

# Capacidad Antioxidante Y Contenido De Fenoles, En Muestras De Lignina Obtenidas Por Precipitación En Medio Ácido A Partir De Licor Negro

González Aura Marina<sup>1</sup>; Celis María Teresa<sup>2</sup>; Fernández Antonio<sup>1</sup>; Lucena Haidee<sup>3</sup>; Rodríguez-Malaver Antonio<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidad de los Andes, Escuela de Ingeniería Química, Laboratorio de Análisis Instrumental, Mérida-Venezuela,

<sup>2</sup>Universidad de los Andes, Escuela Básica Ingeniería, POLYCOL Laboratorio de Polímeros y Coloides, Mérida-Venezuela

<sup>3</sup>Universidad de los Andes, Escuela de Ingeniería Química, Mérida-Venezuela

<sup>4</sup>Universidad de los Andes, Facultad de Medicina, Laboratorio de Bioquímica Adaptativa, Mérida-Venezuela

**Resumen:** En la estructura de la lignina abundan los grupos fenólicos, y pueden representar alto contenido de antioxidantes, por lo tanto el objetivo de este trabajo es estudiar el contenido de fenoles y la capacidad antioxidante de las ligninas obtenidas a través de precipitación a pH (2, 5 y 7), a partir del licor negro (LN), se utilizó ácido sulfúrico y ácido clorhídrico como precipitantes. Para determinar polifenoles se usó el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, y se expresa en mg de ácido gálico equivalentes (GAE)/g muestra. La capacidad antioxidante se evaluó por el Método ABTS, en mM TEAC o capacidad antioxidante equivalente en Trolox. Los resultados reportaron que existe correlación entre la capacidad antioxidante de algunos colorantes naturales y las muestras de lignina obtenidas por precipitación y la muestra del LN.

**Palabras clave:** Capacidad antioxidante, ligninas precipitadas, pH, ligninas a pH ácido, Fenoles.

## Antioxidant capacity and phenolic content in samples of Lignin obtained by precipitation Middle acid from Black Liquor

**Abstract:** In the structure of lignin phenolic groups abound, and it may represent high antioxidant content, therefore the objective of this work is to study the phenolic content and antioxidant capacity of lignins obtained through precipitation at pH 2.5 and 7 from black liquor (LN), sulfuric acid and hydrochloric acid was used as precipitants. In order to determinate polyphenols the colorimetric method of Folin-Ciocalteu was used, and is expressed in mg gallic acid equivalents (GAE) / g sample. The antioxidant capacity was evaluated by the ABTS method in mM TEAC or Trolox equivalent antioxidant capacity. The results reported that there is a correlation between the antioxidant capacity of some natural dyes and the lignin samples obtained by precipitation and sample of LN.

**Key words:** Antioxidant capacity, precipitated lignins, pH, acidic pH lignins, Phenols.

### 1. INTRODUCCIÓN

La lignina constituye una fuente potencial de materias primas industriales, ya que su estructura contiene grupos químicos susceptibles de ser aprovechados como: Los anillos aromáticos, los oxhidrilos alcohólicos y fenólicos, los grupos metoxilos y carbonilos (Rodríguez et al. 1990). Los grupos sustituyentes en general están en las posiciones  $\alpha$  y  $\beta$  de los grupos alquil C3 unidos a las estructuras fenólicas. La combinación de solubilidad en agua y en grasa de ligninas y lignosulfonatos, combinada con la protección de fenoles y la estructura macromolecular hace que tengan unas aplicaciones muy interesantes, como: Agentes dispersantes, antioxidantes, aglutinantes, inhibidores de la corrosión, etc. Según Satyanarayana, Arizaga & Wypych, en el 2009, el ácido

lignosulfónico actúa como antioxidante, algunas mezclas de ácido lignosulfónico han mostrado ser eficientes y más económicas en relación con antioxidantes sintéticos. La lignina y el lignosulfonato son residuos industriales susceptibles de utilización para la formulación de materiales filmogénicos por su naturaleza polimérica, biodegradabilidad, baja citotoxicidad, alta capacidad antioxidante, etc.

El aislamiento de la lignina en el laboratorio puede llevarse a cabo por diversos métodos: La disolución de los carbohidratos, recuperándose la lignina como un residuo, y la disolución de la lignina, dejando los carbohidratos como residuo, según Casey (1990).

