

Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ingeniería Escuela de Ingeniería Química

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL EXTRACTO COLORANTE DE LA CORTEZA DE ALISO COMÚN (Alnus jorullensis Humboldt, Bonpland & Kunth), PROVENIENTE DE SAN LUCAS SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA

Mario Roberto Calderón Guevara

Asesorado por: Inga. Telma Maricela Cano Morales

Guatemala, octubre de 2007

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL EXTRACTO COLORANTE DE LA CORTEZA DE ALISO COMÚN (Alnus jorullensis Humboldt, Bonpland & Kunth), PROVENIENTE DE SAN LUCAS SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA
POR:

MARIO ROBERTO CALDERÓN GUEVARA

ASESORADO POR: INGENIERA TELMA MARICELA CANO MORALES

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2007

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE LA JUNTA DIRECTIVA

DECANO Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos

VOCAL I Inga. Glenda Patricia García Soria

VOCAL II Inga. Alba Maritza Guerrero de López

VOCAL III Ing. Miguel Ángel Dávila Calderón

VOCAL IV Br. Kenneth Issur Estrada Ruiz

SECRETARIA Inga. Marcia Ivónne Véliz Vargas

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos

EXAMINADOR Ing. Otto Raúl de León de Paz

EXAMINADOR Ing. Juan Orlando Posadas Valdez

EXAMINADOR Ing. Federico Guillermo Salazar Rodriguez

SECRETARIA Inga. Marcia Ivónne Véliz Vargas

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Cumpliendo con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL EXTRACTO COLORANTE DE LA CORTEZA DE ALISO COMÚN (Alnus jorullensis Humboldt, Bonpland & Kunth), PROVENIENTE DE SAN LUCAS SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA,

tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, el 24 de abril de 2007.

Mario Roberto Calderón Guevara

AGRADECIMIENTOS A:

Dios Por su infinita misericordia al permitirme

culminar hoy un sueño.

Mis padres Mario René y Karla Lissette, por el sacrificio

hecho por mí y por el amor y apoyo que me

brindaron siempre.

Mi hermana Karla Mariana, por su comprensión, apoyo y

paciencia.

Mis abuelos Por su amor y sus sabias enseñanzas.

Mis primos y tíos Por su cariño y por estar conmigo en cada

momento.

Mis amigos Por su amistad, entusiasmo y apoyo brindado

durante todo este tiempo.

Inga. Telma Cano

Por su asesoría y apoyo durante la realización

de esta investigación.

Ing. César García Por su colaboración y tiempo dedicado en la

revisión de esta investigación.

Universidad de San Carlos de Guatemala

En especial a la Facultad de Ingeniería

ACTO QUE DEDICO A:

Dios Por ser mi guía y mi fortaleza.

Mis padres Mario René Calderón Marín.

Karla Lissette Guevara Herrera.

Mi hermana Karla Mariana Calderón Guevara.

Mis abuelos y Porfirio Beronio Calderón, Gloria Marín de

bisabuelos Calderón, Elma Herrera, Ángela Escalante,

Teresa Pérez y José Valentín Marín D.E.P.

Mis tíos Frinné, Walda y Byron Calderón; Brenda y

Giovanni Guevara y muy en especial a mi tío

Gustavo Alfredo Escalante D.E.P.

Mis primos Nicolle y María Frinné López; Sofía y Gabriela

Calderón; Fernando, Ricardo y Renato

Cambranes, que este logro sea un ejemplo para

su superación personal.

Zúñiga,

Mis amigos Deify Mancilla, Silvia Batres, Juan José Pineda,

Fabiola

Rodolfo Rosales, Rodolfo Ruano, Ana Elisa

Pérez, Maria Andrea Ríos, Alejandra Portillo,

Sandra Orantes,

Jennifer

Santizo, Manolo Muralles, Francisco Paz,

Rodolfo Monzón, Rosario Gudiel, Luis Méndez, José Labin, Carlos Polanco, Luis Trabanino, Adrián Soberanis, Joze del Cid, María José de León, Mario Mérida, Mario Guerrero, Guillermo Estrada, Enrique de León, Felipe Duarte, Julio Sosa, Diego Mendoza, Diego Guillen.

