, es de esperar que el mismo hongo recolectado en distintos tiempos presente composición diversa y que también puede haber diferencias entre hongos de cultivo cuando se desarrollan en distintos sustratos. (p. 31).

Alonso y Cols (como citó Cárdenas González, Moctezuma Zarate y Acosta Rodríguez, 2010) en su trabajo menciona que la contaminación metálica supone una amenaza medioambiental importante para los seres vivos, ya que diversos metales que son micronutrientes esenciales, como el cobre y el zinc, resultan tóxicos en concentraciones elevadas, mientras que otros como cadmio, plomo mercurio y arsénico, son tóxicos a dosis mínimas.

2.1.2 CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS

Guzman *et al.* (2010) indican que existe una clasificación sencilla de los hongos, que los agrupa en microscópicos y macroscópicos. Los hongos microscópicos conocidos como micromicetos, no tienen fructificaciones macroscópicas, muy por el contrario de los hongos macroscópicos denominados macromicetos los cuales presentan cuerpos fructíferos grandes que se los puede definir a simple vista. (p.7)

Prats (2006) menciona que la clasificación se basa principalmente en las características morfológicas de las estructuras involucradas en la reproducción sexual, dentro de reino Fungi, se conocen cuatro filas: Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota y Chytridiomycota. El grupo de los Chytridiomycota se basa en la formación de esporas asexuales móviles mediante un flagelo posterior, mientras

que los otros tres grupos de hongos se distinguen por el mecanismo de reproducción sexual. (Ruiz Herrera, 2010, p.45)

Para Contreras Ramos, *et al.*, (2007) la clasificación de los hongos reconoce en cinco phyla.

- *Chytridiomycota*. Están en ambientes acuáticos y terrestres, considerándose los más primitivos conteniendo esporas móviles (Flageladas) en alguna etapa de su ciclo de vida.
- *Glomeromycota*. Con gran producción de esporas asexuales.
- *Ascomycota*. Grupo que incluye a los mohos y levaduras.
- *Basidiomycota*. Grupo amplio que incluye a los hongos venenosos, de repisa gelatinosos, bolas explotadoras, estrellas de tierra, cornetas apestosas, las royas y los carbones.
- *Hongos anamorfos*. Se conocen como fungi imperfecti, Deuteromycota u hongos mitospóricos.

2.1.2.1 Basidiomicetos

“Los basidiomicetos pertenecen al filo Basidiomycota e incluyen cerca de 300 000 hongos, entre ellos hongos de repisa y champiñones. Este filo incluye también mohos, hongos mutualistas que forman micorrizas y dos grupos de parásitos vegetales muy destructivos, la roya y el carbón o tizón” (Campbell y Reece, 2007 , p. 618)

En la caracterización de los hongos, para los basidiomicetos el autor relata:

Los basidiomicetos constituyen el grupo de hongos más familiar, ya que incluyen a los hongos de sombrero, conocidos en muchos países con el nombre de setas. Se conocen unos 1.353 géneros y unas 290.914 especies. La seta fructificación o basidiocarpo es el cuerpo fructífero en donde se producen las esporas. Está compuesto por masas de hifas fuertemente compactas (Curtis y Schnek, 2008, p. 526 - 527)

Dentro de los diversos linajes de hongos el autor describe a los basidiomicetos:

Los basidiomicetos son descomponedores importantes de la madera y de otras sustancias vegetales. Los basidiomicetos saprobios son los mejores descomponedores de la lignina, un polímero complejo que abunda en la madera. Muchos basidiomicetos descomponen la madera de árboles débiles o dañados y continúa la descomposición después de la muerte del árbol (Campbell y Reece, 2007, p. 618)

La fructificación de los Basidiomycota se denominan cuerpos fructíferos, carpóforo, esporóforo, basidiocarpo, esporocarpo o basidioma. Muchos de los cuerpos fructíferos son comestibles y varios de estos a su vez pueden ser alucinógenos, medicinales, tóxicos y venenosos. La longevidad de los carpóforos puede variar ya que depende de la incrustación de parásitos y las condiciones ambientales (Cepero *et al.*, 2012)

2.2 PYCNOPORUS SANGUINEUS

Pycnoporus es un hongo filamentoso perteneciente a los basidiomicetos, ha sido estudiado principalmente por su capacidad para degradar lignina. Este hongo ha sido de especial interés debido a su capacidad de oxidación y degradación de diferentes compuestos de estructura molecular compleja. Los metabolitos primarios y secundarios que produce el género *Pycnoporus* exhiben características diferenciales dependientes de cada especie y condiciones de cultivo (Acosta-Urdapilleta, *et al.*, 2010).

Carpóforos de esta especie son de color anaranjado intenso que se encuentran fuertemente adheridos al sustrato por la base, sus medidas por lo general se encuentran en un rango de 1,2 a 3, 5 cm de largo, 1,5 a 5 cm de ancho y 0,1 a 0,45 cm de grosor. En ejemplares viejos el color naranja es menos intenso sobre todo después de una lluvia ya que el pigmento se lava (Papinutti, 2013), hongos de esta especie poseen un color rojo anaranjado brillante mientras que al madurar cambian su coloración a rosado siendo únicamente anaranjados rojizos (Téllez-Téllez, *et al.*, 2016)

La especie *P.sanguineus*, es un hongo no comestible que crece de manera silvestre, este tipo de cultivo es apreciado por los compuestos que secreta como

son la lacasa y cinabarina, importantes metabolitos con valor biotecnológico Acosta-Urdapilleta *et al.* (2010)

Los cuerpos fructíferos del *P. sanguineus* generalmente son sésiles, de color rojo – naranja, fuerte en especímenes jóvenes y en especímenes muy maduros el color tiende a palidecer (Cepero *et al.*, 2012). La especie más parecida es *P. cinnabarinus*, la cual tiene basidiocarpos más gruesos y cuya coloración permanece intensa en los poros como se citó en (Pompa González *et al.*, 2011).

De acuerdo con los estudios de Kirk en 2001 tiene la siguiente clasificación taxonómica (como se citó en Cruz Muñoz, 2012)

- Reino: Fungi
- Phylum: Basidiomycota
- Clase: Basidiomycetes
- Orden: Polyporales
- Familia: Polyporaceae
- Género: *Pycnoporus*
- Especie: *P. sanguineus*

2.2.1 CARACTERÍSTICAS DEL *P. SANGUINEUS*

Pompa González, *et al.*, (2011) menciona las siguientes características del hongo *P. sanguineus*:

- Basidiocarpo anual, pileado-sésil.
- Hábito: solitario.
- Consistencia corchosa, con un tamaño de 20-73, 22-30,5-10 mm.
- Píleo semicircular, de dimidiado a flabeliforme.
- Color: naranja rojizo brillante cuando joven y al madurar anaranjado rojizo,
- Superficie: margen agudo, de liso a ondulado, delgado, estéril.

- Himenóforoporoide, de color anaranjado rojizo; poros 4-6 por mm, circulares de menos de 1 mm de profundidad.
- Hábitat: Crece sobre madera muerta y ocasiona pudrición blanca.
- Datos microscópicos: Sistema hifaltrimítico, esporas cilíndricas, de 5-6 x 2-3 μm , lisas, hialinas, inamiloides, de pared delgada.



Fotografía 1. *P. Sanguineus*, recolectado en la Comunidad de Getsemaní, Cantón Ibarra, Provincia de Imbabura.

Fuente: El autor

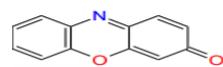
Correa *et al.*, (2005) indican que este tipo de hongo posee algunos tipos de pigmentos tales como ácido cinabarínico, cinabarina y tramesanguina totalmente demostrados además de otras dos pigmentaciones, se han aislado varios compuestos intensamente coloreados del tipo fenoxazin-3-ona. En la tabla 1 se presentan los compuestos aislados de *P. sanguineus*

Tabla 1. Compuestos aislados de *P. sanguineus*

Nombre común	Nombre IUPAC	Estructura
Cinabarina	2-amino-9-(hidroximetil)-3oxo-3H-fenoxazina-1-acido carboxílico.	
Ácido cinabarínico	3-amino-oxo-3H-fenoxazina-1,9-ácido dicarboxílico.	
Tramesaguina	2-amino-1-formil-3oxo-3H-fenoxazina-9-fenoxazin-3-ona.	

Fenoxazon

3H- fenoxazin-3-ona.



Fuente: (Téllez-Téllez, et, al., 2016)

Los colorantes pueden ser de origen animal, vegetal y mineral. Los extractos colorantes naturales se pueden obtener de las plantas, frutas, por medio de fermentaciones y algunos sintetizados por microorganismo. (Márquez González y García Vigoa, 2009). Dentro de un grupo muy especial existen varios géneros de hongos filamentosos que involucran la producción de colorantes (Reyes González y Franco Correa, 2009). Las especies del género *Pycnoporus* producen pigmentos, en el caso del *P. sanguineus* son de color rojos o anaranjados característicos de sus cuerpos fructíferos (Cruz Muñoz *et al.*, 2015).

Estudios realizados por Duarte Baumer (2009), en la obtención del colorante cinabarina a partir de *P. sanguineus* presenta un contenido del 24,47% extraído con el solvente polar acetato de etilo; en el mismo documento el autor cita a Smânia donde reporta el 23,11% de extracto bruto. Acosta-Urdapilleta *et al.* (2010) manifiesta que por cada 500 gramos de carpóforos se obtienen 83 gramos de colorante cinabrina purificado; por otra parte el mismo autor manifiesta que a partir del micelio cultivado en caja petri se obtiene de 6 a 9 mg/ml de colorante puro. Correa *et al.* (2005) en su investigación utiliza cuerpos fructíferos frescos macerados con acetona, obteniendo 95,5 mg de colorante puro a partir de un extracto concentrado de *P. sanguineus*.

Sullivan y Henry (como se citó en Acosta-Urdapilleta *et al.* 2012) indica la técnica utilizada de cromatografía en capa fina para obtener los frentes de retención identificando los pigmentos producidos por *P. sanguineus*, el proceso consiste en pulverizar 1 g de micelio seco, extraer los pigmentos en 3 ml de acetato de etilo; una vez secos disolverlos en 1 ml de metanol-piridina (3:1), colocar 20 µl de los pigmentos extraídos en placas de gel de sílice de 20 x 20 cm, desarrollar la placa en un sistema de disolventes de benceno: acetato de etilo: ácido acético glacial: ácido fórmico (12:6:1:1), correr las muestras hasta 15 cm y obtener los factores de retención (R_fs) de las manchas observadas en la placa e

identificar los pigmentos. Los valores Rf que indican la presencia de cinabarina se con este método son 0,41 y 0,45 bien definidas de color naranja.

La técnica para la purificación del colorante cinabarina a partir del extracto colorante del hongo *P. sanguineus*, describe Samania (como se citó en Duarte Baumer , 2009) realizada por medio de cromatografía en columna donde el extracto residuo se adsorbió sobre 15 g de sílice a continuación se cromatografió en una columna de vidrio (400 x 200 mm) con 35 g de gel de sílice (Carlo Erba) activada, con el uso de un sistemas creciente de polaridad acetato de etilo: metanol: ácido acético 98,5: 1: 0,5.

2.2.2 USOS

Se ha utilizado en medicina popular desde tiempos antiguos, tienen una gran importancia en la búsqueda de sustancias antivirales, antibacterianas y antifúngicas de sus metabolitos secundarios. *P. sanguineus*, es conocido popularmente como un hongo de podredumbre blanca de gran incidencia en países tropicales y subtropicales. (Cruz Muñoz, 2012)

En el estudio de Franco en 2005, indica que el macromiceto *P. sanguineus*, es utilizado para la producción de tintes así como para la cura de inflamaciones de la piel, enfermedades de la piel, enfermedades venéreas y la disentería. Por otra parte se ha podido comprobar que se puede tratar la micosis bucal y las verrugas al frotar el cuerpo fructífero. Kalotas señala que en Australia este hongo es utilizado por los indígenas para eliminar las placas blancas de las encías mientras que en Indonesia como antiparasitario y en Argentina para la suspensión de hemorragias, como se citó en Cabarroi Hernández *et al.*, 2012, p.36)

2.3 COLORANTES

Los colorantes son definidos como: “Aquellas sustancias naturales que añaden o devuelven algún color; se encuentran presentes como pigmentos en plantas, hojas y frutos” Cáceres, 1996 (como se citó en (Bonilla Ríos, Varón, y Garzón, 2014)

2.3.1 CLASIFICACIÓN DE LOS COLORANTES

En el escrito de Enríquez Machado (2005), menciona que de acuerdo con su origen o procedencia, los colorantes son obtenidos por fuentes naturales, ya sean microorganismos, vegetales, animales o minerales y aquellos producidos por síntesis química (sintéticos) incluyendo los idénticos a naturales.

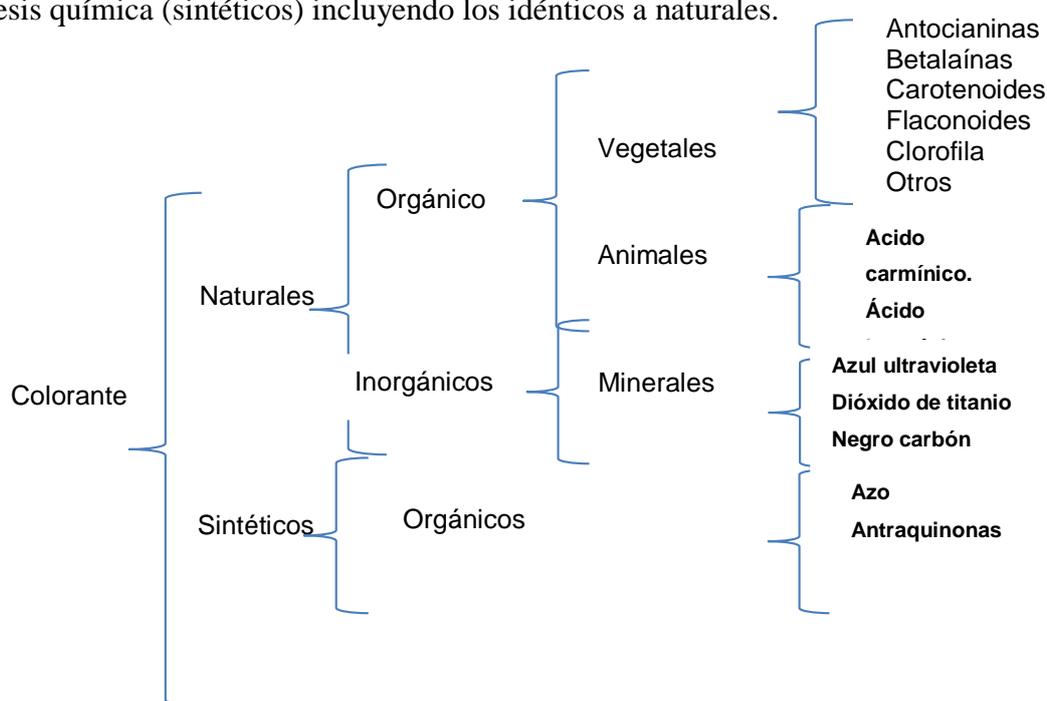


Figura 1. Clasificación de los colorantes

Fuente: Enríquez Machado (2005). *Clasificación de los colorantes*. Página. 58

Otra forma para clasificar a los colorantes es de acuerdo a su comportamiento químico, entre ellos se encuentran los ácidos, básicos y neutros. Este tipo de clasificación se realiza para conocer su estructura más estable para el proceso de teñido, Esteban Santos, (2008) menciona que los colorantes ácidos están compuestos por grupos ácidos carboxílicos o sulfónicos y tiñen de manera eficiente a fibras animales pero no a vegetales, en el mismo escrito el autor relata que los colorantes básicos contienen grupos amino y tiñen a fibras animales y las vegetales que hayan sido mordentadas. (p.50)

2.3.2 COLORANTES NATURALES

En los métodos fotométricos y electroquímicos de determinación de colorantes amarillos en alimentos en autor describe:

Los colorantes naturales son aquellos que se extraen de material animal, vegetal o mineral. Los grandes grupos de estos colorantes son: Antocianinos, Betalainas, Caramelo, Carotenoides, Clorofilas, Rivo flavina, Curcumina, Ácido Carmínico, etc. La capacidad de tinción de los colorantes naturales, en general, menor que la de los artificiales. Además, los colorantes de origen vegetal suelen presentar serios problemas en el sabor y olor de estabilidad frente a la luz y originar, por lo tanto, problemas en el sabor y olor de los alimentos que los contienen. La composición de estos colorantes naturales varía según las distintas variedades de las plantas que los originan, con la región geográfica y con la estación del año (Villaseñor Llerena, 1195, pág. 10).

2.3.2.1 Colorantes naturales según su naturaleza química y factores que afectan la estabilidad.

Los colorantes naturales pueden ser clasificados según su naturaleza química en diversos grupos (Tabla 2). Como fuentes naturales de estos colorantes podemos considerar las plantas superiores, algas, hongos y líquenes, así como algunos organismos marinos invertebrados (Rojas Rodríguez y Valencia Albitres, 2013)

Tabla 2. Clasificación de los colores naturales según su naturaleza química.

Naturaleza química	Algunos ejemplos	Color predominante
*Tetraporroles (lineales y cíclicos)	Ficobilinas	azul – verde amarillo – rojo
	Clorofila	verde
*Carotenoides (tetraterpenoides)	carotenoides	amarillo – anaranjado
*Flavonoides	Flavonas	blanco – crema
	Flavonoles	amarillo – blanco
	Chalconas	amarillo
	Auronas	amarillo
	antocianinas	rojo – azul
*Quinonas	Naftoquinonas antraquinonas	Rojo – azul – verde Rojo – púrpura
*Derivados indigoides e índoles	Indigo Betalainas	Azul – rosado Amarillo – rojo

Pirimidinas sustituidas

Pterinas
Flavinas
Fenoxazinas
fenazinas

Blanco – amarillo
Amarillo
Amarillo – rojo
Amarillo – púrpura

Fuente: Sinck Ugaz Olga, 1995 (como se citó en Rojas Rodriguez y Valencia Albitres, 2013). (p.12)

Los carotenoides son los pigmentos responsables de la mayoría de los colores amarillos, anaranjados y rojos de frutos y verduras. Los factores que influyen en la degradación de carotenoides en sistemas modelo son varios, como por ejemplo estructura del carotenoide, exposición a la luz, actividad de agua, temperatura, presencia de oxidantes o antioxidantes, presencia de sulfitos, etc. (Meléndez - Martínez y Vicario, F, 2014).