Se seleccionó el procedimiento de precipitar lignina en medio ácido, por ser sencillo y rentable, partiendo del licor negro residuo del proceso para producir papel.

gonzaura@ula.ve

Recibido:

Aceptado:

Publicado: 30/09/2016

La oxidación es un proceso con un impacto económico en: Alimentos, plásticos, gasolinas, gomas etc., que están expuestos al aire y que serán sometidos continuamente a este tipo de reacciones. Las especies reactivas del oxígeno (ROS, del inglés reactive oxygen species) pueden ser radicales libres como el radical hidroxilo (OH<sup>•</sup>) y el anión superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), y otras especies como el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y el oxígeno singlete (O<sub>2</sub><sup>\*</sup>), que no es un radical sino una especie activada. Los antioxidantes son compuestos que previenen dicha degradación, la mayoría de los plásticos y gomas en contacto con los alimentos y otros materiales contienen antioxidantes para protegerse contra el ataque del oxígeno. A través de efectos aditivos y de sinergia entre los compuestos con actividad antioxidante presentes en frutas y verduras, pueden proporcionar mejor protección contra ROS que un solo compuesto (Isabelle et al. 2010).

Los antioxidantes captan los radicales intermedios reduciendo así las reacciones en cadena de oxidación. Los compuestos que pueden actuar como antioxidantes se encuentran generalmente en: Vitaminas C y E, carotenoides, antocianinas, flavonoides y otros compuestos fenólicos (Lako et al., 2007; Baskar et al., 2007; Contreras et al. 2010, y Kuskoski et al. 2004).

Muchos de estos antioxidantes son lipofílicos y particularmente importantes en la oxidación de lípidos en todos los sistemas, así como otros radicales que son muy activos fisiológicamente (Karadag, et al. 2009). Entre los métodos químicos utilizados para determinar la capacidad antioxidante (captación de radicales libres), el radical ABTS es uno de los más rápidos, originando resultados reproducibles y coherentes (Vit et al. 2008), además, el ABTS presenta importantes ventajas: Muestra varios máximos de absorción y una buena solubilidad, permitiendo el ensayo de compuestos tanto de naturaleza lipofílica como hidrofílica.

La lignina es un subproducto en la industria del papel y presenta potenciales aplicaciones (García-Rojas et al. 2009), por lo tanto en este trabajo se tiene por objeto determinar el índice de fenoles totales (FT), y la capacidad antioxidante en muestras de ligninas precipitadas a distintos pH, partiendo del licor negro, residuo de la industria papelera precipitado con ácido sulfúrico y ácido clorhídrico, a fin de aportar información sobre posibles aplicaciones de estas ligninas en la industria.

## 2. METODOLOGÍA

### 2.1 Preparación y análisis de las muestras

Licor Negro (LN) proviene de una mezcla de (*GMelina* y de la especie *caribea* familia pinácea, género *Pinus*), proveniente de la industria papelera Mocarpel ubicada en Yaracuy, Venezuela, fue evaluado en sus propiedades color, olor, turbidez, sólidos totales, sólidos fijos, sólidos volátiles, y el pH evaluado con pH metro Metrohm.

Los Sólidos Totales (ST), se determinaron según al método 2540B (Standard Methods, 1998) expresado por la Ecuación (1).

Se evaporaron cinco muestras de 100 mL a 105°C por 24 horas en una estufa (Fisher Isotemp), las muestras se colocaron en cápsulas de porcelana previamente secadas y pesadas, para luego proceder a determinar el peso.

$$ST (\% p/v) = \frac{\text{peso}_{\text{residuo}} - \text{sec}}{\text{Volumen}_{\text{licor}} - \text{negro}} \times 100 \quad (1)$$

Sólidos Fijos (SF) y Sólidos Volátiles (SV). Se determinaron por el método 2540E (Standard Methods, 1998).

Las muestras resultantes de los sólidos totales se colocaron en una mufla (Fisher Isotemp modelo 184) a 550°C por media hora. Luego se pesaron, la diferencia en peso perdido en la mufla permite determinar el peso que quedó en la capsula, corresponde al de los sólidos fijos o inorgánicos y la diferencia de peso entre sólidos totales – sólidos fijos, corresponde a los volátiles u orgánicos.