Ingenieros

Otto Raúl de León, Jorge Godinez, César García, Telma Cano, Ericka Cano, Marino Barrientos, por transmitirme sus conocimientos y hacer de esta investigación una realidad.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	
LISTA DE SÍMBOLOS	ΧI
GLOSARIO	XIII
RESUMEN	XVII
HIPÓTESIS	XIX
OBJETIVOS	XXI
INTRODUCCIÓN	XXIII
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1 Colorantes y colorantes naturales	5
2.1.1 Historia de los colorantes naturales	6
2.1.3 Clasificación de los colorantes	8
2.1.3.1 Colorantes de origen animal	8
2.1.3.2 Colorantes de origen vegetal	9
2.1.3.3 Flavonoides	10
2.1.3.4 Carotenoides	12
2.1.4 Clasificación de colorantes naturales utilizados en el teñido	
de fibras	13
2.1.4.1 Características físicas	13
2.1.4.1.1 Colorantes directos	13
2.1.4.1.2 Mordentados	14
2.1.4.1.3 Tipo de reducción	16
2.1.4.1.4 Pigmentos	16

2.1.5 Uso artesanal de colorantes naturales en el teñido de	
fibras naturales	17
2.1.5.1 Fibras textiles naturales	17
2.1.5.2 Fibras de origen vegetal	17
2.1.5.3 Fibras de origen animal	18
2.1.5.4 Fibras de origen mineral	18
2.1.6 Extracción, purificación e identificación de los colorantes	18
2.1.6.1 Tipos de extracciones en plantas	18
2.1.6.2 Purificación e Identificación	.20
2.2 Cromatografía	22
2.2.1 Cromatografía en capa fina	22
2.3 Índice de refracción	23
2.4 Aliso Común	24
2.4.1 Etimología	24
2.4.2 Taxonomía	24
2.4.3 Origen del cultivo	25
2.4.4 Descripción botánica	25
2.4.4.1 Árbol	25
2.4.4.2 Hojas	25
2.4.4.3 Flores	26
2.4.4.4 Fruto	27
2.4.4.5 Semillas	27
2.4.4.6 Raíces	27
2.4.4.7 Ramas	28
2.4.4.8 Corteza	28
2.4.4.9 Propagación	29
2.4.4.9.1 Propagación sexual	29
2.4.4.9.1.1 Obtención y manejo de la semilla	29
2.4.4.9.1.1.1 Fuentes de semilla	29

2.4.4.9.1.1.2 Período de recolección	29
2.4.4.9.1.1.3 Recolección	29
2.4.4.9.1.1.4 Métodos de beneficio de frutos y semillas	30
2.4.4.9.1.1.5 Recomendaciones para su	
almacenamiento	30
2.4.4.9.1.2 Producción de planta	31
2.4.4.9.1.2.1 Período de siembra	31
2.4.4.9.1.2.2 Tratamientos pregerminativos	31
2.4.4.9.1.2.3 Método de siembra	31
2.4.4.9.2 Propagación asexual	32
2.4.4.9.2.1 Varetas, acodos, esquejes, raquetas estacas	32
2.4.4.9.2.1.1 Época de recolección y propagación	32
2.4.4.9.2.1.2 Partes vegetativas útiles	32
2.4.4.9.2.1.3 Métodos de obtención	32
2.4.4.9.2.1.4 Manejo de material vegetativo	33
2.4.4.9.2.1.4.1 Transporte	33
2.4.4.9.2.1.4.2 Almacenamiento	33
2.4.4.9.2.1.5 Tratamientos para estimular	
el enraizamiento	33
2.4.4.9.2.1.6 Trasplante	34
2.4.5 Distribución	34
2.4.5.1 Ecología	34
2.4.5.2 Natural	35
2.4.5.3 Plantada	35
2.4.6 Requerimientos edafoclimáticos	35
2.4.6.1 Altitud (msnm)	35
2.4.6.2 Suelo	36
2.4.6.2.1 Clasificación	36
2.4.6.2.2 Textura	36

2.4.6.2.3 Profundidad	36
2.4.6.2.4 pH	36
2.4.6.2.5 Características físicas	36
2.4.6.2.6 Características químicas	37
2.4.6.3 Temperatura (℃)	37
2.4.6.3.1 Media	37
2.4.6.3.2 Mínima	37
2.4.6.3.3 Máxima	37
2.4.6.4 Precipitación (mm)	37
2.4.6.5 Otros	38
2.4.7 Preparación del Terreno para el cultivo	38
2.4.7.1 Rastreo	38
2.4.7.2 Deshierbe	38
2.4.7.3 Subsolado	38
2.4.7.4 Trazado	38
2.4.7.5 Apertura de cepas	39
2.4.8 Manejo de la planta	39
2.4.8.1 Tipo de envase	39
2.4.8.2 Media sombra	39
2.4.8.3 Control sanitario	39
2.4.8.3.1 Principales plagas y enfermedades	40
2.4.8.4 Labores culturales	40
2.4.8.5Tiempo total para la producción de la especie	40
2.4.9 Transporte de planta	41
2.4.9.1 Selección y preparación de la planta en vivero	41
2.4.9.2 Medio de transporte	41
2.4.9.3 Método de estibado	41
2.4.9.4 Distancia de transporte	42
2.4.10 Protección	42