Los flavonoides son pigmentos naturales que se encuentran distribuidos en el reino vegetal, constituyendo la mayoría de los colores amarillos, rojo y azul, en este grupo se encuentra las antocianinas que presentan baja estabilidad durante el proceso y almacenamiento. Diversos factores como el pH (mayor estabilidad en medio ácido – cambia de rojo a azul), temperatura y la luz (fotodegradación) afectan a su estabilidad; se degradan fácilmente a temperaturas superiores a 40°C (Castañeda Sánchez y Guerrero Beltrán, 2015).

Lupiano Dias *et al.* (2016) en su trabajo describe a la fenoxazina como un compuesto heterocíclico, donde el color predominante es de amarillo a rojo Sinck Ugaz Olga, 1995 (como se citó en Rojas Rodriguez y Valencia Albitres, 2013). . La estructura de fenoxazina consta de una oxazina fusionado a dos anillos de benceno. Se produce en el núcleo central de un número de origen natural compuestos químicos tales como dactinomicina y tornasol. Los tintes del Nilo Azul y rojo del Nilo se fenoxazina también se basa en el núcleo.

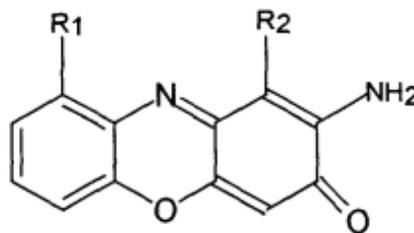


Figura 2. Fenoxazina

Fuente: (Marques, 2001)

Freitas, Ribeiro da Silva y Gomes, (2013) manifiesta que la fenoxazina es una sustancia fotoiniciadora es decir, sensible a la energía radiante. Colorantes de fenoxazina alguna vez fueron ampliamente utilizados para el teñido de seda, pero debido a la falta de resistencia a la luz han desaparecido con el tiempo en el mercado.

Todos los productos coloreados afrontan un problema, que es la degradación del color, Ordóñez, (2006) en su escrito describe de forma general a los factores que afectan la decoloración de los colorante, entre ellos se adjudican la foto degradación reflejándola disminución gradual de la intensidad de un color a lo largo de una superficie pintada por efecto de la luz. Esta puede ser causada por la luz solar, luz ultravioleta, luz fluorescente y la luz infrarroja, otro de los factores es la oxidación térmica que ocasiona una degradación que manifiesta un cambio de color, en la mayoría de los casos ocurre cuando se expone a temperaturas elevadas

2.4. EXTRACCIÓN

La extracción es la técnica más empleada para separar un producto orgánico de una mezcla de reacción o para aislarlo de sus frentes naturales. La separación de un componente se realiza por medio de un disolvente (Molina Buendía, 1989).

La extracción es una operación unitaria de transferencia de materia basada en la disolución de uno o varios de los componentes de una mezcla en un disolvente selectivo, los tipos de extracción son líquido-líquido y sólido-líquido (Costa López *et al.* 1984)

La extracción con disolventes es la técnica de separación de un compuesto a partir de una mezcla sólida o líquida, aprovechando las diferencias de solubilidad de los componentes de la mezcla en un disolvente adecuado. (Minor Margarito , Ortiz Trujillo , Quijano Olivares y Palacios Frías , 2015)

Costa López *et al.* (1984), menciona que en la extracción líquido-líquido consiste en la separación de un componente de una mezcla líquida mediante un disolvente y que en la mayoría de los casos se realiza por medio de destilación que genera algunas ventajas como separar componentes sensibles al calor sin la

necesidad de realizar una destilación al vacío, así mismo la separación de componentes imposibles de lograr unicamente con el punto de ebullición. Mientas tanto en la extracción sólido-líquido el mismo autor menciona que esta operación también se la conoce por lixiviación, percolación o lavado; la lixiviación consiste en obtener el compuesto valioso, la percolación se refiere a la forma de operación mientras que el lavado es la eliminación de un compuesto no deseado.



Figura 3. Extracción líquido-líquido por contacto continuo, con recuperación del disolvente.

Fuente: Costa López et al. 1984

2.4.1. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

2.4.1.1 Prensado

El prensado es la separación de un líquido mediante la compresión en condiciones que permitan que el líquido se escape al mismo tiempo que retiene el sólido, en la superficie de compresión, la presión se aplica mediante el movimiento en las paredes de retención en vez de emplear el bombeo del material a un espacio fijo, la finalidad es separar líquidos de sólidos de una mezcla mecánica. (McCabe, Smith y Harriott, 1994)

2.4.1.2 Maceración

La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido. El producto sólido posee una serie de compuestos solubles en el líquido extractante que son los que se pretende extraer. En general en la industria química se suele hablar de

extracciones; mientras que, cuando se trata de productos para consumo humano se emplea el término maceración. En este caso el agente extractante suele ser agua, pero también se emplean solventes orgánicos o inorgánicos que modificarán las propiedades de extracción del medio líquido (García Garibay, Quintero Ramirez y López Munguía, 2004)

2.4.1.3 Extracción con solvente en equipo soxhlet

Uno de los extractores más usados a escala de laboratorio es el llamado extractor soxhlet que se basa en que el disolvente extractor hierve en la caldera y después se condensa con agua fría y cae sobre el recipiente que contiene el sólido con el soluto a extraer y por medio del sifonar el disolvente arrastra el soluto extraído, finalmente el ciclo se repite (Costa López *et al.* 1984)

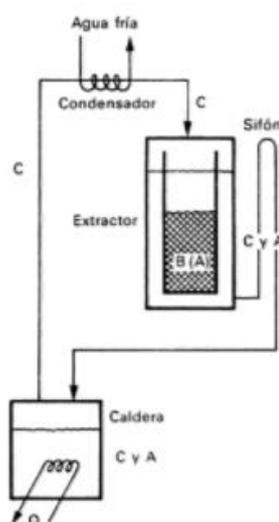


Figura 4. Extractor soxhlet.

Fuente: Costa López *et al.* 1984

Es un método que consiste en colocar el material a extraer, previamente molido y pesado, en un cartucho, el cual se introduce en la cámara de extracción, conectada a un balón de destilación y por otro extremo a un refrigerante; el disolvente presente en el balón de destilación se calienta hasta su ebullición, el vapor asciende y se condensa en el refrigerante, cayendo sobre el material, que cuando alcanza el nivel conveniente del solvente sifona por el tubo y regresa al balón. Este proceso se repite hasta que se consigue el agotamiento del material deseado. Es la disolución de uno o más componentes de una mezcla sólida por contacto de

un disolvente líquido. Esta operación unitaria, una de las más antiguas en la industria química, ha recibido muchos nombres, según la técnica más o menos completa utilizada para llevar a cabo. El término extracción también se emplea por lo común para describir esta operación, aunque también se aplica a todas las técnicas de separación que utilicen métodos de transferencia de masa. Es un proceso para separar un sólido de un líquido en el cual muchas sustancias biológicas, así como compuestos inorgánicos y orgánicos existentes en mezclas de diferentes compuestos en un sólido (García Garibay *et, al.*, 2004)

Duarte Baumer (2009), menciona la técnica para la obtención de un extracto colorante a partir de micelio de *P. sanguineus*; donde fracciones de micelio se colocan en un extractor Soxhlet, y la extracción se realiza con 100 ml de acetato de etilo durante 1,5 horas y el disolvente presente en el extracto se evapora en un evaporador rotatorio. Peiter Beninca, (2007) señala que el tiempo empleado para la extracción de 160 gramos carpóforos de *P. sanguineus* en 2 litros de diferentes solventes (hexano, etanol y diclorometano) es de 100 horas.

2.5 SISTEMAS DE MEDICIÓN DEL COLOR

Para dar solución a los problemas de evaluación del color se crearon sistemas de medición para poder cuantificarlo y expresarlo numéricamente, cuyo principio está basado en la cantidad de luz reflejada por el objeto. Uno de los primeros sistemas de medición de color fue el sistema Munsell creado en 1905, el cual utilizó un gran número de tarjetas de colores clasificadas de acuerdo a su tono, luminosidad y saturación; posteriormente el sistema evolucionó un poco más al asignarle una codificación de letras y números. De manera similar podemos mencionar el sistema Ostwald, y el sistema OSA-UCS creados en base a la comparaciones visuales de muestras de color en catálogos. La organización internacional de luz y color CIE (Commission Internationale de L'Eclairage) desarrolló dos importantes sistemas para la evaluación de color en términos de números basados en la medición de reflectancia espectral de la muestra. (La Guía MetAs, 2009)

2.5.1 SISTEMA DE MEDICIÓN CIE

2.5.1.1 Valores triestímulo (x y z) y coordenadas de cromaticidad (x y)

El concepto de los valores triestímulo está basado en la teoría de los tres componentes de color que establece que el ojo humano posee receptores de los tres colores primarios: rojo, azul y verde; y todos los colores son mezclas que se derivan de ellos. (Vásquez Riascos, 2015)

2.5.1.2 Espacios de color (I* a* b*)

Este sistema de medición también es conocido como CIELAB, expresa la luminosidad L* (claro u oscuro); a* y b* indican la orientación del color.

Los tres atributos que determinan el color son el tono, el brillo y la saturación.

-Brillo o luminosidad.- es el atributo que expresa la cantidad de luz reflejada por una superficie en comparación con la reflejada por una superficie blanca en iguales condiciones de iluminación; esto quiere decir que la luminosidad es el brillo y determina a la claridad u oscuridad de un tono. (Valero, 2013)

Para la determinación de la intensidad luminosa, se hace referencia a la siguiente ecuación:

$$L * = 116 \left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{\frac{1}{3}}$$

Donde: Y/Y_n= son los valores para un blanco de referencia para el iluminante

Fuente: (Vásquez Riascos, 2015)

-Tono o matiz.- es el color en sí, que relaciona la longitud de onda de cada color, son medidas en un plano cartesiano a través de la distribución de los colores rojo, amarillo, verde y azul; sus valores van desde 0 a 360°, (figura 3) .

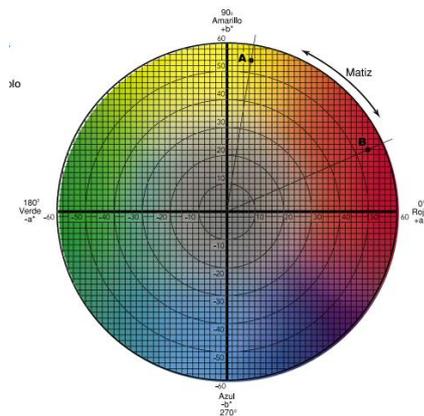


Figura 5. Diagrama cromático (a*, b*) del espacio CIELAB

Fuente: (La Guía MetAs, 2009)

- Saturación o intensidad.- se refiere a la fuerza o la intensidad de un color, es decir la viveza o la palidez del mismo, también puede definirse como la cantidad de gris que posee un color, mientras más gris posee es menos brillante o menos saturado es un color. Se obtiene por medio de la siguiente ecuación:

$$C = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

Fuente: (Vásquez Riascos, 2015)

2.5.2 FACTORES EN LA CAPTURA DEL COLOR

Rettig y Hen, (2014) describen al color como una propiedad de la materia que se relaciona directamente con el espectro de la luz, que se puede medir físicamente en términos de la energía radiante o la intensidad, y por la longitud de onda, el color que se percibe en ese momento puede variar dependiendo de la intensidad y el tipo de luz; al momento de describir el iluminante es conveniente hacerlo en términos de su longitud de onda .Un iluminante es una fuente de luz definida por una potencia espectral relativa, la cual puede estar físicamente disponible como una fuente estándar de iluminación. La CIE (Commission Internationale de l'Éclairage) definió las series de iluminantes A, B, C y más recientemente las D y F. Cada iluminante tiene un comportamiento diferencial en cuanto a la emisión de energía a lo largo del espectro de luz visible, el iluminante C sigue siendo un estándar de comparación. En la tabla 3 se detallan lo

Tabla 3. Iluminantes estándares establecidos por la CIE.

Iluminante	Simula a:	Temperatura °K
A	Lámpara de filamento incandescente	2854
B	Luz del medio día	4870
C	Luz diurna promedio	6750
D₆₅	Luz natural de día (iluminante C+UV)	6500
F₂	Lámpara fluorescente blanca	4200
F₇	Lámpara fluorescente luz de día.	6500

Fuente: (Rettig & Hen, 2014)

El espectro del color

La absorción de la luz es la que más influye en el color, la absorción de fotones provoca el paso de electrones a niveles energéticos superiores y resulta en una diferencia neta de energía que determina la longitud de onda de la radiación absorbida, así mismo la composición química y la estructura del material también afectan la reflectancia. Ciertas moléculas orgánicas contienen grupos cromóforos, los cuales son agrupaciones de átomos que pueden transformar la calidad espectral de la luz. (Rettig & Hen, 2014)

El Observador

La percepción del color comienza por el observador. Cuando el ojo humano mira un objeto expuesto a la luz incidente, la intensidad energética de la luz que percibe no es la reflejada por el objeto, sino la que resulta de multiplicar, para cada longitud de onda, la energía del espectro de reflexión del objeto por el valor de la visibilidad relativa a la misma longitud de onda. (Rettig y Hen, 2014, p.42). El sistema CIE estableció dos observadores al primero se lo denomina observador estándar 2°, u observador patrón de colorimetría para un campo foveal y al suplementario, observador 10° u observador para un campo visual amplio. La utilidad de estos observadores reside en evaluar la luminancia de una determinada luz desde el punto de vista perceptivo no fotométrico (Lozano, 1978)

El Entorno

Calvo y Durán (como se citó en Rettig y Hen, 2014) en su trabajo indica que la forma, el tamaño y el color del fondo sobre el que se halla la muestra, pueden ejercer un importante efecto de contraste, modificando la sensación que produce un determinado color sobre el observador.

2.6 TEÑIDO

El teñido es un proceso que requiere del uso de un producto tintóreo que es capaz de dar un color a una fibra textil que se logra por medio de la difusión del colorante hacia el interior de la fibra, sin que se produzca una reacción química del colorante con la fibra.

Las fibras de origen animal son de fácil teñido tanto por colorantes básicos como ácidos, esto se debe a que sus moléculas de naturaleza proteica contiene grupos carboxilo (ácidos) y amino (básicos), que se enlazan con los grupos básicos o ácidos del colorante respectivamente (Esteban Santos, 2008)

La utilización de los hongos para el uso tintoreo tiene poco tiempo en estudio ya que unicamente se han realizado investigaciones sobre el conocimiento de la estructura química de los pigmentos y la forma de extracción de estos compuestos, Arpin, Sundstrom y Grill (como se citó en Cedano Maldonado y Villaseñor Ibarra , 2006) observaron que los carpoforos de Basidiomycetes poseen propiedades tintoreas en fibras. Rice (como se citó en Cedano Maldonado y Villaseñor Ibarra , 2006), obtuvo colorantes en forma líquida que fueron probados a través del teñido de fibras.

En la variedad de hongo *P. sanguineus* del género Basidiomycetes ya se han estudiado sus propiedades tintóreas, siendo su papel más importante la aplicación como colorante orgánico en el teñido de fibras de lana. En la tabla 4 se puede apreciar los colores a partir de *P. sanguineus* aplicados sobre fibras naturales con el uso o no de un mordiente.

Tabla 4. Colores obtenidos con *P. sanguineus* con el uso de mordientes

Sin mordiente		Mordientes				
Especie		Sulfato ferroso	Sulfato de cobre	Dicromato de potasio	Alumbre	Cloruro de estaño
<i>P. sanguineus</i>	Gris anaranjado	Marrón Grisáceo	Verde embotado	Gris abedul	Gris anaranjado	---

Fuente: Cedano Maldonado y Villaseñor Ibarra (2006)

En la antigüedad, los mordientes que se utilizaban eran productos naturales como cenizas o cáscara de aguacate, pero en la actualidad se usan productos químicos, en su mayor parte son sales metálicas. Las más empleadas son aluminio, cobre y estaño. Pues al disolverse en agua caliente ocurre la separación del metal y la sal, uniéndose a los puentes de hidrógeno de las fibras, los cuales posteriormente, a la hora de introducirse al tinte atraerán el color.

Martínez (2009), manifiesta que el uso de mordientes como alumbre, sulfato de aluminio y potasio, aportan colores vivos y que principalmente no altera los colores naturales de las plantas.

En la tabla 5, se presenta las cantidades que se requieren de cada mordiente para el proceso de tinción de lana de oveja con hongos:

Tabla 5. Fórmula para mordentar un kilogramo de lana de oveja

Mordiente	Cantidad (g)
Alumbre	189
Crémor tártaro	94
Dicromato de potasio	34
Sulfato de cobre	125,5
Sulfato ferroso	157
Sulfato de sodio	20
Cloruro de estaño	160

Fuente: Cedano Maldonado y Villaseñor Ibarra (2006)

Las fibras en el baño tintóreo absorben él o los calores de diferente manera por lo que es recomendable la utilización de varias técnicas de tinción, en la siguiente tabla se detallan los principales métodos de tinción:

Tabla 6. Técnicas de tinción en hongos y líquenes

	Técnica			
	Directo	Fermentación	Premordentado	Posmordentado
Proceso	Sumergir en agua la fibra y el colorante	Remojo en amoníaco (puro o diluido en agua), dejando fermentar por varios días o semanas	Preparación de la fibra con mordiente antes del teñido.	La fibra se somete a un teñido directo y luego se sumerge en otro baño con los mordientes disueltos.
Ventaja	Permite conocer el potencial tintóreo de la especie.	-----	Facilita la captación y fijación de él o los colorantes disueltos	Varía el color adquirido durante la tinción o refuerza la solidez al lavado y a la luz.

Fuente: Cedano Maldonado y Villaseñor Ibarra (2006)

2.6.1 PROCESO DEL TEÑIDO

La tinturación con hongos se puede realizar con carpóforos frescos, secos o congelados. Primeramente se fracciona el cuerpo en trozos para ponerlos a hervir en agua por 10 minutos, para lograr la humectación del cuerpo fructífero (cuando está deshidratado) y el desprendimiento del tinte. La cantidad de material tintóreo que siempre se propone es de 1:1 con base al peso de la fibra seca. Luego se añaden las fibras no tratadas o las mordentadas, dejándose al fuego por un tiempo de 30 minutos agitándose constantemente de esta forma el colorante penetrará a todas las fibras de la lana. Finalmente se dejan enfriar y se enjuagan secándose a la sombra. (Cedano Maldonado y Villaseñor Ibarra , 2006)

Para evaluar la calidad del colorante se valora a través de observar la solidez del color, la resistencia a la luz y al lavado de la fibra.