### 2.2 Precipitación a diferentes pH

A partir del licor negro (LN) con pH (12,8), se precipitaron muestras de ligninas a pH (2), pH (5) y pH (7), usando dos ácidos, clorhídrico (HCl) y sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ambos (Riedel de Haën) 0,1N.

A 100 mL de LN se le adicionó ácido según el pH requerido, ajustando el pH con un pH metro Metrohm, el precipitado, es centrifugado a 3000 rpm y separado por sucesivos lavados. Al precipitar con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> se obtienen muestras nombradas como: LS 2, LS 5, LS 7; las muestras obtenidas con HCL son: LCl 2, LCl 5, LCl 7, cada número asignado representa al pH de precipitación. Una porción del LN original y las muestras de precipitación se dejaron a sequedad en estufa (Fisher Isotemp) a 50°C por aproximadamente 72 horas, almacenadas en recipientes de vidrio.

### 2.3 Espectros UV VIS.

Para realizar los espectros se pesan aproximadamente 0,052 g de muestra seca y se disuelve en 50 ml NaOH 0,01 N. A cada muestra se les realizó un escaneo en la zona de 200 a 700 nm, en el espectrofotometro UV VIS MILTON ROY Genesis 5, el blanco utilizado fue (NaOH 0,01N).

### 2.4 Contenido de fenoles en las muestras (Singleton 1999).

La concentración de fenoles totales fue medida por espectrofotometría UV VIS, basándose en una reacción colorimétrica de óxido-reducción. El agente oxidante utilizado fue el reactivo de Folin-Ciocalteu. A 0,1 ml de muestra de lignina (2 mg/mL) preparada a partir de la muestra seca diluida en NaOH (Merck), 0,01 N, se le adicionó 0,5 ml de reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma Chemical co) (1:10) la mezcla se agito en el vortex y se le adicionó 0,4 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5% (w/v) (Reactivos PROQUIM, C.A), se midió la absorbancia a 765 nm luego de 10 min. La curva de

calibración se prepara a partir del ácido gálico (Sigma). El contenido de polifenoles se expresa en mg de ácido gálico equivalentes (GAE)/g muestra.

### 2.5 Capacidad antioxidante Método ABTS

En este método presentado por (Re et al. 1999) se tomó 1ml de solución de muestra de lignina (0,052 g/50ml de NaOH 0,01 N), se centrifugó a 5000 rpm por 5 minutos, el sobrenadante fue utilizado para determinar la actividad antioxidante.

El radical ABTS se obtiene tras la reacción de ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico, A-1888) (7mM) (Sigma-Aldrich) con persulfato de amonio (4,9 mM) (IQE, Industrias Químicas Erba), mezclados en proporción 1:1 incubados a  $\pm 37$  (°C) en la oscuridad durante 16 h. Ya formado el radical ABTS se diluye con etanol (Merck) al 20%v/v hasta obtener una señal de absorbancia entre 0,6 y 0,7 a 734 nm.

A 40  $\mu$ L de la solución de ABTS en 960  $\mu$ L de etanol al 20% (v / v), se les adiciono 10 $\mu$ L de la muestra de lignina filtrada. Se registraron los valores de absorbancia entre 0 y 6 min y se calcula el % de decoloración estimado en mM TEAC o capacidad antioxidante equivalente en Trolox. El antioxidante sintético de referencia, Trolox, (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico 97% de Sigma-Aldrich Chemical Co) se utiliza para preparar la curva de calibración en concentración de 0 a 15  $\mu$ M (concentración final) en etanol, se representa en porcentaje de decoloración vs concentración de Trolox, realizando las conversiones respectivas según la cantidad de sólidos en la muestra.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1, se aprecian las propiedades físico-químicas del LN, se observan elevados valores del color, pH y fenoles. En Venezuela existe una legislación sobre las concentraciones de fenoles vertidas a un lecho de agua, según la cual varía la concentración máxima permisible. Para el caso específico de descargas en forma directa e indirecta a río, estuarios, lagos y embalses; se permite un máximo de 0,5 mg/L de fenoles (Gaceta Oficial de la República de Venezuela. Decreto 883, Diciembre 1995), los valores reportados en el LN, indican que debe ser tratado o reutilizado.

Tabla 1. Licor negro original (LN), mezcla de Pino caribe y G melina.