2.4.10.1 Cercado del terreno	42
2.4.10.2 Plagas y enfermedades forestales (Detección y control).	42
2.4.11 Mantenimiento	.43
2.4.11.1 Deshierbe	43
2.4.11.2 Preaclareos, aclareos y cortas intermedias	43
2.4.11.3 Reapertura de cepas y reposición de la planta	44
2.4.11.4 Construcción y limpieza de brechas cortafuego	44
2.4.12 Aplicaciones	45
2.4.12.1 Restauración y protección	45
2.4.12.2 Agroforestal	45
2.4.12.3 Urbano	45
2.4.12.4 Comercial	46
2.4.12.5 Otros	46
3. METODOLOGÍA	47
3.1 Localización	47
3.2 Recursos humanos	47
3.3 Obtención de las muestras	47
3.4 Diseño de tratamientos	49
3.5 Metodología experimental	50
3.5.1 Materiales y equipo a utilizar en la experimentación	50
3.5.1.1 Materia prima	50
3.5.1.2 Cristalería	50
3.5.1.3 Equipo	50
3.5.1.4 Reactivos	53
3.5.2 Método de extracción del tinte natural a nivel de laboratorio	53
3.5.3 Métodos para la caracterización de los tintes naturales	54
3.5.3.1 Determinación de densidad	54
3.5.3.2 Determinación del índice de refracción	54

3.5.4 Identi	ficación de flavonoides	54
3.5.4.1	Reacciones coloridas	54
3.5.5 Análi	sis cromatográfico en capa fina	55
3.5.5.1	Preparación de la muestra	55
3.5.5.2	Preparación de las soluciones estándar	55
3.5.5.3	Preparación de la fase móvil	56
3.5.5.4	Preparación de la placa cromatográfica	56
3.5.5.5	Desarrollo de la placa cromatográfica	56
3.5.5.6	Preparación de las soluciones reveladoras	57
4. RESULTADOS	3	59
,		
5. DISCUSIÓN D	E RESULTADOS	63
CONCLUSIONES		69
RECOMENDACIO	_	71
	BIBLIOGRÁFICAS	73
BIBLIOGRAFÍA		75
APÉNDICES		77

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1	Gráfico del porcentaje de rendimiento de los extractos tánicos en	
	función del tipo de solvente y de tamaño de partícula.	57
2	Gráfico de la relación del rendimiento del extracto en función del tamaño de partícula para cada tipo de solvente.	81
3	Gráfico de las densidades de los extractos obtenidas para cada solvente utilizado.	86
4	Gráfico de los Índices de Refracción de los extractos obtenidos para cada solvente utilizado.	87
5	Corteza molida de alnus jorullensis HBK.	88
6	Sistema de maceración dinámica a reflujo.	88
7	Filtración de los extractos tintóreos.	89
8	Extracción utilizando el método de maceración dinámica a reflujo.	89
9	Rotaevaporacion de extractos etanólicos y acuosos.	90
10	Extractos tintóreos de alnus jorullensis HBK en polvo.	90
11	Extracto tintóreo de <i>alnus jorullensis HBK</i> rotaevaporado para tamizaje fitoquímico.	91
12	Cromatografía en Capa Fina para la determinación de flavonoides.	91
13	Rendimientos obtenidos para los distintos tamaños de partícula y	92
	solventes utilizados.	

TABLAS

I	Rendimiento promedio porcentual de extractos tánicos, obtenidos a	
	presión atmosférica (640 mmHg).	59
II	Resultados promedio de propiedades fisicoquímicas de los extractos colorantes	60
Ш	Reacción colorida de Shinoda para la identificación de Flavonoides en el extracto colorante.	60
IV	Reacción colorida con Ácido Sulfúrico para la identificación de Flavonoides en los extractos colorantes.	61
V	Análisis cromatográfico en capa fina para la determinación de la presencia de Quercitina, Rutina, Ácido Clorogénico, Hiperósido y Antroquinonas en los extractos colorantes.	61
VI	Prueba de taninos para extracto colorante.	62
VII	Determinación de cumarinas en los extractos colorantes.	62
VIII	Densidad de los extractos colorantes a 20 °C.	77
IX	Porcentaje de rendimiento de extracto colorante en función del solvente y del tamaño de partícula.	78