2.6.2 SOLIDEZ DEL COLOR

La Asociación Americana de químicos de textil y coloristas (AATCC) (como se citó en Lockuán Lavado, 2012) menciona que la solidez del color a la luz es la resistencia de un material a cambiar sus características del color y transferir su coloración a materiales adyacentes, o ambos como resultado de la exposición del material a cualquier entorno que puede existir durante su procesamiento, análisis, almacenamiento y uso.

4.6.3. SOLIDEZ A LA LUZ

La solidez del color a la luz se entiende como la resistencia de un material al cambio de las características del color como consecuencia a su exposición a la luz solar o de una fuente de luz artificial. Existen algunas opciones aplicables para la realización de esta prueba, Lockuán Lavado (2012), describe el principio de este ensayo:

La prueba de solidez del color a la luz consiste en colocar una muestra del textil junto a un estándar y exponerlas a una fuente de luz en determinadas condiciones. La evaluación se realiza por comparación del cambio de la parte expuesta con la parte oculta o con la parte no expuesta original, utilizando una escala de grises para el cambio de color, o por medición instrumental del color. (p.157)

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El desarrollo de la investigación relacionado a la caracterización del hongo rojo *P. sanguineus*, extracción del colorante y caracterización de la cinabarina obtenida se llevó a cabo en el laboratorio de análisis físico-químicos y microbiológicos de la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales de la Universidad Técnica del Norte, ubicada en el cantón Ibarra.

Provincia:	Imbabura
Cantón:	Ibarra
Parroquia:	El Sagrario
Situación Geográfica	
Altitud:	2250 m.s.n.m.
Latitud:	0°21 'NORTE
Longitud:	78°08 'OESTE
Características climáticas	
Temperatura media anual:	18 ° C
Humedad Relativa media anual:	73%.
Pluviosidad media anual:	51.1 mm/día

Fuente: Estación de Meteorología e Hidrología de la ciudad de Ibarra, Granja Experimental "Yuyucocha" de la Universidad Técnica del Norte (2016).

3.2. MATERIALES, EQUIPOS, INSUMOS Y HERRAMIENTAS

3.2.1. MATERIA PRIMA E INSUMOS

- Primordios y cuerpos fructíferos del hongo rojo “*P. sanguineus*”
- Fibra natural de lana de oveja

3.2.2. EQUIPOS

- Balanza analítica
- Sistema extractor soxhlet
- Colorímetro (Specord 250 plus)
- Lámpara de arco de xenón (Trufade 200)

3.2.3. MATERIALES DE LABORATORIO

- Matraz de fondo plano
- Dedal de celulosa
- Papel Filtro
- Probetas
- Pinzas
- Soporte universal
- Malla de asbesto
- Vaso de precipitación
- Erlenmeyer
- Pipetas
- Bureta
- Mortero
- Plancha eléctrica de calentamiento

3.2.4. REACTIVOS

- Acetona (C₃H₆O).
- Hexano (C₆H₁₄)
- Placas de silicagel para cromatografía en capa fina
- Silicagel para cromatografía de 60-200 Um

- Acetato de etilo (C₄H₈O₂)
- Metanol (CH₃OH)
- Benceno (C₆H₆)
- Ácido acético glacial (CH₃COOH)
- Ácido fórmico (CH₂O₂)
- Sulfato de aluminio (Al₂(SO₄)₃)
- Sulfato de potasio (K₂SO₄)

3.2.5. HERRAMIENTAS Y EQUIPO DE TRABAJO

- Recipientes plásticos y de aluminio
- Fundas ziploc
- Cuchilla retráctil
- Amarracables
- Mandil
- Mascarillas
- Guantes de Látex

3.3 MÉTODOS

La presente investigación se realizó por fases, la primera tuvo lugar la caracterización de la materia prima, hongo rojo *P. sanguineus*, de acuerdo a su estado vegetativo tanto primordios como cuerpos fructíferos con la finalidad de conocer sus características fisicoquímicas mediante análisis de humedad, cenizas, proteína total, extracto etéreo, fibra bruta, y las sustancias consideradas contaminantes como son arsénico, mercurio, plomo y cromo, posteriormente se procedió a la extracción y obtención del colorante natural cinabarina aplicando el método de extracción soxhlet con la aplicación de un Diseño Completamente al azar DCA con cuatro tratamientos. Una vez obtenido el colorante se caracterizó mediante análisis fisicoquímicos de humedad, cenizas, y microelementos como arsénico, mercurio, plomo y cromo. Luego del análisis estadístico se determinó el rendimiento y del resultado obtenido se eligió los dos mejores tratamientos con los cuales se realizó el teñido de una fibra natural de lana, para posteriormente realizar la prueba de solidez del color mediante la exposición a la luz UV visible.

3.3.1 FACTORES EN ESTUDIO

Para evaluar el efecto del estado vegetativo del hongo y el tipo de solvente en la obtención del colorante natural (cinabarina) a partir del hongo rojo, se tomó en consideración los siguientes factores en estudio:

Factor A: estado vegetativo del hongo rojo *P. sanguineus*.

Se estudiaron los dos estados vegetativos de macromiceto

A1: Primordios

A2: Cuerpos fructíferos

Factor B: tipo de solvente

Se estudiaron dos tipos de solventes de diferente polaridad.

B1: Acetona

B2: Hexano

3.3.2. TRATAMIENTOS

La combinación de los factores en estudio A y B, el estado vegetativo y los solventes respectivamente, proporcionaron 4 tratamientos, los cuales se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 7. Descripción de los tratamientos para la obtención del colorante.

Tratamientos	Estado vegetativo	Solvente	Combinaciones	Descripción
T1	A1	B1	A1B1	Primordios+ Acetona
T2	A1	B2	A1B2	Primordios + Hexano
T3	A2	B1	A2B1	Cuerpos fructíferos + Acetona
T4	A2	B2	A2B2	Cuerpos fructíferos + Hexano

Fuente: El autor

3.3.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

En la presente investigación experimental se empleó un Diseño Completo al Azar (DCA) con arreglo factorial A x B, donde el Factor A representa el estado vegetativo del macromiceto, con 2 niveles, el Factor B son los tipos de solventes con 2 niveles, resultando 4 tratamientos los cuales se repitieron 3 veces, además se realizó la prueba de Tukey al 5% para tratamientos y la prueba de Diferencia Mínima Significativa para factores.

3.3.4. CARACTERÍSTICAS DEL EXPERIMENTO

Número de tratamientos: Cuatro (4)

Número de repeticiones por tratamiento: Tres (3)

Número de unidades experimentales: Doce (12)

3.3.5 UNIDAD EXPERIMENTAL

La unidad experimental estuvo constituida por 10g de hongo rojo *P. sanguineus* seco y pulverizado en sus dos estados vegetativos.

3.3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA EL COLORANTE

El esquema del análisis estadístico se presenta en la siguiente tabla:

Tabla 8. Esquema de análisis de varianza ADEVA para el rendimiento del colorante

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	12
Tratamientos	3
Estado vegetativo (Factor A)	1
Solvente (Factor B)	1
Interacción (A x B)	1
Error Experimental	8

Fuente: El autor

3.3.7 ANÁLISIS FUNCIONAL

Coefficiente de Variación (CV)

Tratamientos: Tukey al 5%

Factores: (DMS) Diferencia Mínima Significativa.

3.4. MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO

La obtención de colorante natural (cinabarina) se basó en estudios de Acosta-Urdapilleta *et al.*, (2010), con modificación en cuanto al método utilizado para la extracción, considerando otras investigaciones, enfocándose en el rendimiento obtenido por cada uno de ellos en diferentes etapas del proceso.

3.4.1. DIAGRAMA DE FLUJO DE OBTENCIÓN DE COLORANTE

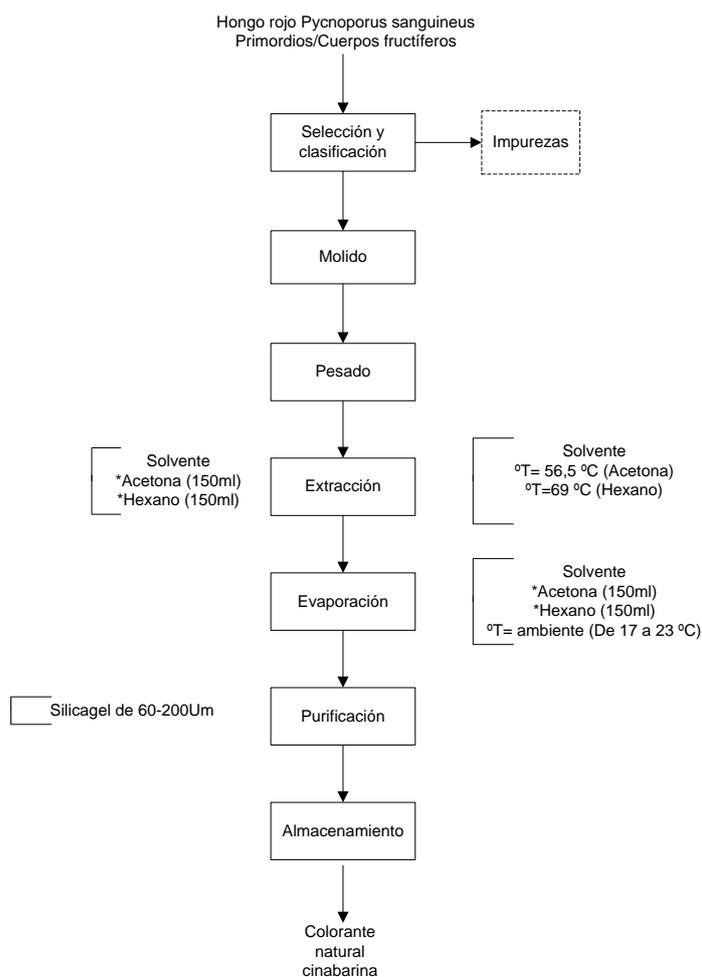


Figura 6. Diagrama de bloques para la obtención del colorante natural cinabarina

Fuente: El autor

3.4.2. DESCRIPCIÓN LITERAL DEL PROCESO

Se detalla a continuación el proceso para la obtención del colorante natural del hongo rojo *P. sanguineus*.

Recolección de la materia prima, hongo rojo *P. sanguineus*

Los Macromicetos de *P. sanguineus* utilizados en la presente investigación fueron recogidos de troncos de madera en descomposición de la zona cálida de la parroquia de Lita, Cantón Ibarra. Las muestras tomadas, se colocaron en fundas ziploc que posteriormente fueron llevadas al laboratorio de análisis físico-químicos y microbiológicos de la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales (FICAYA) para la respectiva preparación de la muestra.



Fotografía 2. Recolección de *P. sanguineus*

Fuente: El autor

Selección y clasificación

Se realizó de forma manual, con la finalidad de eliminar cualquier tipo de impurezas no relacionadas a la investigación. Además se tomó en cuenta los estados vegetativos del macromiceto a estudiar, seleccionando hongos en ambos estados y separando aquellos que no cumplan con las características del hongo.



Fotografía 3. Primordios secos de *P. sanguineus*

Fuente: El autor



Fotografía 4. Cuerpos fructíferos secos de *P. sanguineus*

Fuente: El autor

Molido

Una vez secos los primordios y cuerpos fructíferos, se procedió a triturar en partículas pequeñas con la ayuda de un mortero, esto con el propósito de aumentar el área de contacto sólido-líquido en la siguiente fase.



Fotografía 5. Trituración de carpóforos de *P. sanguineus*

Fuente: El autor

Pesado

Una vez obtenido el hongo pulverizado, con la ayuda de una balanza digital se registró el peso en gramos de primordios y cuerpos fructíferos del hongo rojo *P. sanguineus*.



Fotografía 6. Pesado de carpóforos triturados de *P. sanguineus*

Fuente: El autor

Extracción

La técnica utilizada fue la de extracción continua sólido-líquido en equipo soxthleth, primeramente se colocó 10 gramos de hongo seco y pulverizado en un dedal de celulosa y éste a su vez se colocó en el interior de la cámara extractora, a

continuación se añadió 150 ml del solvente utilizado para la extracción (acetona y hexano) en el matraz de fondo plano, se procedió a ensamblar el equipo extractor y se inició con la extracción, se pudo observar que el vapor del solvente sube hasta el condensador y el líquido condensado cae sobre el dedal que contiene el material sólido, al llenarse la cámara extractora con el líquido condensado por medio del sifonador regresa el solvente al matraz arrastrando el compuesto deseado; éste proceso continuo tuvo una duración de 5 horas.



Fotografía 7. Extracción continua sólido-líquido en equipo soxhlet

Fuente: El autor

Evaporación y pesado

Esta fase consistió principalmente en la evaporación del solvente a temperatura ambiente (17 a 23°C), la duración de este proceso fue de 5 días, obteniendo un extracto colorante seco que posteriormente con la ayuda de una balanza analítica se registró el peso residual en el matraz.



Fotografía 8. Evaporación del solvente acetona a temperatura ambiente (De 17 °C a 23 °C)

Fuente: El autor

Purificación

El proceso de purificación consistió en dos etapas que se detallan a continuación:

1. Cromatografía en capa fina: Con los extractos de acetona/hexano de *P. sanguineus* se realizó una cromatografía en capa fina para obtener los frentes de retención (Rf) de los pigmentos producidos.

Procedimiento: Se disolvió 1g del extracto colorante seco en 1ml de acetato de etilo-metanol (1:2) como fase móvil, como fase estacionaria se utilizó placas de gel de sílice y sobre éstas se colocó 20µl aproximadamente de la fase móvil y se corrieron en un sistema de disolventes de benceno-acetato de etilo-ácido acético glacial-ácido fórmico (12:6:1:1).

2. Cromatografía en columna: Una vez determinada la presencia de cinabarina se realizó la purificación del compuesto

Procedimiento: Se realizó el montaje de la columna empaquetándola con lana de vidrio situada en la parte del estrechamiento para luego colocar 1 cm de arena de mar; para el empaquetamiento de la columna se utilizó como absorbente 35 gramos de gel de sílice activado y como eluyente un sistema creciente de polaridad compuesto por acetato de etilo-metanol-ácido acético en una relación 98,5:1:0,5. Finalmente para el proceso de separación de los compuestos se pesaron 2,5 g del extracto colorante obtenido con acetona o hexano y se absorbió en 5 g de sílice que se colocaron en la parte superior de la columna y con la ayuda

de una pipeta se va añadiendo porciones del eluyente el cual permite la separación de los diferentes compuestos y a medida que emergen de la columna se recogen en frascos de vidrios pequeños previamente etiquetados.



Fotografía 9. Colorante cinabarina purificado

Fuente: El autor

3.5. VARIABLES EVALUADAS

3.5.1. VARIABLES CUANTITATIVAS

En el colorante

1. Evaluación del rendimiento del colorante final

- **Porcentaje de rendimiento.-** Con la ayuda de la balanza se midió el peso inicial del extracto seco del colorante obtenido a partir del hongo rojo *P. sanguineus* y al finalizar el proceso de purificación de la cinabarina de igual forma se registró la cantidad obtenida. El rendimiento se calculó a partir del extracto colorante aplicando la siguiente fórmula:

$$\bullet \quad \%R = \frac{\text{Producto final}}{\text{Materia prima base seca}} * 100$$

2. Determinación del color de la cinabarina

Para la medición de color del colorante final se colocó la cinabarina en estado sólido en el espectrofotómetro para su medición.

El color se midió utilizando el espectrofotómetro de reflectancia con esferas de doble haz (modelo Specord 250 plus) en escala CIE L*a*b*, con el iluminante C y ángulo estándar de observador de 2°.

Los resultados obtenidos fueron las coordenadas L*a*b* dónde: L* representa la luminosidad, a* representa una variación del color de verde a rojo y b* representa la variación de azul-amarillo. (Valero, 2013)

- **Luminosidad (L*).**- Permitted conocer la intensidad luminosa del color, es decir el grado de claridad del colorante, mediante un rango de L* que va desde L=0; que representa al color negro u oscuros y un L=100; que representa al color blanco o claros.

Para la determinación de la intensidad luminosa, se hace referencia a la siguiente ecuación:

$$L^* = 116 \left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{\frac{1}{3}} - 16$$

Donde:

Y/Y_n= son los valores para un blanco de referencia para el iluminante.

Fuente: (Vásquez Riascos, 2015)

A partir del componente a* y b* se calculó el ángulo de tono Hue y la cromaticidad mediante la Ecuación 1 y 2 respectivamente

- **Ángulo de la medición polar (h°).**- conocida como la expresión hue, permitió distinguir el color rojo del azul y así mismo de amarillo a verde. Para realizar el cálculo de h°, se necesitó conocer los valores del eje a* y b* que fueron obtenidos directamente por colorimetría y se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$h^{\circ} = \arctan \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (1)$$

Fuente: (Vásquez Riascos, 2015)

- **Croma (C).**- Con este valor calculado se pudo determinar la pureza o la intensidad del colorante y se obtuvo por medio de la siguiente ecuación:

$$C = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (2)$$

Fuente: (Vásquez Riascos, 2015)

Donde:

a* = eje rojo - verde valores positivos corresponden a rojo y los negativos al color verde

b* = eje azul – amarillo valores positivos corresponden a amarillo y los negativos al azul

3.5.2. ANÁLISIS DE LABORATORIO

Los análisis fisicoquímicos fueron realizados en el Laboratorio de Uso Múltiple de la Facultad en Ciencias Agropecuarias y Ambientales, mientras que la prueba de solidez del color a la luz artificial se realizó en los laboratorios de la Carrera de Ingeniería Textil de la Facultad en Ciencias Aplicadas de la Universidad Técnica del Norte.

En la materia prima:

1. Análisis fisicoquímicos de la composición del hongo rojo *P. sanguineus*, en sus dos estados vegetativos

- **Extracto etéreo:** Permitió conocer el contenido de grasa total del hongo rojo y se determinó por el método gravimétrico según el método AOAC 920.85
- **Humedad:** Se evaluó con la finalidad de conocer el porcentaje de agua presente en el hongo después del proceso de secado, para éste ensayo se utilizó el método AOAC 925.10.
- **Proteína:** Permitió conocer la calidad nutricional del hongo rojo y se determinó mediante el método de ensayo AOAC 920.87
- **Cenizas:** La finalidad de éste ensayo fue conocer las sustancias no combustibles presentes en el hongo mediante el método de la AOAC 923.03
- **Micro elementos:** En los hongos recolectados en campo se determinó la presencia o ausencia de sustancias consideradas contaminantes como son arsénico, mercurio, cromo, plomo, mediante el método instrumental de absorción atómica.