Color	marrón a pardo negrusco
Turbidez	Ligera
Olor	Fuerte
pH	$\approx 12$
Sólidos (%p/v)	-
Totales	$8,53 \pm 0,52$
Fijos	$0,62 \pm 0,09$
Volátiles	$7,90 \pm 0,43$
Fenoles (mg/L)	12

Las Figuras 1 y 2 presentan los espectros de LN y de las ligninas obtenidas por precipitación con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y HCl, se observa en todos los espectros alta señal a 215 nm, y una banda de absorción entre 270 y 285 nm, seguida de una

pequeña meseta a 310 nm. La banda ancha en la zona cercana a 280 nm es la envolvente de las transiciones  $\pi$  a  $\pi^*$  presentes en los distintos grupos cromóforos, representados por aromáticos que se encuentran en la lignina. Según Rojas y Salager (1993), esta señal evidencia la presencia de lignina.

Los espectros de absorción mostrados son similares a los reportados por Romero en 1992, para una muestra de lignina comercial y en corteza de pino (Rosales-Castro et al. (2009). Existen casos donde la longitud de onda es desplazada por la abundante presencia de grupos guayacilpropano y siringilpropano que absorben a 279 y 272 nm respectivamente, para coníferas y latifoleadas.

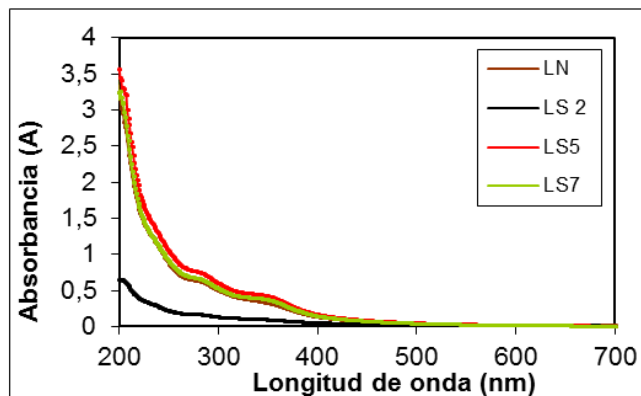


Figura 1. Espectros de LN y ligninas precipitadas con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (LS2, LS5, LS7)

Los espectros de las ligninas precipitadas a pH (5 y 7), indistintamente del ácido usado para la precipitación presentan un comportamiento muy similar al espectro del LN como se aprecia en las Figuras 1 y 2. Cabe señalar que las muestras precipitadas a pH 2 (LS 2 y LCI 2), presentan similar tendencia en el espectro, pero distintas alturas en absorbancia.

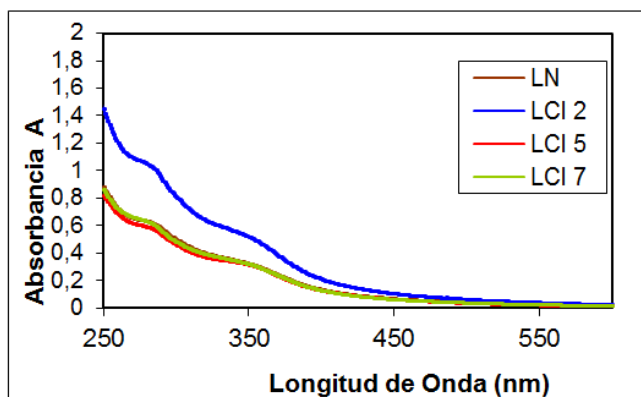


Figura 2. Espectros de LN y ligninas precipitadas con HCl (LCI 2, LCI 5, LCI 7).

Las fracciones de ligninas precipitadas con ácido sulfúrico a pH (2), poseen una solubilidad en agua muy baja, la reacción ocurre en las unidades de fenilpropano, específicamente en las posiciones de bencil-carbono, antes de la reacción están ocupadas por éteres o grupos hidrófilos. Estos dos sustituyentes son sensibles al ácido en condiciones

apropiadas, y pueden formar un ión carbonilo, estos iones bencil-carbonilo tienen tendencia a reaccionar con nucleófilos presentes en el licor negro, situación que provoca la formación de cadenas lipofílicas más largas debido a la creación de nuevos enlaces carbono-carbono, un aumento en la relación C/O y la reducción de la cadena hidrófila por la pérdida de grupos hidroxílicos explican la solubilidad, según (Casey 1990). Otros estudios (Pérez, et al. 2009), demuestran una estrecha relación entre el método de precipitación de la lignina y sus características adsorptivas, presentando diferencias estructurales atribuidas, principalmente a los monómeros de la lignina (siringil, guayacil y p-hidroxifenil). (Hernández, 2007 y Fernández, 2007), afirman que existe una estrecha relación entre el método de precipitación de la lignina y el material lignínico obtenido.