Χ	Índices de Refracción de los extractos colorantes.	79
ΧI	Análisis de varianza para el tamaño de partícula en función del solvente en base a los rendimientos de los extractos obtenidos.	82
XII	Dependencia entre el tipo de solvente y el tamaño de partícula utilizados.	82
XIII	Promedios de rendimientos de los extractos obtenidos con cada solvente utilizado.	83
XIV	Relación entre los tipos de solventes en función de los rendimientos de los extractos obtenidos para los distintos tamaños de partícula.	83
XV	Promedios de rendimientos de los extractos obtenidos con cada tamaño de partícula para todos solventes utilizados.	84
XVI	Relación entre los tamaños de partícula en función de los rendimientos de los extractos obtenidos para distintos solventes utilizados.	84
XVII	Análisis de Duncan para los rendimientos de los extractos obtenidos en función del tipo de solvente utilizado	85
XVIII	Análisis de Duncan para los rendimientos de los extractos obtenidos en función del tamaño de partícula.	85

XIX	Medias y desviaciones estándar obtenidas en las Densidades e Índices de Refracción de los extractos en los solventes utilizados.	88
XX	ANDEVA de Densidades e Índices de Refracción de los extractos.	88
XXI	Análisis de Duncan para las densidades de los extractos obtenidas en cada solvente utilizado.	89
XXII	Análisis de Duncan para los Índices de Refracción de los extractos obtenidos en cada solvente utilizado.	89

LISTA DE SÍMBOLOS

F Factor comparativo en análisis de varianzas

g Gramos

Hi Hipótesis alternativa

Ho Hipótesis nula

Hp Potencia en horse-power

Hz Hertz Mililitros

PM Peso molecular

rpm Revoluciones por minutoT_{eb.} Temperatura de ebullición

V Volumen

ΔV Variación en el volumen

X Fracción en peso

v/v Relación volumen – volumen

w/v Relación peso – volumen

°C Grados Celsius

% Porcentaje

ho Densidad en g/mL

μL Microlitros

σ Desviación estándar

Yij Observación en el i-ésimo tratamiento en la j-

ésima repetición

GLOSARIO

Alcohol Derivado hidroxilado de un hidrocarburo

parafínico o cicloparafínico, en donde el grupo

OH está ligado a un átomo de carbono saturado.

Caracterización Determinación de las propiedades físicas y

Fisicoquímica químicas de los extractos.

Cromatofolio Placa cromatográfica hecha a base de sílica gel,

utilizada en la cromatografía en capa fina.

Curtiente Compuestos utilizados para preparar y tratar las

pieles para convertirlas en cuero.

Descortezar Quitarle la corteza al árbol.

Extracción Separación de los componentes de cualquier

sustancia por el contacto con un líquido.

Extracto Curtiente Producto preparado por extracción acuosa de

materiales tánicos, seguido por la concentración

de las soluciones, ya sea como un extracto

sólido o líquido.

Flavonoides

Son los pigmentos virtualmente universales en las plantas. Casi siempre solubles en agua y son responsables del color de flores, frutos y, algunas veces, de las hojas. Los flavonoides están también universalmente presentes en la cutícula de la hoja y células epidérmicas donde aseguran protección contra el efecto de la radiación ultravioleta.

Hipótesis

Es un enunciado o conjunto de enunciados que precede a otros enunciados y constituye su fundamento.

Maceración

Operación que consiste en sumergir un sólido vegetal en un líquido para extraer de él sus partes solubles.

Metabolitos Secundarios

Compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es fatal para la planta, ya que no intervienen en el metabolismo primario de las plantas.

Micrones

Unidad de medida adoptada en la micrografía, equivalente a la milésima parte de un milímetro. Unidad de medida utilizada en los tamices.

Picnómetro

Recipiente calibrado para la determinación de densidades mediante pesado.

pН

Valor que representa convencionalmente la concentración de iones de hidrógeno de una disolución acuosa.

Principios Activos

Compuestos químicos de estructura relativamente compleja, como los flavonoides, que ejercen la acción de tinción.

Sinergía

Integración de elementos que da como resultado algo más grande que la simple suma de éstos.

Tamizaje Fitoquímico

El tamizaje fitoquímico es una técnica que se utiliza para detectar metabolitos secundarios presentes en especies vegetales, desde el punto de vista cualitativo y se basa en la realización de reacciones químicas con diferentes reactivos, donde la aparición de determinado color o precipitado coloreado o no, es indicativo de la presencia de un determinado metabolito.

Taninos

Compuestos polifenólicos elaborados en el interior de las plantas principalmente herbáceas y leñosas, formados por carbono, hidrógeno y oxígeno, al aplicarse en pieles las convierten en cueros, en que le confiere una función protectora.

RESUMEN

El propósito principal del trabajo de investigación fue extraer y caracterizar el extracto tintóreo obtenido de una especie forestal guatemalteca: Aliso común (*Alnus jorullensis HBK*), para evaluar la factibilidad de uso como materia prima en la industria textil.