En el colorante obtenido:

1. Análisis fisicoquímicos en el colorante final

- **Cenizas:** Permitió conocer el contenido de sustancias inorgánicas no combustibles del colorante final y se determinó mediante el método AOAC 923.03
- **Humedad:** Se evaluó con la finalidad de conocer el porcentaje de humedad que contiene el colorante obtenido después de su proceso de extracción, para éste ensayo se utilizó el método AOAC 925.10
- **Actividad de agua:** Se realizó con la finalidad de conocer la disponibilidad de agua para el desarrollo de microorganismos. Para el análisis de dicha variable se realizó en el equipo marca Aw-WERT – MESSER. La actividad de agua tiene un valor máximo de 1 y mínimo de 0.
- **pH:** Se determinó con la finalidad de conocer si el compuesto obtenido es ácido o alcalino, se realizó por medio del Potenciómetro Jenway (modelo 3510).
- **Micro elementos:** mediante el método instrumental de absorción atómica se determinó la presencia o ausencia de sustancias consideradas como contaminantes (arsénico, mercurio, cromo, plomo)

2. Solidez del color a la luz

La evaluación de la solidez del color a la luz en fibra natural de lana tinturada, se realizó de acuerdo a la norma NTE-INEN-ISO 105 B02:2014, en lámpara de arco de xenón ISO 105-B02:1994

El principio del método es:

La probeta del textil, se expuso a la luz artificial bajo las condiciones que se especifican en la norma; como son temperatura inicial y final de 36 °C, humedad relativa inicial y final de 45% y a una velocidad de 5rpm. La solidez se valoró comparando la degradación del color de la probeta con el tejido patrón. Los resultados están orientados en una escala de grises del 1 al 5; donde el número 5

representa la mayor calificación expresada como excelente y la de menor valor que es 1 indica que la muestra es muy deficiente en la fijación de color.

Tabla 9. Índice de solidez en escala de grises

Calificación	Valoración
5	Excelente
4-5	Muy buena
4	Buena
3-4	Regular buena
3	Regular
2-3	Mediana
2	Baja
1-2	Deficiente – mala
1	Muy deficiente

Fuente. Norma ISO 105-B02:1994

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación, “Extracción de colorante natural (cinabarina) del hongo rojo *P. sanguineus*, utilizando dos solventes”, se presentan los resultados obtenidos.

4.1. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA DE ACUERDO AL ESTADO VEGETATIVO

Se utilizó como materia prima primordios y cuerpos fructíferos del hongo rojo *P. sanguineus*, en la tabla 10 se presentan los resultados del análisis proximal del hongo utilizado en la extracción de colorante natural cinabarina como producto final:

Tabla 10. Análisis proximal hongo *P. sanguineus* en sus dos estados vegetativos

Parámetro	Unidad	Resultado	
		Primordios	C. Fructíferos
Humedad	%	13,17 ± 0,20	8,19 ± 0,33
Cenizas	%	6,32 ± 0,27	8,67 ± 0,27
Proteína total	%	18,38 ± 0,28	20,8 ± 0,26
Extracto etéreo	%	0,54 ± 0,06	0,65 ± 0,04

Sustancias contaminantes

Arsénico (As)	mg/Kg	No detectado	No detectado
Cromo (Cr)	mg/Kg	No detectado	No detectado
Mercurio (Hg)	mg/Kg	No detectado	No detectado
Plomo (Pb)	mg/Kg	No detectado	No detectado

Fuente: El autor

Los resultados de la tabla 10, están expresados en base seca. El contenido de agua tanto en primordios como en cuerpos fructíferos es baja en un rango entre 8,19% al 13,17%, la cantidad de extracto etéreo es baja en sus dos estados vegetativos categorizándose como un basidiomiceto bajo en grasa. El contenido de cenizas en primordios es de 6,32% y en cuerpos fructíferos de 8,67% conociendo así la materia inorgánica no combustible al inicio del proceso de la obtención del colorante; ésta variación se debe a factores ambientales y la composición del suelo donde se desarrolló el hongo, tal como menciona en su trabajo De Michelis y Rajchenberg, (2006) que la composición química de los hongos, a pesar que presentan valores de nutrientes similares, la relación de contenidos difiere de un hongo a otro, aún en hongos de la misma especie pero de distintos orígenes. Asimismo, es de esperar que el mismo hongo recolectado en distintos tiempos presente composición diversa.

Los hongos fueron recolectados en campo por tanto se realizó la determinación de sustancias contaminantes mediante el método de absorción atómica expresados en mg/Kg, no se detectó el contenido de estos compuestos. Hurtado C, Torres G, y Peña S, (2010) señala que la preferencia de los hongos por metales pesados es específico en cada especie. No es sorprendente que diferentes especies de hongos de pudrición blanca difieran en el grado de su tolerancia a los metales pesados.

4.2 EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DEL COLORANTE

El rendimiento se refiere a la cantidad de producto terminado, obtenido a partir de una determinada cantidad de materia prima.

En la tabla 11, se aprecian las cantidades de colorante cinabarina extraído a partir del extracto colorante del hongo *P. sanguineus*, expresado en mg/g.

Tabla 11. Datos experimentales del rendimiento a partir del extracto colorante (mg/g)

	tra/rep	I	II	II	Σt	MEDIA
T1	A1B1	146,60	177,10	179,90	503,60	167,87
T2	A1B2	133,30	131,70	158,75	423,75	141,25
T3	A2B1	299,6	326,90	318,15	944,65	314,88
T4	A2B2	208,80	205,5	190,75	605,05	201,68
	Σr	788,30	841,20	847,55	2477,05	825,68

Fuente: El autor

El contenido de colorante cinabarina del hongo *P. sanguineus* oscila entre 326,90 mg/g y 131,70 mg/g. El tratamiento con mayor contenido fue T3 y el menor fue T2.

Tabla 12. Análisis de Varianza (ADEVA) para el Rendimiento a partir del extracto colorante

<i>F de V</i>	Gl	SC	CM	F ₀	
TOTAL	11	24717,25			
TRATAMIENTOS	3	23979,17	7993,06	86,64	**
ESTADO VEGETATIVO (A)	1	16676,84	16676,84	180,76	**
SOLVENTE (B)	1	6005,45	6005,45	65,09	**
INTERACCIÓN (AXB)	1	1296,88	1296,88	14,06	**
ERROR EXPERIMENTAL	8	738,0850	92,261		

Nota: ** Altamente significativo, * Significativo. La significación estadística se evidenció cuando F₀ > F tabular

Fuente: El autor

CV: 4,96 %

En el análisis de varianza realizado para el rendimiento se aprecia que existe alta significación estadística para tratamientos es decir que el estado vegetativo del hongo y el solvente utilizado influye en la extracción del colorante; además existe alta significación estadística para factores A y B tal como se observa en la tabla 12.

Al existir diferencia estadística altamente significativa para tratamientos, se procedió a realizar la prueba de significación tukey al 5% y la prueba de DMS para los factores A y B.

Tabla 13. Prueba tukey al 5% para el Rendimiento a partir del extracto colorante

Tratamientos	Medias (mg/g)	Rangos
T3 (A2B1)	263,88	a
T4 (A2B2)	198,35	b
T1 (A1B1)	168,53	c
T2 (A1B2)	144,58	c

Fuente: El autor

En la tabla 13, correspondiente a la prueba tukey (5%), se observa que los tratamientos presentan rangos diferentes, es decir que existe diferencia estadística entre sus medias calculadas ya que se utilizaron diferentes estados vegetativos del hongo y solventes de diferente polaridad; por lo tanto, se puede afirmar que los cuerpos fructíferos así como el solvente medianamente polar acetona influyen significativamente en la cantidad de colorante cinabarina extraído. El mejor tratamiento es T3, ya que presenta mayor cantidad de cinabarina, seguido por el T4 conformado por cuerpos fructíferos y el solvente no polar hexano, posteriormente están los tratamientos T1 y T2 que no presentan diferencia entre sus medias considerándose estos dos tratamientos semejantes.

Tabla 14. Prueba de diferencia mínima significativa para el factor A (estado vegetativo del hongo)

Factores	Medias (mg/g)	Rangos
----------	---------------	--------

A2	231,12	a
A1	156,56	b

Fuente: El autor

El mayor contenido de cinabarina se logra extrayéndolo a partir de cuerpos fructíferos (A2) a diferencia de los primordios ya que su contenido es menor, diferenciándose no solo matemáticamente sino estadísticamente presentando rangos distintos.

Tabla 15. Prueba de diferencia mínima significativa para el factor B (tipo de solvente)

Factores	Medias (mg/g)	Rangos
B1	216,21	a
B2	171,47	b

Fuente: El autor

Al realizar la prueba de diferencia de significación mínima para el factor (B) se observa que con el solvente correspondiente al nivel B1, acetona, se obtiene mayor cantidad del colorante cinabarina atribuyéndose a que este tipo de compuesto es soluble en solventes polares

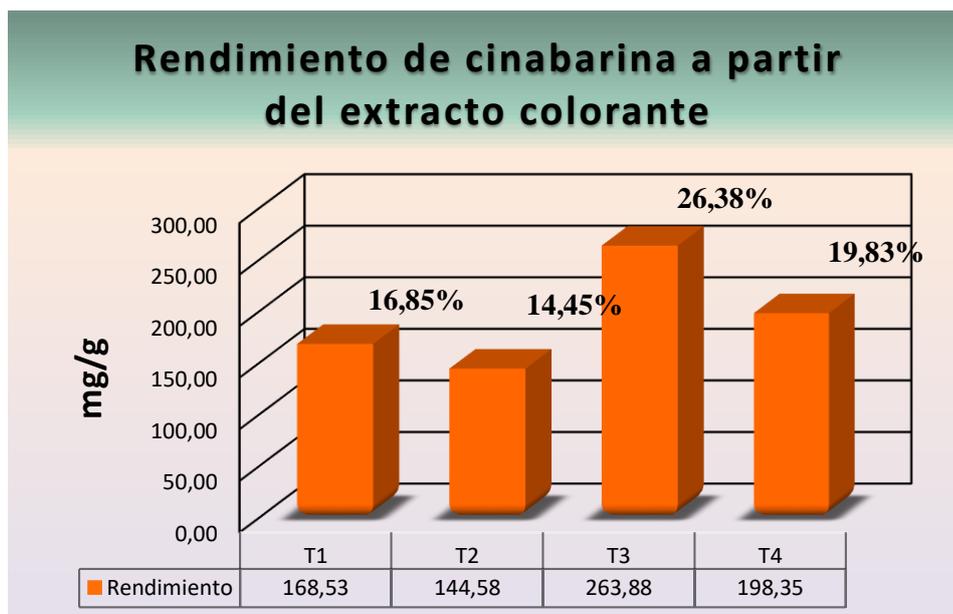


Figura 7. Contenido de cinabarina a partir del extracto colorante por cada tratamiento

Fuente: El autor

En la figura 7 se presentan los valores obtenidos de cinabarina a partir del extracto colorante hongo *P. sanguineus* por cada tratamiento; los valores están expresados en mg/g es decir que por cada gramo de extracto colorante se obtiene una fracción en mg de colorante cinabarina. El colorante extraído con solvente acetona a partir de primordios presentó un contenido de 168,53 mg/g de cinabarina, representando el 16,8% de rendimiento, mientras que el colorante extraído con solvente hexano a partir de primordios tuvo menor cantidad de la sustancia colorante siendo el contenido de 144,58mg/g constituyendo el 14,45% de producto final. El mejor rendimiento de cinabarina se obtuvo a partir de la combinación de cuerpos fructíferos y solvente acetona (A2B1), esto se debe a que tuvo mayor afinidad con el solvente reportando un rendimiento del 26,38% siendo un valor próximo al obtenido por Duarte Baumer (2009) de 24,47% extraído con solvente polar acetato de etilo; de igual forma Smania (como se citó en Duarte Baumer , 2009) presenta un rendimiento del 23, 11% de extracto bruto. Por otra parte el colorante obtenido por la interacción de cuerpos fructíferos con solvente hexano presenta un rendimiento de 19,83% siendo éste el segundo mejor tratamiento. Acosta-Urdapilleta *et al.* (2010) manifiesta que por cada 500 gramos de carpóforos se obtienen 83 gramos de colorante cinabrina purificado representando un 16,6% de rendimiento por lo que los valores obtenidos en esta investigación son similares.

En esta investigación se utilizó carpóforos secos y pulverizados en interacción con el solvente medianamente medianamente polar acetona obteniendo valores de rendimiento hasta el 26,38%, mientras que Correa *et al.* (2005) en su investigación utilizó cuerpos fructíferos frescos macerados con acetona obteniendo un rendimiento de 6,36% a partir de 1,5 gramos de un extracto concentrado. Otros estudios obtienen el colorante cinabarina a partir del micelio cultivado en caja petri consiguiendo cantidades de 6 a 9 mg/ml como afirma Acosta-Urdapilleta *et al.* (2010); por lo que los resultados obtenidos en la presente investigación superan el contenido de cinabarina con las interacciones evaluadas.

4.3 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL COLORANTE FINAL

Una vez obtenido el colorante cinabarina se realizó la caracterización físicoquímica en base al mejor resultado en rendimiento, el mejor tratamiento resultó de la interacción comprendida por cuerpos fructíferos con solvente medianamente polar acetona. El colorante tuvo una humedad de 10,06% después de su purificación y evaporación del solvente a temperatura ambiente en un rango entre 17 °C a 23 °C. El contenido de ceniza fue de 0,35%, asumiendo que en el proceso de extracción se combustionaron 8,32% en relación a la materia prima (cuerpos fructíferos). Las sustancias consideradas como contaminantes no se detectaron por el método de absorción atómica expresado en mg/kg, Alonso y Cols (como citó Cárdenas González *et al.*, 2010) en su trabajo presenta que la contaminación metálica supone una amenaza medioambiental importante para los seres vivos, sin embargo micronutrientes como el cadmio, plomo mercurio y arsénico, son tóxicos a dosis mínimas.

El contenido de actividad de agua fue de 0,57 ubicada en la zona II de la degradación de los productos donde el agua débilmente ligada imposibilita el desarrollo de microorganismos. Mendieta Taboada y Medina Vivanco (1995) en su trabajo presenta actividad de agua de 0,44 en hongos *P. ostreatus* después del proceso de secado con una humedad del 11,44%. Gearkoplis (1998) menciona que los microorganismos dejan de ser activos cuando el contenido de agua se reduce por debajo del 10% en peso.

Tabla 16. Análisis proximal del colorante cinabarina

Parámetro	Unidad	Colorante
Humedad	%	10,06 ± 0,07
Cenizas	%	0,35 ± 0,03
Actividad de agua		0,57 ± 0,05

Frente de retención (Rf)		0,43 ± 0,01
pH		6,34
Sustancias contaminantes		
Arsénico (As)	mg/Kg	No detectado
Cromo (Cr)	mg/Kg	No detectado
Mercurio (Hg)	mg/Kg	No detectado
Plomo (Pb)	mg/Kg	No detectado

Fuente: El autor

Como resultado de la cromatografía en capa fina se obtuvieron frentes de retención (Rf) de 0,41 a 0,43 identificando el único pigmento presente en el colorante final, resultado similar al presentado por Acosta-Urdapilleta *et al.* (2010) donde obtiene tres bandas Rf=0,28 cercana al ácido cinabarrínico, Rf= 0,41 y 0,45 correspondiente a la cinabarina y Rf=0,57 y 0,75 de compuestos no identificados.

Se obtuvo un pH de 6,34 siendo este un factor determinante para el cumplimiento del cuarto objetivo específico planteado, indicando de esta manera que es un colorante ácido por tal razón el teñido se realiza sobre fibra animal tal como señala Esteban Santos, (2008) que las fibras de origen animal son de fácil teñido tanto por colorantes básicos como ácidos, esto se debe a que sus moléculas de naturaleza proteica contiene grupos carboxilo (ácidos) y amino (básicos), que se enlazan con los grupos básicos o ácidos del colorante respectivamente

4.3.1 CARACTERÍSTICAS DEL COLOR

Para conocer la propiedades físicas del color y al ser uno de los aspectos importantes para la aceptación o rechazo de un producto se valoraron los atributos del color, evaluándose las características colorimétricas del colorante cinabarina, como son luminosidad (L*), componente a* que representa la diferencia entre rojo - verde y el componente b* que representa la diferencia ente azul – amarillo; así

mismo, el parámetro Cromo (C) y el ángulo del color (Hue) que fueron calculados a partir de a^* y b^* .

4.3.1.1 Luminosidad (L^*)

La escala de luminosidad es: $L^*= 0$ negro, $L^*=100$ para blanco

Tabla 17. Datos experimentales de la luminosidad del colorante

	tra/rep	I	II	II	Σt	MEDIA
T1	A1B1	106,37	106,48	104,32	317,16	105,72
T2	A1B2	99,65	98,47	99,80	297,92	99,31
T3	A2B1	108,29	100,81	104,55	313,66	104,55
T4	A2B2	94,46	96,35	97,42	288,23	96,08
	Σr	408,77	402,11	406,09	1216,97	405,66

Fuente: El autor

En la tabla 17 se observa que la luminosidad (L^*) presenta valores que van desde 94,46 hasta 108,29 siendo estos considerados como colores brillantes. El mayor contenido de luminosidad fue determinado para T1 (105,72) y el menor contenido se obtuvo en T4 (96,08).

Tabla 18. Análisis de Varianza (ADEVA) para la luminosidad (L^*)

<i>F de V</i>	<i>G/</i>	<i>SC</i>	<i>CM</i>	<i>F₀</i>	
TOTAL	11	220,51			
TRATAMIENTOS	3	183,96	61,32	13,42	**
ESTADO VEGETATIVO (A)	1	14,51	14,51	3,18	
SOLVENTE (B)	1	166,28	166,28	36,39	**
INTERACCIÓN (AXB)	1	3,18	3,18	0,70	
ERROR EXPERIMENTAL	8	36,55	4,57		

Nota: ** Altamente significativo, * Significativo. La significación estadística se evidenció cuando $F_0 > F$ tabular

Fuente: El autor

CV: 2,11 %

En el análisis estadístico de la tabla 18 se aprecia la alta significación estadística para el factor B, que se refiere al tipo de solvente utilizado en la extracción del colorante, con el resultado obtenido se afirma que el solvente tiene influencia sobre la luminosidad del colorante final. El experimento se manejó correctamente ya que se obtuvo un coeficiente de variación de **2,11%**

Al existir diferencia estadística altamente significativa para el factor B se realizó la prueba de DMS.