A partir de las muestras precipitadas y de LN, se evaluó el contenido de polifenoles, en la Figura 3 se observa que el contenido de polifenoles es mayor en todas las muestras precipitadas al compararlas con la muestra de LN, destacándose las muestras LCI 2 y LCI 5 quienes presentan mayor contenido de polifenoles que las muestras LS 2 y LS5, obtenidas a similar pH, precipitadas con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

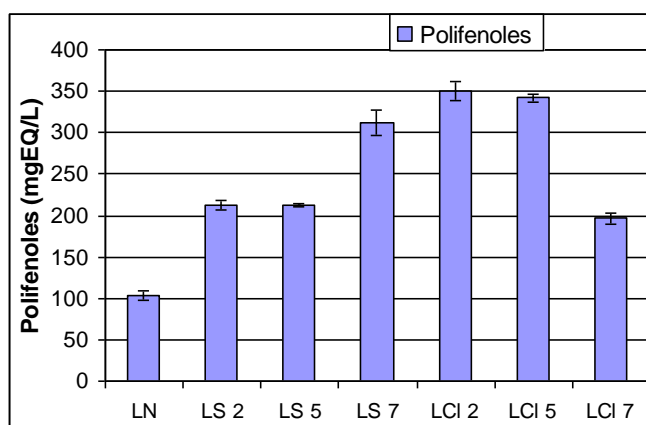


Figura 3. Polifenoles en las muestras de LN y ligninas obtenidas por precipitación (media  $\pm$  DE, n =3).

Al precipitar con ácido sulfúrico se recupera en lignina a pH (7) el 11%, a pH (5) el 20%, y a pH (2) el 47%, valores similares a los obtenidos por García et al. (2009) y Zhu & Thelianch (2015). Aparentemente el precipitar la lignina con HCl permite incrementar el contenido de polifenoles, quienes actúan generalmente como captadores y estabilizadores de radicales libres, por lo tanto, es importante que el contenido de estos aumente.

Según Jablonský, and Haz, en el (2016), los porcentajes en peso de los elementos C, H, N, O, S, y OCH<sub>3</sub>, se ven seriamente afectados por el ácido usado en la precipitación, y determinaron que el contenido de metoxilos más alto se encontró en lignina aislada con HCl a pH (3). En el caso reportado en este estudio el valor más alto en polifenoles, resulto precipitando con HCl a pH (2).

Se presentó una excepción con las muestras obtenidas a pH (7) LCI 7, cabe destacar que a este pH, la recuperación de lignina es menor, casi toda la lignina se encuentra en forma

soluble y es posible que permanezcan otros materiales no lignínicos que afecten la evaluación de los polifenoles.

La actividad antirradical y el poder reductor están relacionados con la polaridad del disolvente y la concentración del extracto según, Martínez en 2007 y Shang, et al. en 2014. Una mejor actividad antioxidante atribuible a la presencia de compuestos fenólicos, aumenta la actividad antirradical y el poder reductor.

En la Figura 4 de capacidad antioxidante, se observa que los valores encontrados para las muestras de ligninas obtenidas por precipitación ácida, reportaron valores mayores que el Trolox u antioxidante sintético usado de referencia, y la capacidad antioxidante de las muestras precipitadas es mayor que la del LN.

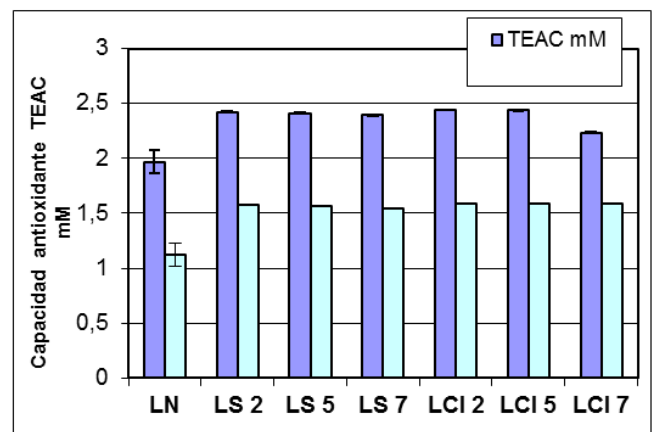


Figura 4. Capacidad antioxidante TEAC para las distintas muestras de lignina precipitada y LN (media  $\pm$  DE, n =3).