En este trabajo de investigación participaron varias instituciones públicas y privadas, entre estas están: Fundación Gabina J.M. de Momostenango, Totonicapán y Fundación Centro de Servicios Cristianos FUNCEDESCRI, de San Lucas Sacatepéquez, quienes se proyectan hacia los habitantes de diferentes comunidades teniendo como misión la búsqueda de alternativas de agroindustrialización para mejorar el nivel de vida de los mismos; siendo la última quien brindara la corteza del Aliso de su bosque.

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

Se realizó la extracción y caracterización de los extractos tintóreos de la especie forestal guatemalteca Aliso Común (A*lnus jorullensis HBK*), para ello se utilizaron 3 tipos de extractores (agua, etanol al 35% (v/v) y etanol al 70% (v/v)) y 3 tipos de tamaño de partícula de corteza seca (rangos entre 495 y 420 micrones, 420 y 297 micrones, 297 y 250 micrones), con 3 repeticiones para cada una, resultando 27 extracciones en total. Asimismo se realizaron 27

extracciones en total para determinar el porcentaje de rendimiento del extracto en función del tipo del solvente y tamaño de partícula.

El tamaño del tratamiento de maceración dinámica a reflujo fue constante, en función de la relación corteza seca/solvente de 1:10 (w/v), con tiempo de extracción de dos horas y a temperatura de ebullición de la solución, 94 °C para el agua, 89 °C para el etanol al 35% (v/v) y 77 °C para el etanol al 70% (v/v), a presión atmosférica de 640 mmHg.

Los mayores rendimientos se obtuvieron al utilizar el solvente etanólico al 35% (v/v), utilizando un tamaño de partícula entre 297 y 250 micrones, el cual tiene un promedio del 15.78% \pm 0.506.

La presencia de flavonoides y taninos, no se ve afectada por el tipo de solvente ni el tamaño de partícula a utilizar, ya que todos lo extractos presentaron los mismos.

Esta investigación reviste especial interés, debido a que los resultados obtenidos del mismo, ayudarán a establecer los parámetros necesarios para desarrollar a nivel industrial, la extracción no solamente de tintes naturales de la especie forestal estudiada, sino también de otras especies vegetales afines.

HIPÓTESIS

Es factible extraer y caracterizar el extracto tintóreo obtenido de la corteza de Aliso Común para propósitos de obtención de colorantes naturales.

HIPÓTESIS ESTADÍSTICA

Hipótesis Nula

No existe diferencia significativa en el rendimiento de los extractos acuosos y etanólicos obtenidos de la corteza de Aliso Común.

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa en el rendimiento de los extractos acuosos y etanólicos obtenidos de la corteza de Aliso Común.

Hipótesis Nula

No existe diferencia significativa en el rendimiento de los extractos tintóreos de la corteza de Aliso Común para cada solvente a utilizar.

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa en el rendimiento de los extractos tintóreos de la corteza de Aliso Común para cada solvente a utilizar.

Hipótesis Nula

No existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas del extracto tintóreo de la corteza de Aliso Común para cada solvente a utilizar.

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas del extracto tintóreo de la corteza de Aliso Común para cada solvente a utilizar.

OBJETIVOS

GENERAL

Extraer y caracterizar el extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso común, para evaluar la factibilidad de uso como materia prima en la industria textil.

ESPECÍFICOS

- 1. Evaluar el rendimiento del extracto acuoso de la corteza de Aliso Común en función del tamaño de partícula.
- 2. Analizar por medio de un tamizaje fitoquímico y cromatografía en capa fina, los metabolitos secundarios del extracto acuoso.
- 3. Evaluar el rendimiento de los extractos etanólicos de la corteza de Aliso Común, en función del tamaño de partícula.
- 4. Analizar por medio de un tamizaje fitoquímico y cromatografía en capa fina, los metabolitos secundarios de los extractos etanólicos.

INTRODUCCIÓN

Guatemala cuenta con una gran riqueza vegetal, plantas que contienen sustancias activas del tipo colorante como flavonoides, xantonas, quinonas, carotenoides, etc., sustancias que pueden usarse en la industria cosmética, alimenticia o en la industria textil.