Tabla 19. Prueba de diferencia mínima significativa para el factor B (tipo de solvente)

Factores	Medias	Rangos
B1	105,14	a
B2	97,69	b

Fuente: El autor

Realizada la prueba de diferencia de significación mínima para el factor B se afirma que el solvente acetona correspondiente al nivel B1, tiene efecto en la luminosidad del colorante final. La media calculada estadísticamente $L^*=105,75$ indica que el colorante cinabarina posee mayor intensidad lumínica, considerándose un color brillante y que a su vez el colorante extraído con el solvente hexano (B2) presenta una tonalidad brillante con valores inferiores a $L^*=100$. La diferencia en el valor de la luminosidad del colorante se debe a la exposición de la temperatura ya que el punto de ebullición del hexano es de $69\text{ }^\circ\text{C}$ a diferencia del solvente acetona que es de $56,5\text{ }^\circ\text{C}$ afectando a la luminosidad L^* del colorante; los resultados obtenidos concuerdan con estudios realizados por Dimitrios, A., Muhammad, T. K. y Joachim, M. (2011) en los cuales somete a setas a procesos térmicos superiores a $50\text{ }^\circ\text{C}$ evidenciando la disminución de L^* .

4.3.1.2. Ángulo de la medición polar (Hue)

El ángulo del color Hue representa el espacio de color CIELAB medido en grados.

Tabla 20. Datos del valor Hue (h°) calculado

	tra/rep	I	II	II	Σt	MEDIA
T1	A1B1	64,73	64,42	64,16	193,31	64,44
T2	A1B2	62,68	63,28	63,26	189,23	63,08
T3	A2B1	57,01	58,46	58,85	174,32	58,11
T4	A2B2	63,38	64,07	61,13	188,58	62,86
	Σr	247,80	250,23	247,40	745,44	248,48

Fuente: El autor

Las medias del ángulo de tono presentan valores que van desde 57,01°h hasta 64,73°h, ubicándose estos valores en el primer cuadrante de los tonos que van de rojo a amarillo según el anillo del color CIELAB. El ángulo de mayor valor fue para T1 (64,44°h) y el de menor valor fue para T3 (58,11°h).

Tabla 21. Análisis de Varianza (ADEVA) para Hue (h°)

	<i>F de V</i>	Gl	SC	CM	F ₀	
TOTAL		11	75,82			
TRATAMIENTOS		3	68,82	22,94	26,24	**
ESTADO VEGETATIVO (A)		1	32,16	32,16	36,79	**
SOLVENTE (B)		1	8,62	8,62	9,86	*
INTERACCIÓN (AXB)		1	28,03	28,03	32,06	**
ERROR EXPERIMENTAL		8	6,99	0,88		

Nota: ** Altamente significativo, * Significativo. La significación estadística se evidenció cuando $F_0 > F$ tabular

Fuente: El autor

CV: 2,51 %

Al realizar el análisis de varianza, se observó que existe alta significación estadística para tratamientos, factores y para la interacción AxB tal como se aprecia en la tabla 21. Con los resultados obtenidos se determinó que el estado

vegetativo de hongo y los solventes utilizados en la extracción del colorante influye en el ángulo de la medición polar (h°) ya que se obtiene diferentes ángulos perceptibles del color.

Así mismo posee un coeficiente de variación de **2,51%**, indicando que el experimento se manejó correctamente.

Al existir diferencia estadística altamente significativa para tratamientos, se realizó la prueba de significación tukey al 5% y la prueba de DMS para el factor A (estado vegetativo) y factor B (tipo de solvente).

Tabla 22. Prueba de tukey al 5% para la interacción AxB, en el valor Hue

Interacciones	Medias	Rangos
T1 (A1B1)	64,44	A
T2 (A1B2)	63,08	A
T4 (A2B2)	62,86	A
T3 (A2B1)	58,11	b

Fuente: El autor

En la prueba tukey al 5%, se observa rangos diferentes existiendo diferencia estadística entre sus medias. Entre las interacciones A1B1, A1B2 y A2B2, no existe variación del ángulo Hue, considerándose estos tres tratamientos iguales ya que no varía la percepción del color entre naranja y amarillo tal como se visualiza en las figuras 8 y 9. Para el tratamiento T3 (A2B1) el ángulo visual tiene una media diferente a las otras interacciones por lo que se considerara que el colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con solvente acetona posee una apreciación visual de color entre rojo y anaranjado.

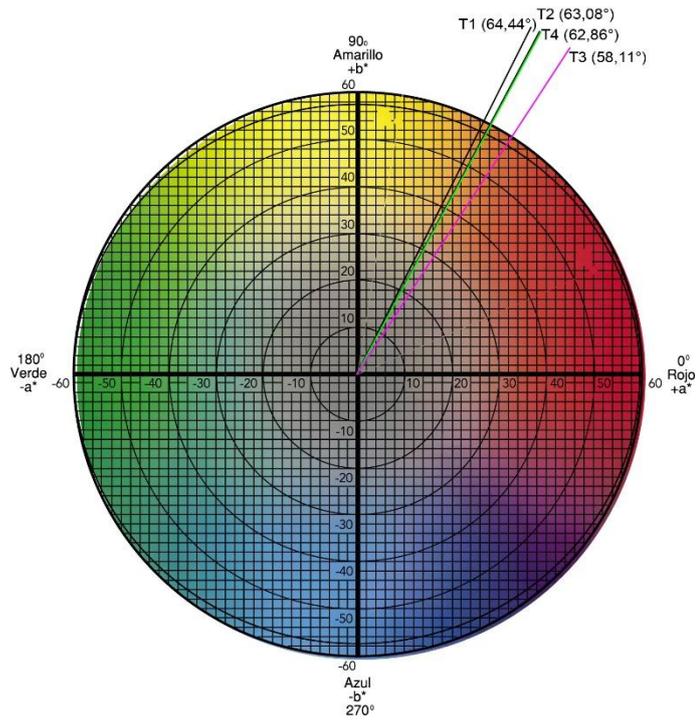


Figura 8. Diagrama del color CIELAB para la interacción AxB (estado vegetativo x tipo de solvente)

Fuente: El autor

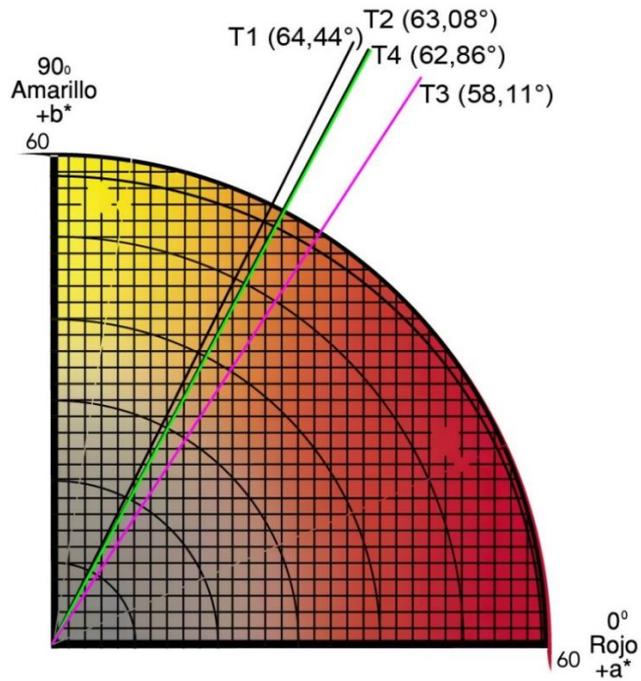


Figura 9. Representación del ángulo Hue por tratamientos

Fuente: El autor

Tabla 23. Prueba de diferencia mínima significativa para el factor A (estado vegetativo del hongo)

Factores	Medias	Rangos
A1	63,76	A
A2	60,48	b

Fuente: El autor

El resultado del análisis de diferencia mínima para el factor A, perteneciente al estado vegetativo del hongo; enuncia que existe diferencia estadística para la matiz de la percepción del color tanto del colorante extraído en primordios como de cuerpos fructíferos. El colorante presente en primordios A1 presenta una tonalidad de color entre naranja y amarillo, característica similar a la materia prima del cual fue extraído tal como manifiesta Pompa González A. *et al.* (2011), que basidiomicetos de este tipo presenta un color característico naranja brillante cuando son cosechados a temprana edad. Por otra parte el colorante extraído de cuerpos fructíferos A2 presenta una coloración entre rojo y naranja diferente a primordios, esto se debe a que el hongo que contiene el pigmento está expuesto a la luz y a diversas condiciones ambientales hasta su completo desarrollo para su cosecha cambiando de esta forma su coloración, dicha característica describe Téllez-Téllez, *et al.*, (2016) que con el proceso de maduración el carpóforo cambia su coloración a rosado; así mismo Papinutti (2013) menciona que la coloración de ejemplares viejos de esta especie es menos intensa.

Tabla 24. Prueba de diferencia mínima significativa para el factor B (tipo de solvente)

Factores	Medias	Rangos
B2	62,97	A
B1	61,27	b

Fuente: El autor

Al realizar la prueba de diferencia de significación mínima para el factor B se afirma que los niveles B1 y B2 son estadísticamente diferentes ya que muestran rangos distintos. El solvente correspondiente al nivel B2, hexano, tiene efecto sobre el tono del ángulo Hue del colorante final ya que su ángulo es mayor al colorante extraído con el solvente acetona.

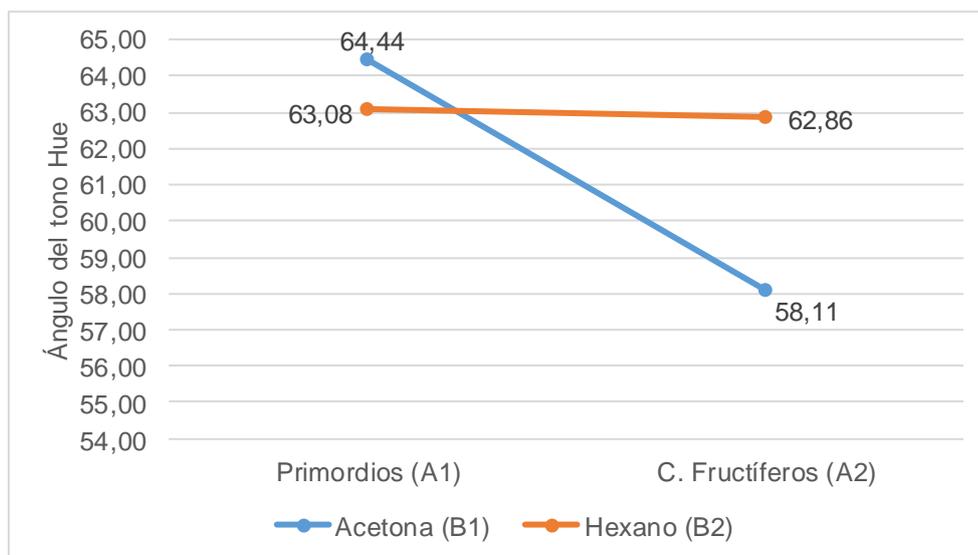


Figura 10. Interacción de los factores AxB, en la variable ángulo del tono Hue

Fuente: El autor

En la figura 10 se observa que el mayor ángulo del tono es el colorante cinabarina extraído a partir de la interacción A1B1 correspondiente a primordios con solvente acetona seguido por las interacciones A1B2 y A2B2; estos tres grupos de combinaciones no presentan mayor variación de color tal como se aprecia en las figuras 8 y 9, donde las tres interacciones presentan un ángulo cercano en la zona entre naranja y amarillo; la interacción de A2B1 refleja menor ángulo, ubicándose en la zona entre rojo y naranja. Estos cambios de coloración se debe a dos factores, la primero tuvo lugar a la foto sensibilidad de la cinabarina teniendo una estructura básica 3-fenoxazina, con un grupo carbonilo en C-1, un grupo amino en C- 14 2 y un grupo hidroxilo en C-9; siendo el responsable de la coloración la fenoxazina, compuesto heterocíclico sensible a la energía radiante tal como lo manifiesta Freitas *et al.* (2013); es por esta razón que materia prima (cuerpos fructíferos) al estar expuesta por mayor tiempo a factores ambientales en

especial a la luz natural tuvo una degradación de color con una tendencia a rojo a diferencia de primordios que tiene una tendencia a amarillo ya que estos fueron cosechados a temprana edad. Como segundo factor en el cambio de color se atribuye a la oxidación térmica, teniendo efecto la temperatura de ebullición del solvente donde los tratamientos en los que se utilizó el hexano (69 °C) tuvo tendencia de color a amarillo mientras que el colorante extraído con solvente acetona (56,5 C°) tiene una tendencia a anaranjado, este resultado concuerda con Ordóñez, (2006) presentando en su escrito que la mayoría de colorantes naturales al exponerse a temperaturas superiores a 60 °C pierden su característica física del color.

4.3.1.3 Cromaticidad

El parámetro Croma (C*) corresponde a una de las tres coordenadas polares del espacio de color que indica la fuerza de saturación o intensidad del color.

Tabla 25. Datos del valor de Croma (C*) calculado

	tra/rep	I	II	II	Σt	MEDIA
T1	A1B1	65,76	66,13	62,28	194,17	64,72
T2	A1B2	65,10	64,73	64,53	194,36	64,79
T3	A2B1	67,97	68,02	68,69	204,68	68,23
T4	A2B2	63,40	65,90	66,20	195,51	65,17
	Σr	262,23	264,78	261,70	788,72	65,73

Fuente: El autor

Las medias del parámetro Croma (C*) presentan valores entre 64,72 y 68,23. El colorante de mayor saturación fue T3 (68,69) y el de menor valor fue T1 (62,28).

Tabla 26. Análisis de Varianza (ADEVA) para la Cromaticidad (C*)

	F de V	Gl	SC	CM	F ₀
TOTAL		11	39,55		

TRATAMIENTOS	3	25,35	8,45	4,76
ESTADO VEGETATIVO (A)	1	11,31	11,31	6,37
SOLVENTE (B)	1	6,72	6,72	3,79
INTERACCIÓN (AXB)	1	7,31	7,31	4,11
ERROR EXPERIMENTAL	8	14,21	1,78	

Nota: ** Altamente significativo, * Significativo. La significación estadística se evidenció cuando $F_0 > F$ tabular

Fuente: El autor

CV: 1,26 %

En los valores de croma de acuerdo al análisis de varianza, no existe diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) superando los valores de la escala de cromaticidad, lo que indica que el color de la cinabarina presenta una pureza definida, confirmando el reporte del frente de retención de color naranja obtenido de 0.43 tal como obtiene Acosta-Urdapilleta *et al.* (2010) no existiendo una mezcla de colores de otros pigmentos que presenta el hongo como es el ácido cinabarínico de color amarillo y la tramesaguina de color rosa, razón por la cual se reporta un croma alto en todos los tratamientos.

4.5 DETERMINACIÓN DE LA SOLIDEZ DEL COLOR A LA LUZ

Esta prueba consistió en evaluar el grado de decoloración por la exposición a la luz artificial del colorante cinabarina aplicado sobre fibra de lana tinturada, este ensayo se realizó bajo la norma NTE-INEN-ISO 105 B02:2014: Solidez de arco a la luz artificial, lámpara de arco de Xenón (ISO 105-B02:1994) bajo estándares de temperatura y humedad relativa descritas en la norma mencionada anteriormente.

Tabla 27. Índice de solidez del color a la luz artificial de lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con acetona

Cantidad (m)	Muestra	Tiempo de exposición (h)	Índice de solidez
			Escala de Grises
0,1	Tela de lana tratada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con acetona	20	2

Fuente: El autor

El tamaño de la muestra fue de 0,1 m x 0,04 m de tela de lana tinturada con colorante cinabarina extraído a partir de cuerpos fructíferos con acetona, el ensayo tuvo una duración de 20 horas ya que transcurrido ese tiempo, de forma visual se apreció que la fibra tinturada sufrió una decoloración como se observa en el fotografía 10; al perder su tono original debido a la exposición a la luz se evaluó el índice de solidez a la luz artificial en escala de grises; obteniendo un valor de solidez de 2 puntos; considerándose una resistencia baja a la exposición a la luz según la escala descrita en la norma ISO 105-A02:1993. (Fotografía 11)



Fotografía 10. Lana tinturada con colorante extraído con acetona y expuesta a 20 horas de luz artificial

Fuente: El autor

Tabla 28. Espacio del Color CIELAB de lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con acetona

Tela de lana tinturada con colorante extraído con (cuerpos fructíferos+ acetona)	Luminosidad (L*)	Ángulo de la medición polar (H°)	Cromaticidad (C*)
	55,28	67,06	50,06

Fuente: El autor

Tabla 29. . Espacio del Color CIELAB de lana tinturada con colorante extraído partir de cuerpos fructíferos con acetona y expuesta a 20 horas de luz artificial

Tela de lana tinturada con colorante extraído con (cuerpos fructíferos+ acetona) Expuesta a 20 horas	Luminosidad (L*)	Ángulo de la medición polar (H°)	Cromaticidad (C*)
	54,89	76,86	49,29

Fuente: El autor



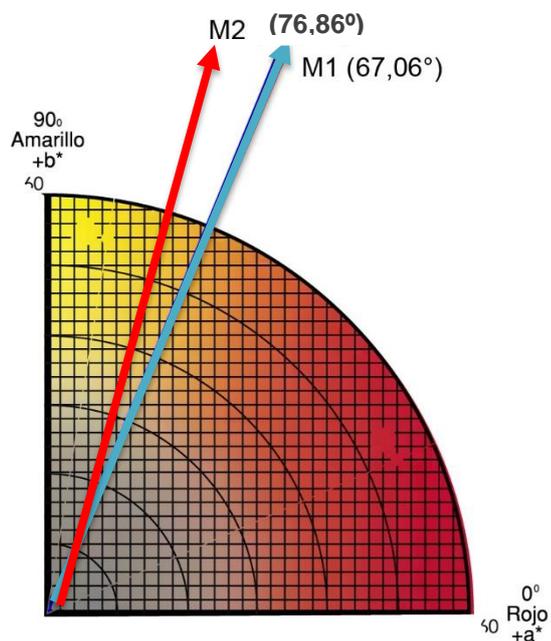
Fotografía 11. Diferencia de color de muestra patrón de lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con acetona y expuesta a 20 horas de luz artificial.

Fuente: El autor

Realizada la prueba de solidez del color a la luz en el espectrofotómetro también se obtuvieron las coordenadas CIELAB de la muestra original tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con acetona y de la muestra expuesta a 20 horas de luz artificial. En la tabla 28 se exponen los valores obtenidos de las coordenadas polares del espacio del color, donde la muestra original posee una intensidad lumínica de $L^*=55,28$ considerándose un color tenue, la percepción del color se ubica dentro del primer cuadrante ya que visualiza un color entre naranja y amarillo con una saturación del 50,06%, considerándose un valor intermedio entre la periferia y el centro de grises respecto a la cromaticidad.