Las muestras precipitadas corresponden aproximadamente 2,43mM en capacidad antioxidante, indistintamente del ácido y del pH de precipitación, solo la muestra LCI 7 es un poco menor, se supone por el comportamiento observado anteriormente en cantidad de polifenoles.

Al comparar los valores obtenidos en las muestras precipitadas, con los reportados por Kuskoski et al en el 2004, donde determinaron para patrones de antocianos (colorantes naturales del grupo de flavonoides), delphinidina o cloruro de delphinidina 2,45 $\pm$ 0,14mM por el método de ABTS. En el presente trabajo se reportaron valores muy cercanos como se observa para las siguientes muestras: LS 2: 2,42 $\pm$ 0,01; LS 5: 2,41  $\pm$  0,01; LCI 5: 2,42 $\pm$  0,01mM.

El licor negro presentó una capacidad antioxidante menor en el rango 1,97  $\pm$ 0,10 (mM), más cercano a la Cianidina 3-glucósido que reportó 1,85  $\pm$ 0,26 mM.

Entre los métodos utilizados para determinar la capacidad de un antioxidante para captar radicales libres, el radical ABTS<sup>•+</sup> es uno de los más aplicados, al considerarse un método de elevada sensibilidad, práctico, rápido y muy estable; a pesar de esto los valores de actividad antioxidante pueden depender del tiempo escogido para efectuar la medida. La absorbancia medida por el método ABTS se determina entre 1 y 7 minutos; los resultados obtenidos por algunos investigadores indican que la reacción con el radical ABTS<sup>•+</sup> no se completa hasta pasado 1 minuto, y según Re et al. (1999) y Kuskoski et

al. (2005). En el presente trabajo el tiempo de 4 minutos es el más apropiado. No obstante, Sellappan, et al. (2002), sugieren tiempos de medida de 6 minutos para los patrones de referencia y de 7 minutos para los compuestos puros, extractos de plantas o de alimentos.

Los resultados presentados indican la correlación entre estos colorantes naturales, con capacidad antioxidante y las muestras de lignina obtenidas por precipitación y directamente del secado del LN.

#### 4. CONCLUSIONES

Las propiedades físico-químicas del LN, indicaron elevados valores del color, pH y fenoles por lo tanto deben ser tratados o reutilizados.

Los espectros de las ligninas precipitadas a pH (5) y (7) indistintamente del ácido usado para la precipitación presentan un comportamiento muy similar al espectro del LN, las muestras precipitadas a pH (2), presentan similar tendencia, y distintas alturas en absorbancia.

El contenido de polifenoles es mayor en todas las muestras precipitadas al compararlas con las muestras de LN, destacándose las muestras LCl 2 y LCl 5 sobre las muestras LS 2 y LS 5, obtenidas a similar pH. Aparentemente el precipitar la lignina con HCl permite incrementar los polifenoles.

Existe correlación entre algunos colorantes naturales con capacidad antioxidante y las muestras de lignina obtenidas del LN y por precipitación ácida.

Los fenoles, especialmente los flavonoides y los antocianos, muestran una gran capacidad para captar radicales libres, en algunos casos puede ser más económico suplirlos por derivados de la lignina.