El presente trabajo de graduación investigó una especie vegetal, Aliso Común (*Alnus jorullensis HBK*)), con potencial para su uso en la industria textil en el teñido de fibras. Actualmente en las comunidades del altiplano guatemalteco se utiliza la corteza del aliso común para obtener un extracto tintóreo acuoso para el teñido de fibras que se usan en la confección de diversidad de vestuarios. Los mencionados extractos tintóreos acuosos son obtenidos de una manera empírica, por lo que tienen una vida media muy baja y poca disponibilidad en algunas épocas del año; por lo que con los resultados del presente trabajo de investigación se podrá asesorar a pequeños empresarios de la industria textil en la extracción, secado, preservación y aplicación de tintes naturales

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

La corteza del Aliso Común es muy rica en taninos, lo que la hace buena para curtir cuero y extraer tintes. Los principales usos de la madera son para aserrío, construcción, ebanistería e instrumentos musicales, embalaje y cajas para transportar hortalizas. En Guatemala se producen artesanías como joyeros y adornos finos. Éstas son algunas razones que hacen deseada su siembra.

1. ANTECEDENTES

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

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

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

Donado Miranda, asesorado por la Inga. Telma Cano, en mayo del 2000 en el Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería de la USAC realizó

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

En el año 2001, el lng. José Eduardo Calderón en el Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería de la USAC, ejecutó el proyecto FODECYT 13-99, "EXTRACCIÓN DEL COLORANTE ACUOSO, A PARTIR DE LOS RECHAZOS DE EXPORTACIÓN DE LA PRODUCCIÓN NACIONAL DE DOS VARIEDADES DE PITAHAYA, A NIVEL DE PLANTA PILOTO" En este proyecto se evaluó la obtención del extracto acuoso de pitahaya por cuatro diferentes métodos y la factibilidad de industrialización del extracto a partir de los rechazos de la exportación. Las variables que se manejaron fueron: tiempo de extracción, tamaño de lote, temperatura de extracción, relación solvente-fruto y tiempo de maceración. Se evaluó el tiempo de maceración, de 1, 2 y 3 días, a una temperatura de 25°C y 7°C, dando mejores resultados la maceración de 1 día a una temperatura de 7°C. Se utilizaron lotes de 5 y 10 kg de fruta. Para el análisis de cada una de estas variables se efectuaron 3 corridas modificando la variable en cuestión y dejando las demás fijas, se

determinaron así las condiciones óptimas de extracción. Se efectuaron los análisis fisicoquímicos necesarios para tipificar y evaluar la calidad del extracto. Mediante análisis de espectrofotometría se determinó que el colorante acuoso de la pulpa de pitahaya, se asemeja más al colorante sintético rojo FD&C No. 3, por lo que se puede usar en sustitución de éste.

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

Ac Santa Cruz, asesorado por la Inga. Telma Cano, en noviembre de 2004, en el Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería de la USAC, realizó el estudio del trabajo de graduación titulado: "Extracción a nivel de laboratorio de aceite esencial crudo de pericón (*Tagetes lucida Cav*), y utilización del desecho sólido para la extracción del colorante natural, para su uso en el teñido de fibras naturales". Los solventes utilizados fueron: acetona, metanol, etanol, además se utilizaron reacciones coloridas, para identificar el tipo de colorante, así como cromatografía en capa fina y espectro de absorción.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Colorantes y colorantes naturales

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

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

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

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

2.1.1 Historia de los colorantes naturales

Desde las primeras civilizaciones el hombre usó materias colorantes naturales. Los pigmentos o sustancias coloreadas se extraían de plantas, animales y minerales. Estas materias eran empleadas para teñir ropas, pintar las pieles y fabricar objetos religiosos y recreativos

Las sustancias vegetales más empleadas eran: palo de campeche, cúrcuma, índigo natural. De animales se empleaba la cochinilla.

El éxito de los colorantes naturales se remonta a varios miles de años en la historia. Las civilizaciones precolombinas, en América Latina, o los antiguos egipcios, por citar a algunas, sentaron las bases de unos usos que se extendían desde la tinción textil hasta los alimentos, pasando por aplicaciones meramente cosméticas.

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

A partir de 1771 los colorantes químicos empiezan a ser una fuerte competencia para los tinte naturales.

Las propiedades de estos productos se ampliaron, muchísimo tiempo después, a la tinción de productos farmacéuticos. En alimentación su uso ha sido recurrente y sólo se ha visto parcialmente desplazado tras la aparición de colorantes artificiales en el mercado.

El primer colorante sintético obtenido fue el ácido píorico, preparado por Woulfe en 1771, mediante la acción del ácido nítrico sobre el índigo natural.

En el año 1856 se inició la era de los colorantes sintéticos, a partir del descubrimiento de William Henry Perkin (1838 - 1907), quién logró obtener el colorante púrpura por oxidación de la anilina con ácido crómico.

En 1855 se encontró la forma técnica de prepararlo a partir del alquitrán de hulla. A partir del alquitrán de hulla se preparó la Aurina, fabricado por Friedlich Ferdinand Runge, en el año 1834.

Una de las características de un colorante natural es que no causa efectos adversos para la salud, característica con la cual puede competir con éxito con los de origen químico.