La muestra tinturada con colorante cinabarina extraído a partir de cuerpos fructíferos con acetona y utilizando alumbre como mordiente presenta un color brillante anaranjado con un contenido de gris del 50,06%, característica similar a la presentada por Cedano Maldonado y Villaseñor Ibarra (2006) donde mencionan que fibras teñidas con cuerpos fructíferos frescos de *P. sanguineus* presentan un color gris anaranjado habiendo utilizado alumbre como mordiente.

Por otra parte en la tabla 29, se visualizan los resultados obtenidos de la tela de lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con acetona y expuesto a 20 hora de luz artificial, por lo que se aprecia que los valores de luminosidad y cromaticidad disminuyen no significativamente en referencia a la muestra original, para el dato del ángulo de la medición polar Hue se obtuvo que la muestra M1 tiene una tendencia a anaranjado mientras que la muestra M2 tiene una tendencia hacia el color amarillo como se observa en la figura 11, visualizando de esta manera la degradación del color al exponerse a la luz artificial UV.



M1: Muestra tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con solvente acetona

M2: Muestra tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con solvente acetona y expuesta a 20 horas de luz artificial.

Figura 11. Diagrama del color CIELAB para lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con acetona.

Fuente: El autor

Tabla 30. Índice de solidez del color a la luz artificial de lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con hexano

Cantidad (m)	Muestra	Tiempo de exposición (h)	Índice de solidez
			Escala de Grises
0,1	Tela de lana tratada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con hexano	20	1,5

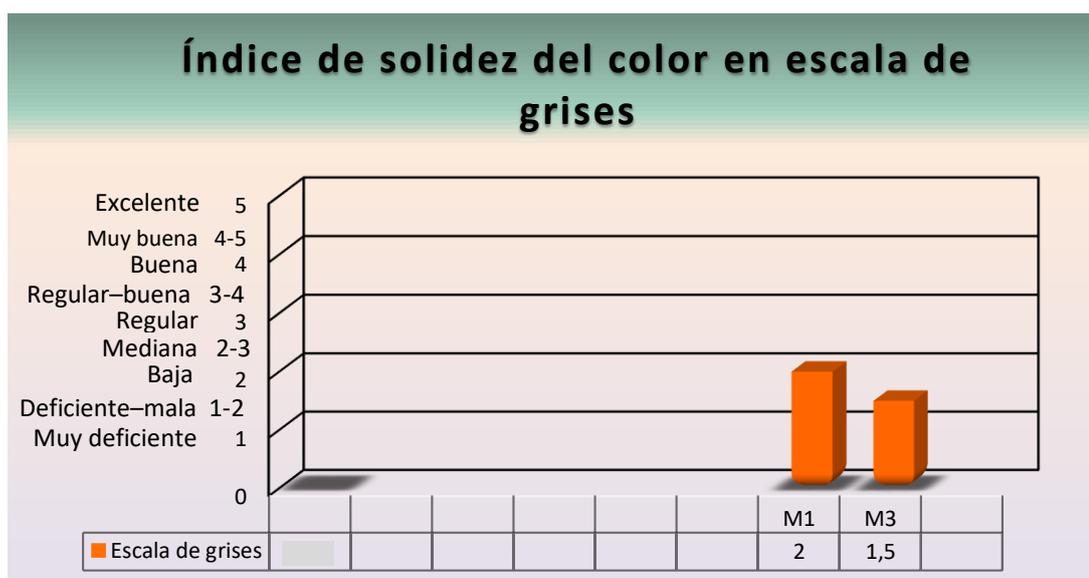
Fuente: El autor



Fotografía 12. Lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con hexano y expuesta a 20 horas de luz artificial

Fuente: El autor

Se observó de forma visual que la fibra de lana tinturada con el colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con hexano sufrió decoloración después de haber transcurrido 20 horas de exposición a la luz artificial tal como se observa en la fotografía 12. Al realizar la prueba del índice de solidez del arco a la luz artificial en escala de grises se obtuvo una solidez de 1,5 puntos, considerándose una resistencia deficiente-mala a la exposición a la luz según la escala de la norma ISO 105-A02:1993 ya que se degrada fácilmente (Figura 12). En las dos muestras tinturadas se obtuvieron una solidez no aceptable ya que según la norma, la exposición debe superar las 40 horas de exposición a la luz para considerarse una muestra recomendada.



M1: Muestra tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con solvente acetona

M3: Muestra tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con solvente hexano

Figura 12. Resultado del índice de solidez del color en las dos muestras expuestas a 20 horas a la luz artificial.

Fuente: El autor

Tabla 31. Espacio del Color CIELAB de lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con hexano

Tela de lana tinturada con colorante extraído con (cuerpos fructíferos+ hexano)	Luminosidad (L*)	Ángulo de la medición polar (h°)	Cromaticidad (C*)
	54,30	65,50	46,39

Fuente: El autor

Tabla 32. Espacio del Color CIELAB de lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con hexano y expuesta a 20 horas de a la luz artificial

Tela de lana tinturada con colorante extraído con (cuerpos fructíferos+ hexano) Expuesta 20 horas	Luminosidad (L*)	Ángulo de la medición polar (h°)	Cromaticidad (C*)
	52,50	79,85	44,24

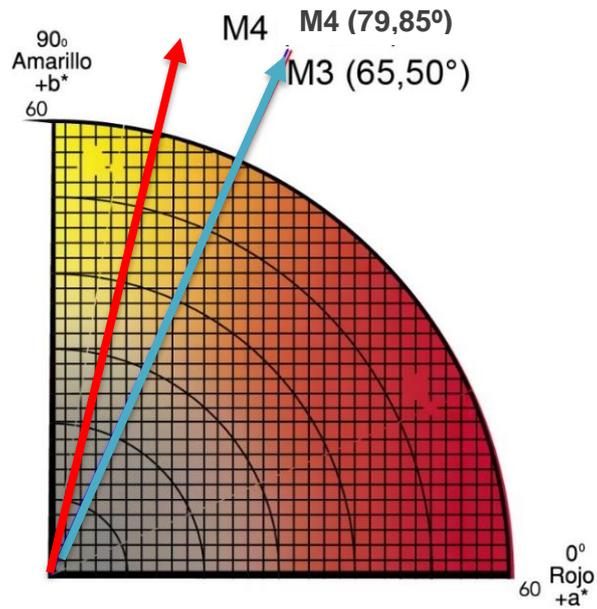
Fuente: El autor



Fotografía 13. Diferencia de color de muestra original de lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con hexano y expuesta a 20 horas de luz artificial.

Fuente: El autor

En el espectrofotómetro de reflectancia se obtuvieron coordenadas CIELAB, de la muestra original de lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con hexano y de la muestra expuesta a 20 horas de luz artificial (fotografía 13). Las tablas 31 y 32, indican los valores resultantes del espacio de colores en las dos muestras; la intensidad lumínica de la fibra tinturada original tuvo una $L^* = 54,30$ considerándose una luminosidad tenue, mientras que la muestra tinturada y expuesta a 20 horas en la lámpara de arco de xenón tuvo una disminución del 3,31% en la claridad de la tela teñida. Así mismo se apreció la reducción de la cromaticidad en un 4,63% de la tela de lana tinturada y expuesta a la luz artificial en referencia a la muestra original. En relación al ángulo de medición polar, M3 tuvo una tendencia de color hacia anaranjado, mientras que M4 tiene una percepción del color hacia amarillo, ubicándose en el primer cuadrante del color entre naranja y amarillo tal como se puede apreciar en la figura 13.



M3: Muestra tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con solvente hexano
M4: Muestra tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con solvente hexano y expuesta a 20 horas de luz artificial.

Figura 13. Diagrama del color CIELAB para lana tinturada con colorante extraído a partir de cuerpos fructíferos con hexano

Fuente: El autor

4.6. BALANCE DE MATERIALES.

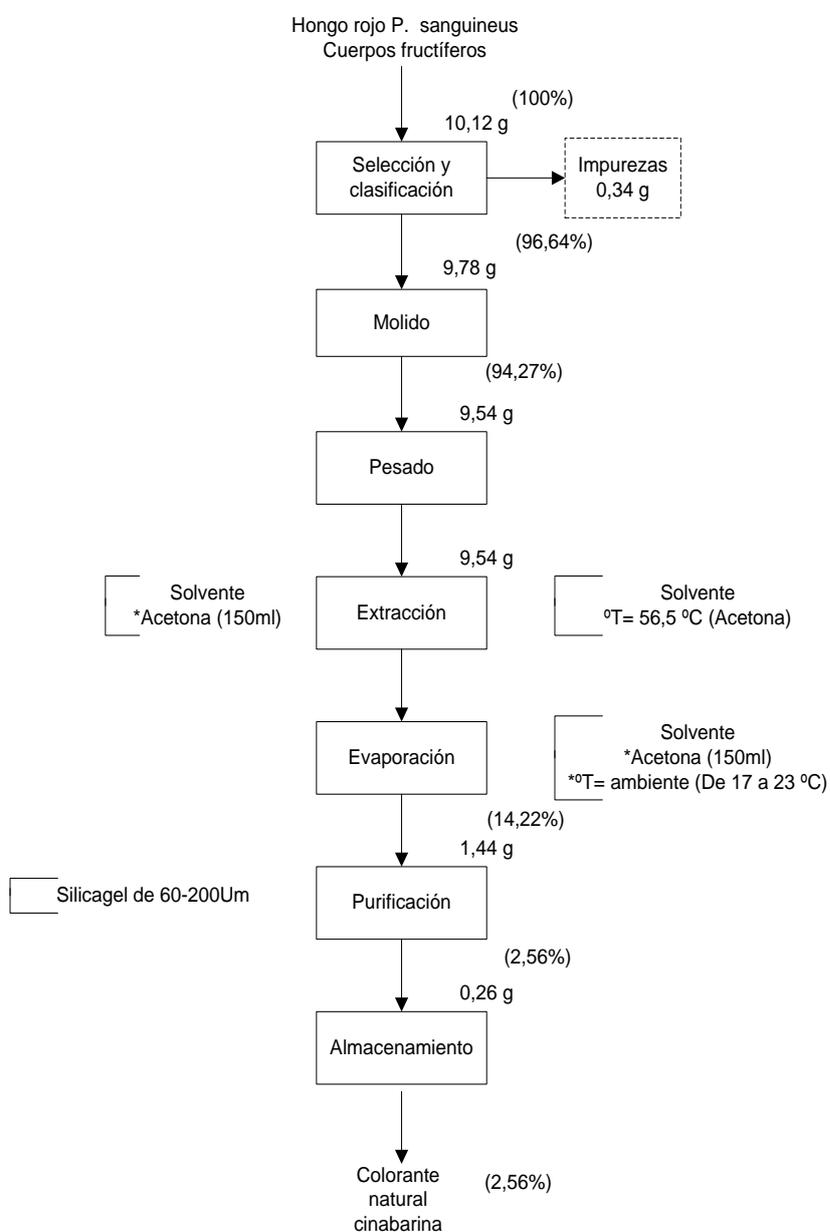


Figura 14. Balance de materiales para la obtención del colorante natural cinabarina

Fuente: El autor

Luego de realizar el balance de materiales, se afirma que por cada 10 g de hongo rojo *P. sanguineus*, se obtiene 0,26 g de colorante cinabarina purificado equivalente a un rendimiento del 2,56%.

CONCLUSIONES

- El hongo *P. sanguineus* en dos estados vegetativos primordios y cuerpos fructíferos presentaron un contenido de humedad de 13,17% y 8,19% respectivamente, esta variación se debe principalmente a su proceso metabólico.
- El acetona como solvente generó mayor contenido de cinabarina en combinación con cuerpos fructíferos T3 (A2B1) con un rendimiento del 26,38% por lo que se considera el mejor tratamiento, ya que supera valores de rendimiento presentados por otras investigaciones.
- El colorante final obtenido a partir de cuerpos fructíferos con solvente acetona (T3), presentó una humedad del 10,06% y actividad de agua del 0,57; considerándose un colorante estable para el almacenamiento.
- En función al color, el estado vegetativo del hongo tuvo efecto sobre el tono del ángulo Hue, determinando que la cinabarina es un compuesto susceptible ante factores ambientales, en especial a la luz consiguiendo una tendencia a anaranjado con primordios y de color rojo con cuerpos fructíferos.
- Al ser un colorante natural es más sensible a los rayos UV por lo que las muestras de lana tinturadas con colorante cinabarina extraído a partir de cuerpos fructíferos con solvente acetona y con solvente hexano tuvieron una solidez de 2 y 1,5 puntos considerándose una solidez baja y deficiente-mala respectivamente al exponerse a 20 horas de luz artificial.
- En función de los resultados obtenidos se acepta la hipótesis alternativa ya que el estado vegetativo del macromiceto y tipo de solvente influyeron significativamente en la extracción del colorante natural (Cinabarina) a base del hongo rojo *P. sanguineus*.

RECOMENDACIONES

Evaluar diferentes técnicas de secado a hongos frescos producidos en diferentes sustratos para determinar el rendimiento de cinabarina ya que al recolectarlos en su estado natural y estar expuestos a diversas condiciones ambientales su contenido probablemente tiende a reducir.

Realizar una extracción con la mezcla de solventes acetona y hexano para lograr un mayor contenido de cinabarina ya que se evidenció que éste tipo de hongo posee compuestos inorgánicos y orgánicos.

Evaluar la estabilidad del colorante ante el efecto de pH, luz y temperatura.

Probar diferentes métodos y tipos de mordientes para la fijación del color; así como la concentración del colorante.

Determinar la prueba de toxicología del colorante cinabarina proveniente de *P. sanguineus* en estado natural y cultivados bajo condiciones controladas para posteriores aplicaciones en el área alimenticia.

5. BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Acosta-Urdapilleta, L., Medrano Vega, F. A., & Villegas Villarreal, E. C. (2012). Pigmentos Antimicrobianos de *Pycnoporus sanguineus*. *Hongos Comestibles y Medicinales en Iberoamérica: investigación y desarrollo en un entorno multicultural.*, 329-347.
- Acosta-Urdapilleta, L., Obscura, N., & Rossano, R. (25 de Abril de 2016). USO DEL HONGO *Pycnoporus sanguineus* para la elaboración de bebidas. (J. G. Báez González, Ed.) *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(1-2), 675-679.
- Acosta-Urdapilleta, L., Paz, A., Rodríguez, A., Adame, M., Salgado, D., Salgado, J., . . . Villegas , V. (2010). *Pycnoporus sanguineus*, un hongo con potencial biotecnológico. *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica*, 531-562.
- Astiasarán Anchia, I., Lasheras Aldaz, B., Ariño Plana, A. H., & Martínez Hernández, J. A. (2003). *Alimentos y nutrición en la práctica sanitaria*. Madrid: Díaz de Santos.
- Blackwell, M. (2011). The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? *American Journal of Botany* , 426–438.
- Bouçada de Barros, L. (2008). *Caracterización química y propiedades bioactivas de hongos silvestres Portugueses*. Salamanca, España: Universidad de Salamanca.
- Bonilla Ríos, N., Varón, F. Á., & Garzón, L. P. (2014). Extracción de pigmentos colorantes tipo flavonoides, flor del plomo (*Syzygium jambos*). Zona verde del iear Florencia Caquetá. *Amazonía Investiga*, 34-43.

- Burriel Martí, F., Lucena Conde, F., Arribas Jimeno, S., & Hernández Méndez, J. (2008). *Química Analítica Cualitativa*. Madrid - España: International Thomson .
- Cabarroi Hernández, M., Maldonado González, S. G., & Recio Herrera, G. M. (2012). *Catálogo de Hongos y Myxomycetes del Jardín Botánico Nacional de Cuba*. Cuba: Editorial Universitaria.
- Campbell, N. A., & Reece, J. B. (2007). *Biología* (7ma ed.). Médica Panamericana.
- Cárdenas González, J. F., Moctezuma Zarate, M., & Acosta Rodríguez, I. (2010). Aislamiento de hongos resistentes a metales pesados A. *Tlatemoani*, 1-7.
- Castañeda Sánchez, A., & Guerrero Beltrán, J. A. (2015). Pigmentos en frutas y hortalizas: rojas antocianina. *Universidad de las Américas, Puebla*, 24-33.
- Cedano Maldonado, M., & Villaseñor Ibarra, L. (2006). Colorantes orgánicos de hongos y líquenes. *Scientia-CUCBA*, 141-161.
- Cegarra, J. (1980). *Fundamentos científicos y Aplicados de la Tintura de Materias Textiles*. Tarrasa: Universidad Politécnica de Barcelona.
- Cepero, M. C., Restrepo, S., & Franco, A. E. (2012). *Biología de los hongos*. Colombia: Universidad de los Andes.
- Contreras Ramos, A., Cuevas Cardona, C., Goyenechea, I., & Iturbe, U. (2007). *La sistemática, base del conocimiento de la biodiversidad*. México: UAEH.
- Correa, E., Quiñones, W., Torres, F., Cardona, D., Franco, A. E., Robledo, S., & Echeverri, F. (2005). Actividad Leishmanicida De *Pycnoporus Sanguineus*. *Actualidades Biológicas*, 39-42.
- Correa, E., Quiñones, W., Torres, F., Cardona, D., Franco, A., Robledo, S., & Fernando, E. (2005). *Actividad Leishmanicida de Pycnoporus sanguineus*. Colombia: Universidad de Antioquia.
- Cortés R, M., García S, A., & Suárez M, H. (2007). Fortificación de hongos comestibles (*Pleurotus ostreatus*) con calcio, selenio y vitamina C . *Vitae*, 16-24.
- Costa López, J., Cervera March, S., Cunill García, F., Esplugas Vidal, S., Mans Teixidó, C., & Mata Álvarez, F. (1984). *Curso de ingeniería química:*

- Introducción a los procesos, las operaciones unitarias y los fenómenos de transporte.* Barcelona: Reverte.
- Cruz Muñoz, R. (2012). *Producción de extractos de pycnopus sanguineus con actividad antimicrobiana en hongos y bacterias fitopatógenas.* México: INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL.
- Cruz Muñoz, R., Piña Guzmán, A. B., Yáñez Fernández, J., Valencia Del Toro, G., Bautista Baños, S., & Villanueva Arce, R. (2015). Producción de pigmentos de *Pycnopus sanguineus* en medio de cultivo sólido. *Agrociencia*, 49(4), 347-359.
- Curtis, H., & Schnek, A. (2008). *Curtis. Biología.* Madrid España: Médica Panamericana.
- Da Silva Marques, C. J. (2001). *Actividad Antiparasitaria y Antiviral de Pycnopus Sanguineus.* Florianópolis: Universidad Federal de Santa Catarina.
- De Michelis , A., & Rajchenberg, M. (2006). *Hongos Comestibles: Teoría y práctica para la recolección, elaboración y conservación .* Argentina: INTA EEA Bariloche.
- De Robayo, M. O. (2000). *Extracción y secado por atomización del Colorante de la Mora de Castilla (Rubus Glaucus) para obtener un.* Medellín: Universidad Nacional de Colombia.
- Duarte Baumer , J. (2009). *Produção do Antibiótico Cinabarina pelo Fungo Pycnopus sanguineus utilizando Resíduos Lignocelulósicos como Substrato.* Florianópolis, Brasil: Universidade Federal De Santa Catarina Centro Tecnológico .
- El Magno, E. (2009). *Hongos.* Argentina: El Cid Editor | apuntes.
- Enríquez Machado, C. A. (2005). *Estudio de la Extracción y Estabilidad del Colorante del ataco (Amaranthus hybridus) Con Potencial de Aplicación como Aditivo Alimentario.* Ecuador: Escuela Superior Politécnica del Chimborazo.
- Esteban Santos, S. (2008). *Química y cultura científica.* Madrid: UNED - Universidad Nacional de Educación a Distancia.