#### REFERENCIAS

- Casey J. (1990) *Pulpa y Papel. Química y Tecnología Química*, Volumen 1. México Limusa.
- Baskar R, Rajeswari V, Sathish-Kumar T. (2007). In vitro antioxidant studies in leaves of Annona species. *Indian J Exp Biol* 45, 480 - 485.
- Contreras J, Calderon L, Guerra E, García B. (2010) Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Research international* 44 (7), 2047-2053.
- Fernández J., (2007), Evaluación de la calidad adsorptiva para Ni y V de lignina Kraft precipitada a diferentes condiciones, Trabajo de grado de Ingeniería Química, Coordinación de Ingeniería Química, Universidad Simón Bolívar, Baruta, Venezuela.
- Gaceta Oficial de la República de Venezuela. Año CXXIII-Mes III. N° 5.021. Extraordinario (1995). Decreto 883. Normas para la clasificación y el control de la calidad de los cuerpos de agua y vertidos o efluentes líquidos. Capítulo II. Artículo 3-4. Caracas, Venezuela.
- García A., Toledano A., Serrano L., Egiús I., González M., Marín F., Labidi J. (2009) Characterization of lignins obtained by selective precipitation. *Separation and Purification Technology*. 68, 193-198
- García-Rojas, L., Márquez-Montesino, F., Aguiar-Trujillo, L., Arauso-Pérez, J., Carballo-Abreu, L., Orea U., & Zanzi, R. (2009). Rendimiento de los productos de la descomposición térmica de la madera de Eucalyptus saligna Smith a diferentes alturas del fuste comercial. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 15(2), 147-154. [Online]. Recuperado 10 de abril de 2016 [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0186-32312009000200009&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-32312009000200009&lng=es&tlng=es)
- Hernández, A. (2007) "Precipitación de lignina a partir de licores negros nacionales", Trabajo de grado Licenciatura en Química, Coordinación de Química Universidad Simón Bolívar, Baruta, Venezuela.
- Isabelle M, Lee BL, Lim MT, Koh W, Huang D, Ong CN. (2010). Antioxidant activity and profiles of common fruits in Singapore. *Food Chem* (123), 77 – 84.
- Jablonský, M and Haz, A (2016). Characterization of lignins precipitated with nitric and hydrochloric acid *International Journal of Recent Scientific Research* 7 (3), 9177-9180
- Karadag A, Ozcelik B, Saner S. (2009). Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Anal Methods* 2, 41 - 60.
- Kuskoski, M., Asuero A., García-Parilla M., Troncoso Ana, & Fett, R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Food Science and Technology Campinas*, 24(4), 691-693. <https://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612004000400036>
- Kuskoski, M., Asuero A., García-Parilla M., Troncoso Ana, Mancini-Filho J & Fett, R. (2005), Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos, *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas*, 25(4): 726-732.
- Lako J, Trenerry VC, Wahlqvist M, Wattanapenpaiboon N, Sotheeswaran S, Premier R. (2007). Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chem*. 101, 1727 - 1741.
- Martínez-Vásquez J, (2007) "Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de heliocarpus terebinthinaceus". Tesis Ingeniero de Alimentos. Huajuapán de león, Oaxaca Mexico
- Pérez-Santodomingo N, Suárez-Penagos R., Delgado-Madera L. (2009). Obtención y Evaluación de Ligninas Procedentes de Licores Negros Nacionales como Adsorbentes 7th Latin American and Caribbean Conference for Engineering and Technology, "Energy and Technology for the Americas: Education, Innovation, Technology and Practice". June 2-5 San Cristóbal, Venezuela
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical in Biology and Medicine*. 26, 1231-1237.
- Rodríguez-Jiménez, J.J., García Herruzo, F. y Cordero Alcántara, T., (1990). Posibilidades de aprovechamiento de los residuos lignocelulósicos. *Ing. Química*. 254, 191-197.
- Rojas, O y Salager, J. (1993). Surface activity of bagasse lignin derivatives found in the spent liquor of soda pulping plants. *Tappi Journal*. 77, 169 -174.
- Romero, L. (1992). "Obtención de agentes dispersantes a partir de ligninas recuperadas de licores de pulpado a la soda de bagazo de caña". Tesis de maestría. Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela.
- Rosales-Castro M., González-Laredo R., Rocha-Guzmán N., Gallegos-Infante J., Peralta-Cruz J. y Karchesy J., (2009) Evaluación química y capacidad antioxidante de extractos polifenólicos de cortezas de Pinus cooperi, P. engelmannii, P. leiophylla y P. teocote. *Madera y Bosques*. 15(3) pp 87-105.

Satyanarayana, K. G.; Arizaga, G. G. C.; Wypych, F. (2009). Biodegradable composites based on lignocellulosic fibers - an overview. *Progress in Polymer Science*. 34, 982-1021[Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2008.12.002>

Sellappan S., Akoh C.C., Krewer G. (2002). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-Grown Blueberries and Blackberries. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 50, 2432-2438

Singleton V L, Orthofer R, Lamuela-Raventos R M, (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299, 152-178.