Los colorantes naturales han sido ampliamente utilizados en la preparación de alimentos y bebidas, y siguen siendo a nivel mundial una contribución significante en la preparación y procesamiento de los mismos.

Aunque el término colorante natural pueda prestarse a confusión, normalmente se aplica a productos de origen animal, vegetal o incluso mineral en los cuales se encuentra de forma también natural.

Por extensión, se consideran también naturales los colorantes obtenidos de materiales biológicos como algunos insectos o incluso los que se forman espontáneamente al calentar o someter a tratamiento térmico un alimento, como el caramelo.

En este sentido, y aunque pueda tener composición y potencial de tinción idénticos, se contraponen a los artificiales que son, en esencia, los obtenidos por síntesis química.

2.1.3 Clasificación de los colorantes

Según su origen, los colorantes naturales son pigmentos coloreados obtenidos de materia prima principalmente animal y vegetal, aunque también los hay de tipo mineral.

Además se pueden clasificar por su estructura química en: flavonoides, carotenoides, melanoidinas, porfirinas, betalinas, quinoides y otros varios (curcumina, carbón vegetal, Índigo).

2.1.3.1 Colorantes de origen animal

Dentro de este grupo se encuentra la Cochinilla (E-120)*, considerado como el mejor de los colorantes naturales. Antiguamente, se extraía con agua caliente y el extracto coloreado se comercializaba con el nombre de carmín de cochinilla.

^{*}Referente al código establecido en la lista de aditivos alimentarios permitidos en la Unión Europea

"La Cochinilla proviene del extracto obtenido de la cocción de los cuerpos de insectos hembra de las familias Coccoidea y Aphidoidea. Este extracto de color rojo se denomina Kermes, es ligeramente soluble en agua fría y su principal pigmento es el ácido kermésico. Este colorante se usa en confitería para colorear jarabes, confituras y mermeladas. También en conservas vegetales, helados y lácteos como el yogur y el queso fresco, y en productos cárnicos y en bebidas. Una importante proporción se usa en cosmética. No se conocen efectos adversos para la salud producidos por este colorante". (Ref. 5)

"El Monascus es un colorante natural, de origen animal (especies microbiológicas) que no figura en la lista positiva de colorantes permitidos en la Unión Europea ni tampoco en la de Estados Unidos. No obstante, ha sido utilizado en Oriente desde hace cientos de años de forma medicinal o para colorear el vino. El Monascus crece sobre el arroz de Oriente produciendo una masa roja que puede incorporarse como tal a los alimentos o bien en forma de polvo desecado. Puede presentar tonalidades del amarillo al rojo". (Ref. 5)

2.1.3.2 Colorantes de origen vegetal

Este grupo está formado por los Antocianos (E-163)*, las Betaninas (E-162)*, el Caramelo (E-150)*, los Carotenoides (E-160)*, las Clorofilas y Clorofilinas (E-140 y E-141)*, la Curcumina (E-100)*, las Xantofilas (E-161)* y el Carbón Vegetal (E-153)*. Los Antocianos (E-163) pertenecen a la clase de flavonoides.

Son pigmentos de color rojo, naranja y azul, solubles en agua e intensamente coloreados. En términos generales, son los responsables de los

colores de las uvas, fresas, frambuesas, moras, arándanos, manzana rosa y maíz de la India.

"Las Betaninas (E-162) son la betacianina y las betaxantinas, un pequeño grupo de pigmentos presentes solamente en la familia Centrosperme. En nuestras latitudes se encuentran en la remolacha roja, el higo chumbo y las flores de bugambilia. La remolacha roja es la fuente comercial más importante de estos pigmentos y supone aproximadamente un 85% del total de los colorantes". (Ref. 5)

"Del Caramelo (E-150), colorante perteneciente a la clase de las meloidinas, de material amorfo y color pardo oscuro a negro, puede decirse que es el colorante más empleado en la industria alimentaria. De hecho, fue el primer colorante empleado en las bebidas alcohólicas y es uno de los mas usados en las colas, caramelos, cerveza, helados, postres, sopas preparadas y diversos productos cárnicos". (Ref. 5)

2.1.3.3 Flavonoides

Los flavonoides o bioflavonoides son pigmentos vegetales no nitrogenados. Su función dentro del mundo de las plantas parece ser la de de atraer a los polinizadores hacia las flores o los animales que comen los frutos con la intención de que puedan dispersar mejor las semillas.