- Flores Q, E., Velasco A, P., Iraholas S, P., & Gimenez T, A. (1999). *Aceites Esenciales con actividad citotóxica como indicador de propiedades insecticidas*. Biofarbo.
- Floría, P. M. (2007). *Gestión de la higiene industrial en la empresa*. Madrid: Fundación Confemeta.
- Freitas, V., Ribeiro da Silva, M., & Gomes, J. (2013). Efeitos energético-estruturais em compostos heteropolicíclicos com oxigénio ou enxofre. *Química Nova*, 36(6), 840-847.
- García Garibay, M., Quintero Ramirez, R., & López Munguía, A. (2004). *Biología Alimentaria*. México: Limusa, S.A.
- Gearkoplis, C. J. (1998). *Proceso de transporte y operaciones unitarias*. México: Continental.
- Guzman, G., Mata, G., & Salmones, D. (2010). *El cultivo de los hongos comestibles: con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agroindustriales*. México: Instituto Politécnico Nacional.
- Hurtado C, A., Torres G, C., & Peña S, E. J. (2010). Identificación de procesos de bioacumulación de cromo en la laguna de Sonso. *EIDENAR*, 69-75.
- La Guía MetAs. (2009). *Medición de Color* . México: Apasionados por la Metrología .
- Lockuán Lavado, F. E. (2012). *La industria textil y su control de calidad* .
- Loomis, T., & Hayes, A. (1996). *Loomis's essentials of toxicology*. San Diego, California: Academic Press.
- Lozano, R. D. (1978). *El color y su medición*. Buenos Aires: Americalee S.R.L.
- M.A.E. (2015). *Quinto Informe Nacional para el Convenio sobre la Diversidad Biológica*. Quito.
- Lupiano Dias, I. F., Cardús Chávez, D. J., Munhoz, M., Poças, L. C., Toledo da Silva, M. A., De Santana, H., . . . Laureto, E. (2016). Desenvolvimento de Dispositivos Fotovoltaicos e Diodos Emissores. *Ciências Exatas e Tecnológicas*, 37(2), 81-94. doi:10.5433/1679-0375.2016v37n2p81

- Marques, C. (2001). *ATIVIDADE ANTIPARASITARIA E ANTIVIRAL DE Pycnoporus sanguineus (L.: Fr.) Murr.* Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina.
- Márquez González, E., & García Vigoa, Y. (2009). Colorantes naturales de origen vegetal. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 17(1), 8.
- Martínez, L. (2009). Teñido con colorantes naturales, sobre lana. *Programa de Diseño del INTI*, 1-2.
- McCabe, W., Smith, J., & Harriott, P. (1994). *Operaciones Unitarias en Ingeniería Química*. McGraw Hil.
- Meléndez Martínez, A. J., & Vicario, F. I. M. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *ALAN*, 54(2), 1-8.
- Mendieta Taboada, O., & Medina Vivanco, M. (1995). Secado natural y solar de hongos comestibles silvestres de la región San Martín. *Folia Amazónica*, 97-111.
- Minor Margarito, N. I., Ortiz Trujillo, C., Quijano Olivares, B. E., & Palacios Frías, L. (2015). *Líquenes como colorantes*. México: Universidad del Valle de México Campus Hispano.
- Molina Buendía, P. (1989). *Prácticas de química orgánica*. Murcia: EDITUM.
- Ordóñez, G. (2006). *Evaluación de la degradación de colorantes, asociado a candelas de mezcla de parafina, por exposición de luz ultravioleta y luz blanca visible a una temperatura constante*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Papinutti, L. (2013). Fichas micológicas: *Pycnoporus Sanguineus*. *Boletín Biológica*, 32-33.
- Peiter Beninca, C. (2007). *Nduãõ de fitoalexinas e atividades de peroxidases em sorgo e soja tratados com extratos de basidiocarpos de pycnoporus sanguineus*. Paraná: Universidade Estadual do Oeste do Parana .
- Pérez Daniëls, P. (2015). Sociedad Micológica de Madrid. *Hongos de Ecuador* (pág. 1). Madrid: Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica.
- Pompa González, A., Aguirre Acosta, E., Encalada Olivas, A., Jáuregui, A., Cifuentes Blanco, J., & Valenzuela Garza, R. (2011). Los Macromicetos

- del Jardín Botánico de ECOSUR “Dr. Alfredo Barrera Marín” Puerto Morelos, Quintana Roo. *Corredor Biológico Mesoamericano México*, 93.
- Prats, G. (2006). *Microbiología Clínica*. Médica Panamericana.
- Repetto Kuhn, G. , & Repetto Jiménez, M. (2009). *Toxicología fundamental*. México: Díaz de Santos.
- Rettig, M., & Hen, A. (2014). El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *Agro Sur*, 42(2), 39-48. doi:10.4206/agrosur.2014.v42n2-07
- Reyes González, G., & Franco Correa, M. (2009). Producción biotecnológica de sabores, pigmentos y aromas a partir de hongos miceliales y levaduras. *Universitas Scientiarum*, 11(2), 23-30.
- Rojas Rodriguez, C. A., & Valencia Albitres, G. A. (2013). *Aislamiento de pigmentos de huito (genipa americana) y aplicación en teñido de fibras proteicas (alpaca)*. Lima: Universidad Nacional de Ingeniería, Perú.
- Ruiz Herrera, J. (2010). *Viaje al asombroso mundo de los hongos*. México: FCE - Fondo de Cultura Económica.
- Sánchez Castilla, R. (2015). *Hongos superiores como fuente de salud*. Madrid: Universidad Complutense de Madrid.
- Santamarina Siurana, P., García Brejio, F. J., & Roselló Caselles, J. (1997). *Biología y Botánica*. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.
- Téllez-Téllez, M., Villegas , E., Rodríguez, A., Acosta-Urdapilleta , M., O'Donovan, A., & Díaz-Godínez , G. (2016). Fungi of Pycnoporus: morphological and molecular identification, worldwide distribution and biotechnological potential . *Mycosphere*, 1-26.
- Valero, A. (2013). *Principios de color y holopintura*. España: Club Universitario.
- Vásquez Riascos, A. M. (2015). *Estimación de las coordenadas CIEL*a*b* en concentrados de tomate utilizando imágenes digitales*. Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Villaseñor Llerena, M. (1995). *Nuevos métodos fotométricos y electroquímicos de determinación de colorantes amarillos en alimentos [Microforma]*. Univ de Castilla La Mancha.

6. ANEXOS

ANEXO A. RESULTADO ANÁLISIS DEL LABORATORIO



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

UNIVERSIDAD ACREDITADA RESOLUCIÓN 002 – CONEA – 2010 – 129 – DC.
Resolución No. 001 – 073 – CEAACES – 2013 – 13

FICAYA

Laboratorio de Análisis Físicos, Químicos y Microbiológicos

Informe N°:	028 - 2015
Análisis solicitado por:	Srta. Madelyn Carrillo
Empresa:	Particular
Muestreado:	Propietario
Fecha de recepción:	12 de mayo de 2016
Fecha de entrega informe:	23 de mayo de 2016
Ciudad:	Ibarrá
Provincia:	Imbabura
Muestra:	Hongo Rojo primordius
No. de Lote	No aplica
No. Unidades Analizadas	1

Parámetro Analizado	Unidad	Resultado	Metodo de ensayo
Humedad	%	13,17	AOAC 925.10
Cenizas	%	6,32	AOAC 923.03
Proteína Total	%	18,38	AOAC 920.87
Extracto etéreo	%	0,54	AOAC 920.85
Fibra Bruta	%	8,61	AOAC 978.10
Arsénico (As)	mg/kg	No detectado	Absorción Atómica
Cromo (Cr)	mg/kg	No detectado	
Mercurio (Hg)	mg/kg	No detectado	
Plomo (Pb)	mg/kg	No detectado	

Los resultados obtenidos pertenecen exclusivamente para las muestras analizadas

Atentamente:

Bloq. José Luis Moreno
Técnico de Laboratorio



Visión Institucional

La Universidad Técnica del Norte en el año 2020, será un referente en ciencia, tecnología e innovación en el país, con estándares de excelencia institucionales.

Av 17 de Julio S-21 y José María
Córdova Barro El Olivo
Teléfono (06)2997800
Fax Ext 7711
Email utn@utn.edu.ec
www.utn.edu.ec
Ibarrá - Ecuador



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

UNIVERSIDAD ACREDITADA RESOLUCIÓN 002 – CONEA – 2010 – 129 – DC.
Resolución No. 001 – 073 – CEAACES – 2013 – 13

FICAYA

Laboratorio de Análisis Físicos, Químicos y Microbiológicos

Informe N°:	015 - 2015
Análisis solicitado por:	Srta. Madelyn Carrillo
Empresa:	Particular
Muestreado:	Propietario
Fecha de recepción:	28 de enero de 2016
Fecha de entrega informe:	03 de febrero de 2016
Ciudad:	Ibarra
Provincia:	Imbabura
Muestra:	Hongo Rojo cuerpo fructíferos
No. de Lote	No aplica
No. Unidades Analizadas	1

Parámetro Analizado	Unidad	Resultado	Metodo de ensayo
Humedad	%	8,19	AOAC 925.10
Cenizas	%	8,67	AOAC 923.03
Proteína Total	%	20,8	AOAC 920.87
Extracto etéreo	%	0,65	AOAC 920.85
Fibra Bruta	%	13,4	AOAC 978.10
Arsénico (As)	mg/kg	No detectado	Absorción Atómica
Cromo (Cr)	mg/kg	No detectado	
Mercurio (Hg)	mg/kg	No detectado	
Plomo (Pb)	mg/kg	No detectado	

Los resultados obtenidos pertenecen exclusivamente para las muestras analizadas

Atentamente:

Bioq. José Luis Moreno
Técnico de Laboratorio



Visión Institucional

La Universidad Técnica del Norte en el año 2020, será un referente en ciencia, tecnología e innovación en el país, con estándares de excelencia institucionales

Av. 17 de Julio S-21 y José María
Córdova. Barrio El Olivo
Teléfono: (06)2997800
Fax: Ext. 7711
Email: utn@utn.edu.ec
www.utn.edu.ec
Ibarra - Ecuador



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

UNIVERSIDAD ACREDITADA RESOLUCIÓN 002 – CONEA – 2010 – 129 – DC.
Resolución No. 001 – 073 – CEAACES – 2013 – 13

FICAYA

Laboratorio de Análisis Físicos, Químicos y Microbiológicos

Informe N°:	041 - 2015
Análisis solicitado por:	Srta. Madelyn Carrillo
Empresa:	Particular
Muestreado:	Propietario
Fecha de recepción:	01 de junio de 2016
Fecha de entrega informe:	03 de junio de 2016
Ciudad:	Ibarra
Provincia:	Imbabura
Muestra:	Colorante
No. de Lote	No aplica
No. Unidades Analizadas	1

Parámetro Analizado	Unidad	Resultado	Metodo de ensayo
Humedad	%	10,06	AOAC 925.10
Cenizas	%	0,35	AOAC 923.03
Arsénico (As)	mg/kg	No detectado	Absorción Atómica
Cromo (Cr)	mg/kg	No detectado	
Mercurio (Hg)	mg/kg	No detectado	
Plomo (Pb)	mg/kg	No detectado	

Los resultados obtenidos pertenecen exclusivamente para las muestras analizadas

Atentamente:

Bioq. José Luis Moreno
Técnico de Laboratorio



Visión Institucional

La Universidad Técnica del Norte en el año 2020, será un referente en ciencia, tecnología e innovación en el país, con estándares de excelencia institucionales.

Av. 17 de Julio S-21 y José María
Córdova Barrio El Olivo,
Teléfono: (06)2997800
Fax: Ext. 7711
Email: utn@utn.edu.ec
www.utn.edu.ec
Ibarra - Ecuador

ANEXO B. PROCESO DE TEÑIDO

Para realizar la prueba de solidez del color a la luz artificial, se tinturo una muestra de lana de oveja con colorante extraído con acetona y otra muestra con colorante extraído con hexano; se detalla a continuación el proceso de tintura.

Preparación de la muestra.

El material que entró al proceso de tinturación fue tela de lana de oveja previamente lavada, se recortaron dos muestras de 10 x 4 cm.



Fotografía 14. Lana de oveja lavada

Fuente: El autor

Pesado de la muestra.

Con la ayuda de una balanza se registró el peso de la muestra de lana, esto con la finalidad hacer relación la cantidad de mordiente a utilizar y así mismo la cantidad de colorante a emplear en la tinturación.



Fotografía 15. Pesado de la muestra de lana

Fuente: El autor

Mordentado de la fibra de lana.

Para el baño con el mordiente se pesaron 4,1 gramos de alumbre, que fueron posteriormente depositados en un recipiente de aluminio con agua a ebullición, al transcurrir 5 minutos y una vez disuelto el alumbre se procedió a colocar las muestras de lana; este baño tuvo una duración de 30 minutos.



Fotografía 16. Pesado de alumbre y baño del mordiente

Fuente: El autor

Teñido de la fibra de lana.

Una vez que la muestra de lana estuvo previamente mordentada, se procedió a realizar el baño de tinción basada en una relación 1:1; es decir que por cada gramo de peso de la fibra se colocaron 1 gramo de colorante, disuelto en agua en ebullición.



Fotografía 17. Tinturación de lana de oveja con colorante cinabarina

Fuente: El autor

ANEXO C. RESULTADOS SOLIDEZ DEL COLOR

 LABORATORIO TEXTIL	FORMATO DE ENSAYO DE SOLIDEZ A LA LUZ	LFP-PTE-07-F1 Fecha: 2016-07-05 Versión: 0 Página 1 de 2
--	--	--

FECHA DEL ENSAYO:	2016-11-11		
FECHA DE SOLICITUD DEL ENSAYO:	2016-11-09		
NÚMERO DE LA SOLICITUD:	MLAB-06		
ENSAYO SOLICITADO:	Textiles. Ensayos de solidez del color. Parte B02: Solidez del arco a la luz artificial. Lámpara de arco de Xenón.		
NORMA A EMPLEAR:	NTE INEN-ISO 105 B02:2014		
MUESTRAS			
CÓDIGO NRO	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	
MLAB-13	Tela de lana acabado acetona	0,1 metros	
RESULTADOS DEL ENSAYO			
TEMPERATURA INICIAL:	36 ° C	HUMEDAD RELATIVA INICIAL:	45 % HR
TEMPERATURA FINAL:	36 ° C	HUMEDAD RELATIVA FINAL:	45 % HR

EQUIPO:

- Equipo de ensayo de solidez a la luz: James Heal. Modelo: Trufade 200.
- Número de posiciones: 27.

ESPECIFICACIONES:

- Método: 1 (1 recomendado, 2, 3, 4 o 5)
- Condiciones de exposición: 36°C y 45 % HR
- Condiciones de evaluación: 20 °C y 60 % HR (recomendado 20°C y 65% HR)
- Número de probetas: 1

RESULTADOS OBTENIDOS

Muestra: MLAB-2016-13

Escala de Grises

ÍNDICE DE SOLIDEZ	2
--------------------------	---

NOTA: Los resultados expresados son exclusivos de las muestras ensayadas.

ESCALA DE AZULES		
GRADO	COLORANTE (Designación del índice de color)	DESCRIPCIÓN
1	CI Acid Blue 104	Cambio externo del color
2	CI Acid Blue 109	
3	CI Acid Blue 83	
4	CI Acid Blue 121	
5	CI Acid Blue 47	
6	CI Acid Blue 23	
7	CI Solubilized Vat Blue 5	
8	CI Solubilized Vat Blue 8	Poco cambio de color o nulo





LABORATORIO TEXTIL

FORMATO DE ENSAYO DE SOLIDEZ A LA LUZ

LFP-PTE-07-F1
Fecha: 2016-07-05
Versión: 0
Página 2 de 2

RESPONSABLE

Nombre:....José Posso.....

Cargo: Responsable de laboratorio de calidad.....





LABORATORIO TEXTIL

FORMATO DE ENSAYO DE SOLIDEZ A LA LUZLFP-PTE-07-F1
Fecha: 2016-07-05
Versión: 0
Página 1 de 2

FECHA DEL ENSAYO:	2016-11-11
FECHA DE SOLICITUD DEL ENSAYO:	2016-11-09
NÚMERO DE LA SOLICITUD:	MLAB-06
ENSAYO SOLICITADO:	Textiles. Ensayos de solidez del color. Parte B02: Solidez del arco a la luz artificial. Lámpara de arco de Xenón.
NORMA A EMPLEAR:	NTE INEN-ISO 105 B02:2014

MUESTRAS

CÓDIGO NRO	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD
MLAB-13	Tela de lana acabado hexano	0,1 metros

RESULTADOS DEL ENSAYO

TEMPERATURA INICIAL:	36 ° C	HUMEDAD RELATIVA INICIAL:	45 % HR
TEMPERATURA FINAL:	36 ° C	HUMEDAD RELATIVA FINAL:	45 % HR

EQUIPO:

- Equipo de ensayo de solidez a la luz: James Heal. Modelo: Trufade 200.
- Número de posiciones: 27.