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. (1998). American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation. Washington DC, USA. 20th Edition. 2-54 a 2-59

Shang YF, Kim SM, Um B-H. (2014) Optimisation of pressurised liquid extraction of antioxidants from black bamboo leaves. *Food Chemistry*. 154, 164-70.

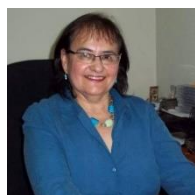
Vit P., Gutiérrez M., Titera D., Bednar M., Rodríguez-Malaver A., (2008) Mielles checas categorizadas según su actividad antioxidante, *Acta Bioquím Clín Latinoam*; 42 (2), 237-44

Zhu Weizhen, & Theliander Hans, (2015). Precipitation of Lignin from softwood black liquor: An investigation of the Equilibrium and Molecular Properties of Lignin. *BioResources* 10(1), 1696-1714



**Aura Marina González F.** Profesor titular de la Escuela de Ingeniería Química Universidad de los Andes. Estudios realizados: Ingeniería Química Universidad de los Andes, Magister Scientiarum en Química Aplicada en espectroscopia molecular, Doctorado en Ciencias Aplicadas a la Ingeniería.

Experiencia docente y de investigación: Profesor titular en el departamento de Química industrial y Aplicada con experiencia en el área de la Química analítica, tratamiento de efluentes, evaluación de alimentos, materiales con actividad superficial, espumas, dispersiones etc. presentaciones en ponencias y congresos nacionales e internacionales, 28 entre monografías y libros, 30 asesorías y tutorías. Premios PEI, PPI.



**Celis María Teresa.** Profesor titular, Facultad de Ingeniería, Universidad de Los Andes- Master en Ingeniería Química, 1997, University of South Florida (USF), USA; Ph.D. en Ingeniería Química 2000, USF, USA; Post.Doc Natural Polymer Surfactants with oil spill dispersion applications-ptions

2012, USF, USA; Directora Laboratorio de Polímeros y Coloides; Editor en Jefe Revista Ciencia e Ingeniería y Coordinadora del Vicerrectorado Académico (ULA).



**Antonio José Fernández Araque.** Asistente de Laboratorio Universidad de Los Andes, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Química, Técnico Medio en Química estudios no concluidos de licenciatura en Química, Experiencia laboral; 1.-Asistente de Laboratorio Universidad de Los Andes, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Química, 2.-Laboratorios Valmorca, Dpto. Investigación y Desarrollo. Asistente de Investigación y Desarrollo en Mérida – Venezuela. 3.-Laboratorios Farma. Analista de Control de Calidad en Caracas – Venezuela. 4.-Laboratorios Behrens Depto. Control de Calidad, Analista de Control de Calidad, Caracas – Venezuela. 5.-Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel” Registro y Control de Medicamentos Técnico Químico. Cursos Cromatografía Líquida (HPLC) Universidad de Los Andes Facultad de Ciencias y en Waters Corporations, Mantenimiento de Equipos de HPLC



**Haidee Noheli Lucena S.** Profesora de la Escuela de Ingeniería Química. Estudios realizados: Ingeniera Químico egresada de la Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela. MSc en Ingeniería de Planta en Los Procesos Industriales, Universidad Tecnológica de Loughboroug Inglaterra, 1981. Cursos en Diseño de Plantas y Procesos Químicos en PDVSA- Venezuela. Tutora de Proyectos de Diseño de Plantas y de pasantías industriales. Investigación, asesoría de Proyectos de Grado y Tesis de Maestría en el área de Transferencia de Masa en Los Procesos Electroquímicos.



**Antonio Jesús Rodríguez Malaver.** Profesor titular Jubilado de la Universidad de los Andes Mérida Venezuela. Estudios realizados: 1.-Universidad Estatal de Odessa I.I. Mechnikov, Master of Science en Biología. 2.-Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (I.V.I.C.). Magister Scientiarum en Biología, mención: Bioquímica. 3.-University of London. Guy's Hospital. United Medical Dental School (UMDS). Doctor of Philosophy (PhD). Experiencia docente y de investigación: Experiencia en radicales libres, antioxidantes etc., presentación de 63 ponencias y congresos nacionales e internacionales, 64 entre monografías y libros, 19 asesorías y tutorías. Premios PEI, PPI, Primer lugar en la Promoción de Post-Grado de Bioquímica del I.V.I.C.