ESPECIFICACIONES:

- Método: 1 (1 recomendado, 2, 3, 4 o 5)
- Condiciones de exposición: 36°C y 45 % HR
- Condiciones de evaluación: 20 °C y 60 % HR (recomendado 20°C y 65% HR)
- Número de probetas: 1

RESULTADOS OBTENIDOS

Muestra: MLAB-2016-13

Escala de Grises

ÍNDICE DE SOLIDEZ	1,5
--------------------------	------------

NOTA: Los resultados expresados son exclusivos de las muestras ensayadas.**ESCALA DE AZULES**

GRADO	COLORANTE (Designación del índice de color)	DESCRIPCIÓN
1	CI Acid Blue 104	Cambio externo del color
2	CI Acid Blue 109	
3	CI Acid Blue 83	
4	CI Acid Blue 121	
5	CI Acid Blue 47	
6	CI Acid Blue 23	
7	CI Solubilized Vat Blue 5	
8	CI Solubilized Vat Blue 8	Poco cambio de color o nulo





LABORATORIO TEXTIL

**FORMATO DE ENSAYO DE SOLIDEZ A LA
LUZ**

LFP-PTE-07-F1
Fecha: 2016-07-05
Versión: 0
Página 2 de 2

RESPONSABLE

Nombre:....José Posso.....

Cargo: Responsable de laboratorio de calidad.....



ANEXO D. NORMAS



Quito – Ecuador

NORMA
TÉCNICA
ECUATORIANA

NTE INEN-ISO 105-B04

Primera edición
2014-01

**TEXTILES. ENSAYOS DE SOLIDEZ DEL COLOR. PARTE B04:
SOLIDEZ DEL COLOR A LA INTEMPERIE ARTIFICIAL: LÁMPARA DE
ARCO DE XENÓN (ISO 105-B04:1994, IDT)**

TEXTILES. TESTS FOR COLOUR FASTNESS. PART B04: COLOUR FASTNESS TO ARTIFICIAL WEATHERING: XENON ARC FADING LAMP TEST (ISO 105-B04:1994, IDT)

Correspondencia:

Esta Norma Técnica Ecuatoriana es una traducción idéntica de la Norma Internacional ISO 105-B04:1994

DESCRIPTORES: Textiles, ensayo, solidez del color, intemperie artificial, lámpara, arco de flexión.
ICS: 59.080.01

13 Páginas

© ISO 1994– Todos los derechos reservados
© INEN 2014.

Prólogo nacional

Esta Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN-ISO 105-B04 es una traducción idéntica de la Norma Internacional ISO 105-B04:1994, "*Textiles. Tests for colour fastness. Part B04: Colour fastness to artificial weathering: Xenon arc fading lamp test*", la fuente de la traducción es la norma adoptada por AENOR. El comité nacional responsable de esta Norma Técnica Ecuatoriana y de su adopción es el Comité Interno del INEN.

EXTRACTO

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: NTE INEN-ISO 105-B04
TÍTULO: TEXTILES. ENSAYOS DE SOLIDEZ DEL COLOR. PARTE B04: SOLIDEZ DEL COLOR A LA INTEMPERIE ARTIFICIAL: LÁMPARA DE ARCO DE XENÓN (ISO 105-B04:1994, IDT)
Código: ICS 59.080.01

ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio: 2013-11-25	REVISIÓN: La Subsecretaría de la Calidad del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de norma Oficialización con el Carácter de por Resolución No. publicado en el Registro Oficial No. Fecha de iniciación del estudio:
--	---

Fechas de consulta pública: 2013-11-27 al 2013-12-12

Comité Interno del INEN:
Fecha de iniciación: 2013-12-13
Integrantes del Comité Interno:

Fecha de aprobación: 2013-12-13

NOMBRES:

Eco. Agustín Ortiz (Presidente)
Ing. José Luis Pérez
Ing. Paola Castillo
Ing. Tatiana Briones

Ing. Laura González
Ing. Bolívar Cano
Ing. Gonzalo Arteaga (Secretaría Técnica)

INSTITUCIÓN REPRESENTADA:

DIRECCION EJECUTIVA
COORDINACIÓN GENERAL TÉCNICO
DIRECCIÓN DE NORMALIZACIÓN
DIRECCIÓN DE VALIDACIÓN Y
CERTIFICACIÓN
DIRECCIÓN DE METROLOGÍA
DIRECCION DE REGLAMENTACIÓN
DIRECCIÓN DE NORMALIZACIÓN

Otros trámites: Compromiso Presidencial N° 20549 del 08 de junio del 2013, para el fortalecimiento de normas del Instituto Ecuatoriano de Normalización – INEN

La Subsecretaría de la Calidad del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de norma

Oficializada como: Voluntaria Por Resolución No. 13526 de 2013-12-20
Registro Oficial Suplemento No. 156 de 2014-01-07

NORMA ISO 105 A02:1993

IS/ISO 105-A02 : 1993
(Superseding IS 768 : 1982)

भारतीय मानक
वस्त्रादि — रंग के पक्केपन के परीक्षण
भाग ए02 रंग में परिवर्तन के निर्धारण के ग्रे स्केल

Indian Standard

TEXTILES — TESTS FOR COLOUR FASTNESS

PART A02 GREY SCALE FOR ASSESSING CHANGE IN COLOUR

ICS 677.016.47 : 620.191.73.05

© BIS 2006

BUREAU OF INDIAN STANDARDS
MANAK BHAVAN, 9 BAHADUR SHAH ZAFAR MARG
NEW DELHI 110002

November 2006

Price Group 2

NATIONAL FOREWORD

This Indian Standard (Part A02) which is identical with ISO 105-A02 : 1993 'Textiles — Tests for colour fastness — Part A02 : Grey scale for assessing change in colour' issued by the International Organization for Standardization (ISO) was adopted by the Bureau of Indian Standards on the recommendation of the Chemical Methods of Test Sectional Committee and approval of the Textile Division Council.

The text of ISO Standard has been approved as suitable for publication as an Indian Standard without deviations. Certain conventions are, however, not identical to those used in Indian Standards. Attention is particularly drawn to the following:

- a) Wherever the words 'International Standard' appear referring to this standard, they should be read as 'Indian Standard'.
- b) Comma (,) has been used as a decimal marker while in Indian Standards, the current practice is to use a point (.) as the decimal marker.

With the publication of this standard, IS 768 : 1982 'Methods for evaluating change in colour (*first revision*)' stands withdrawn.

The composition of Technical Committee responsible for the preparation of this standard is given in National Annex A.

In reporting the results of a test or analysis made in accordance with this standard, if the final value observed or calculated, is to be rounded off, it shall be done in accordance with IS 2 : 1960 'Rules for rounding off numerical values (*revised*)'.

*Indian Standard***TEXTILES — TESTS FOR COLOUR FASTNESS****PART A02 GREY SCALE FOR ASSESSING CHANGE IN COLOUR****1 Scope**

This part of ISO 105 describes the grey scale for determining changes in colour of textiles in colour fastness tests, and its use. A precise colorimetric specification of the scale is given as a permanent record against which newly prepared working standards and standards that may have changed can be compared.

2 Principle

2.1 The essential, or 5-step, scale consists of five pairs of non-glossy grey colour chips (or swatches of grey cloth), which illustrate the perceived colour differences corresponding to fastness ratings 5, 4, 3, 2 and 1. This essential scale may be augmented by the provision of similar chips or swatches illustrating the perceived colour differences corresponding to the half-step fastness ratings 4-5, 3-4, 2-3 and 1-2, such scales being termed 9-step scales. The first member of each pair is neutral grey in colour and the second member of the pair illustrating fastness rating 5 is identical with the first member. The second members of the remaining pairs are increasingly lighter in colour so that each pair illustrates increasing contrasts or perceived colour differences which are defined colorimetrically. The full colorimetric specification is given below.

2.2 The chips or swatches shall be neutral grey in colour and shall be measured with a spectrophotometer with the specular component included. The colorimetric data shall be calculated using CIE 1964 supplementary standard colorimetric system (10° observer data) for illuminant D₆₅.

2.3 The Y tristimulus value of the first member of each pair shall be 12 ± 1 .

2.4 The second member of each pair shall be such that the colour difference between it and the adjacent first member is as follows:

Fastness grade	CIELAB difference	Tolerance
5	0	0,2
(4-5)	0,8	$\pm 0,2$
4	1,7	$\pm 0,3$
(3-4)	2,5	$\pm 0,35$
3	3,4	$\pm 0,4$
(2-3)	4,8	$\pm 0,5$
2	6,8	$\pm 0,6$
(1-2)	9,6	$\pm 0,7$
1	13,6	$\pm 1,0$

(Bracketed values apply only to the 9-step scale.)

2.5 Use of the scale. Place a piece of the original textile and the tested specimen of it side by side in the same plane and oriented in the same direction. Place the grey scale nearby in the same plane. The surrounding field should be neutral grey colour approximately midway between that illustrating grade 1 and that illustrating grade 2 of the grey scale for assessing change in colour (this is approximately Munsell N5). If necessary to avoid effects of the backing on the appearance of the textiles, use two or more layers of the original textile under both original and tested specimens. Illuminate the surfaces with north sky light in the Northern hemisphere, south sky light in the Southern hemisphere, or an equivalent source with an illumination of 600 lx or more. The light should be incident upon the surfaces at approximately 45°, and the direction of viewing approximately perpendicular to the plane of the surfaces. Compare the visual difference between original and tested material with the differences represented by the grey scale.

If the 5-step scale is used, the fastness rating of the specimen is that number of the grey scale which has a perceived colour difference equal in magnitude to the perceived colour difference between the original and the treated specimens; if the latter is judged to be nearer the imaginary contrast lying midway between two adjacent pairs than it is to either, the tested specimen is given an intermediate assessment, for example 4-5 or 2-3. A rating of 5 is given only when there is no perceived difference between the tested specimen and the original material.

If the 9-step scale is used, the fastness rating of the specimen is that number of the grey scale which has a perceived colour difference nearest in magnitude to the perceived colour difference between the original piece and the tested specimen. A rating of 5 is given only when there is no perceived difference between the tested specimen and the original material.

When a number of assessments have been made, it is very useful to compare all the pairs of original and tested specimens which have been given the same numerical rating. This gives a good indication of the consistency of the assessments, since any errors become prominent. Pairs which do not appear to have the same degree of contrast as the remainder of their groups should be re-checked against the grey scale and, if necessary, the rating should be changed.

3 Describing colour changes in fastness tests

3.1 In using the grey scale, as outlined in 2.5, the character of the change in colour, whether in hue, depth, brightness or any combination of these, is not rated: the overall difference or contrast, between original and tested specimens, is the basis for the assessment.

3.2 If, as in rating dyes on textiles for example, it is desired to record the character of the change in colour of the textile in the test, appropriate qualitative terms may be added to the numerical rating, as illustrated by the examples shown in table 1.

Table 1 — Examples of descriptions of change in character

Rating	Meaning	
	Contrast corresponding to following grades of grey scale	Character of change
3	Grade 3	Loss in depth of colour only
3 redder	Grade 3	No significant loss in depth but colour redder
3 weaker yellower	Grade 3	Loss in depth and change in hue
3 weaker bluer duller	Grade 3	Loss in depth and change in both hue and brightness
4-5 redder	Intermediate between grades 4 and 5	No significant loss in depth but colour slightly redder

3.3 When changes in colour occur in two or three directions, it is considered neither feasible nor necessary to indicate the relative magnitude of each change.

3.4 When the space available for recording qualitative terms is restricted, as on pattern cards, the abbreviations shown in table 2 may be used.

Table 2 — Abbreviations of qualitative terms

Abbreviation	Meaning	French abbreviation
Bl	Bluer	B
G	Greener	V
R	Redder	R
Y	Yellower	J
W	Weaker	C
Str	Stronger	F
D	Duller	T
Br	Brighter	Pu

NATIONAL ANNEX A

(National Foreword)

COMMITTEE COMPOSITION

Chemical Methods of Test Sectional Committee, TX 05

Organization	Representative(s)
Textiles Committee, Mumbai	DR G. S. NADIGER (<i>Chairman</i>) SHRI E. VISWAMBHARAM (<i>Alternate</i>)
Bapuji Institute of Engineering & Technology, Davangere	DR H. L. VLAYKUMAR DR K. MURUGESH BABU (<i>Alternate</i>)
Central Institute for Research on Cotton Technology, Mumbai	DR (Ms) C. R. RAJE DR R. H. BALASUBRAMANYA (<i>Alternate</i>)
Central Pollution Control Board, Delhi	DR M. Q. ANSARI SHRI AJAY AGGARWAL (<i>Alternate</i>)
Clariant India Ltd, Mumbai	DR V. G. NAYAK
Directorate of Standardization (Production & Supplies), New Delhi	LT-COL (DR) R. SRIVASTAVA LT-COR B. MANJUNATH (<i>Alternate</i>)
In personal capacity (2 Siddhi Vinayak Cooperative Group Housing Society, Swatantrya Veer Savarkar Marg, Prabhadevi, Dadar, Mumbai)	SHRI M. D. DIXIT
Indian Institute of Carpet Technology, Bhadohi	PROF (DR) K. K. GOSWAMI SHRIMATI BETTY DAS GUPTA (<i>Alternate</i>)
Indian Jute Industries' Research Association, Kolkata	SHRI A. K. BANERJEE
Jaya Shree Textiles, Rishra	SHRI ABHEY NAIR SHRI PAWAN SHARMA (<i>Alternate</i>)
L. N. Chemical Industries, Mumbai	SHRI KETAN L. GANDHI
Maniklal Verma Textile Institute, Bhilwara	DR N. K. MATHUR
Man-Made Textile Research Association, Surat	DR SANDEEP R. NAIK SHRI M. G. PATEL (<i>Alternate</i>)
Ministry of Defence (DGQA), Kanpur	LT-COL P. P. NAIDU SHRI RAMA YADAV (<i>Alternate</i>)
Ministry of Defence (R&D), Kanpur	MS ARCHANA VYAS MS PRIYANKA KATIYAR (<i>Alternate</i>)
Office of the Textile Commissioner, Mumbai	SHRI R. A. LAL
Premier Colorscan Instruments Pvt Ltd, Thane	SHRI RAYMOND RAMRAJKAR SHRI D. I. DESAI (<i>Alternate</i>)
Rajasthan Spinning and Weaving Mills Ltd, Noida	SHRI K. D. JOSHI SHRI VIJAY YADAV (<i>Alternate</i>)
Reliance Industries Ltd, New Delhi	SHRI P. K. BADAMI SHRI SANJEEV ISRANI (<i>Alternate</i>)
SNDT Women's University, Mumbai	DR (Ms) BHARATI A. PATWARDHAN
Suditi Industries Ltd, Mumbai	SHRI R. CHINRAJ SHRI RAJENDRA GAIKWAD (<i>Alternate</i>)
Sunil Industries Ltd, Mumbai	SHRI VINOD G. LATH SHRI RAMESH KHANNA (<i>Alternate</i>)
Texan Lab, Mumbai	SHRI ULLHAS NIMKAR SHRI RAHUL BHAJEKAR (<i>Alternate</i>)
Textiles & Engineering Institute, Ichalkaranji	PROF S. K. LAGA PROF S. S. CHINCHWADE (<i>Alternate</i>)
The Bombay Millowner's Association, Mumbai	SHRI MAHESH SHARMA

IS/ISO 105-A02 : 1993

<i>Organization</i>	<i>Representative(s)</i>
The Bombay Textile Research Association, Mumbai	SHRI B. S. ACHARYA SHRI P. R. MISTRY (<i>Alternate</i>)
The South India Textile Research Association, Coimbatore	SHRI D. BALASUBRAMANIAN
The Synthetics & Art Silk Mills' Research Association, Mumbai	SHRI K. S. TARAPOREWALA SHRI D. L. SHAH (<i>Alternate</i>)
University Department of Chemical Technology, Mumbai	PROF M. D. TELI PROF S. R. SHUKLA (<i>Alternate</i>)
Veermata Jeejabai Technological Institute, Mumbai	PROF K. D. GAWAND
Wool Research Association, Thane	SHRIMATI G. P. RANE SHRI V. C. PANSE (<i>Alternate</i>)
BIS Directorate General	SHRI M. S. VERMA, Director and Head (TXD) [Representing Director General (<i>Ex-officio</i>)]

Member Secretary
SHRI ANIL KUMAR
Joint Director (Textiles), BIS

Bureau of Indian Standards

BIS is a statutory institution established under the *Bureau of Indian Standards Act, 1986* to promote harmonious development of the activities of standardization, marking and quality certification of goods and attending to connected matters in the country.

Copyright

BIS has the copyright of all its publications. No part of these publications may be reproduced in any form without the prior permission in writing of BIS. This does not preclude the free use, in the course of implementing the standard, of necessary details, such as symbols and sizes, type or grade designations. Enquiries relating to copyright be addressed to the Director (Publications), BIS.

Review of Indian Standards

Amendments are issued to standards as the need arises on the basis of comments. Standards are also reviewed periodically; a standard along with amendments is reaffirmed when such review indicates that no changes are needed; if the review indicates that changes are needed, it is taken up for revision. Users of Indian Standards should ascertain that they are in possession of the latest amendments or edition by referring to the latest issue of 'BIS Catalogue' and 'Standards: Monthly Additions'.

This Indian Standard has been developed from Doc: No. TXD 05 (0788).

Amendments Issued Since Publication

Amend No.	Date of Issue	Text Affected

BUREAU OF INDIAN STANDARDS

Headquarters:

Manak Bhavan, 9 Bahadur Shah Zafar Marg, New Delhi 110002

Telephones: 2323 0131, 2323 3375, 2323 9402

website : www.bis.org.in

Regional Offices:

Telephones

Central : Manak Bhavan, 9 Bahadur Shah Zafar Marg
NEW DELHI 110002

{ 2323 7617
2323 3841

Eastern : 1/14 C.I.T. Scheme VII M, V.I.P. Road, Kankurgachi
KOLKATA 700054

{ 2337 8499, 2337 8561
2337 8626, 2337 9120

Northern : SCO 335-336, Sector 34-A, CHANDIGARH 160022

{ 260 3843
260 9285

Southern : C.I.T. Campus, IV Cross Road, CHENNAI 600113

{ 2254 1216, 2254 1442
2254 2519, 2254 2315

Western : Manakalaya, E9 MIDC, Marol, Andheri (East)
MUMBAI 400093

{ 2832 9295, 2832 7858
2832 7891, 2832 7892

Branches: AHMEDABAD. BANGALORE. BHOPAL. BHUBANESHWAR. COIMBATORE. FARIDABAD. GHAZIABAD. GUWAHATI. HYDERABAD. JAIPUR. KANPUR. LUCKNOW. NAGPUR. NALAGARH. PATNA. PUNE. RAJKOT. THIRUVANANTHAPURAM. VISAKHAPATNAM.