La estructura básica de un flavonoide consiste en dos anillos bencénicos unidos por un enlace de tres carbonos que forma un anillo pirónico con un oxígeno. Existen diferentes tipos de flavonoides, entre otros las flavonas, flavonoles, flavanonas, antocianidinas y categuinas. Estas sustancias difieren

sólo en el estado de oxidación de los enlaces entre los tres átomos de carbono, y los compuestos que pertenecen a cada tipo de flavonoides difieren entre sí en el número y orientación de los grupos sustituyentes en los anillos bencénicos.

La mayoría de flavonoides se encuentra en las plantas como glucósidos en los que uno o más de los grupos hidróxido están unidos a azúcares.

Muchas veces los flavonoides son la respuesta adaptativa de las plantas a la intensa radiación ultravioleta. Estos componentes protegen y protegerían a las plantas de los nocivos efectos de estos rayos solares. Otras veces estos componentes presentan unos sabores desagradables.

Algunos flavonoides dan el color amarillo y el nombre general a estos principios, dado que flavus en latín significa amarillo. De este nombre deriva la palabra flavonoide.

Otros son los que proporcionan la coloración rojiza de las yemas, de los rebrotes o de las hojas en otoño. También son los responsables de los colores de muchos frutos.

Muchas variedades de color en las flores dependen de la acidez del medio. Un medio ácido proporciona coloraciones rojas fuertes, un medio alcalino dará la coloración azul y un medio neutro, proporcionará el violeta. Estas variaciones explican porque una misma planta, como la hortensia, varía de color según donde esté plantada.

Se han descubierto más de 600 flavonoides. Todos ellos parecen tener un papel muy importante en la alimentación humana, dado que presentan propiedades medicinales muy interesantes. Dentro de la ingente cantidad de flavonoides los más destacados serían los siguientes:

Betacaroteno	Alfacaroteno	Licopeno	Criptoxantina
Luteina / Zeaxantina	Capsantina	Catequinas	Antocianinas
Quercetrina	Hesperidina	Resveratrol	Rutina

2.1.3.4 Carotenoides

Los carotenoines son un grupo muy importante de flavonoides con función antioxidante. Entre los cuales se encuentran:

Los carotenos, que son aquellos que poseen una de coloración rojiza y anaranjada. Dentro de los carotenos tendríamos los siguientes:

- Los betacarotenos: Los betacarotenos son precursores de la vitamina A.
 Se trata de un pigmento vegetal que, una vez ingerido, se transforma en el hígado y en el intestino delgado en vitamina A. Es un componente antioxidante que favorece la no aparición del cáncer, especialmente el de pulmón, boca y estómago. También se ha demostrado que previene la aparición de enfermedades del corazón.
- El Alfacaroteno: Con propiedades más destacadas como antioxidante que el betacaroteno, aparece en los mismos alimentos que este aunque en una proporción menor.

Las xantofilas, que son aquellos que poseen una de coloración rojiza y anaranjada (carotenos). Dentro de los carotenos tendríamos los siguientes:

- La luteína: Pigmento liposoluble de color amarillento que aparece en algas, bacterias y plantas superiores. Su función sería la de proteger la planta contra la radiación solar. Esta misma propiedad resulta eficaz para proteger la retina humana de las radiaciones ultravioleta del sol.
- La zeaxantina: Con propiedades similares a la luteína.
- La capsantina: La capsantina es un pigmento que se encuentra en los pimientos rojos junto con otros carotenoides como la capsoburina. Tiene propiedades antioxidantes.

2.1.4 Clasificación de colorantes naturales utilizados en el teñido de fibras

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

2.1.4.1 Características fisicoquímicas

2.1.4.1.1 Colorantes directos:

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

Hay colorantes ácidos y básicos de este tipo. Estos dos tipos de colorantes se emplean especialmente en el teñido de lana y en poliamidas sintéticas.

- a. Colorantes básicos: son sales amoniacas o complejos formados por cloruro de zinc o aminas. Algunos colorantes básicos de elevado peso molecular son absorbidos por el algodón y el rayón.
- b. Colorantes ácidos: son sales de los ácidos sulfúricos y carboxilicos que se precipitan sobre la fibra.

La familia de los colorantes ácidos se llama así porque en la constitución química de colorantes se encuentran moléculas de grupos ácido. Son colorante solubles en agua y se aplican generalmente en fibras de lana, nylon y fibras acrílicas. Otros usos importantes son el teñido de la piel y papel

2.1.4.1.2 Mordentados:

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

El término mordentados se usa principalmente para los colorantes que se adiciona usando óxidos metálicos como mordiente. Especialmente se emplean como mordientes los óxidos de aluminio y cromo por formar precipitados insolubles

Los mordientes, aunque no son colorantes, tienen gran importancia en algunas técnicas de tinción. Los mordientes intensifican la tinción porque aumentan la afinidad de la fibra por el colorante.

Además de ayudar a que los colores sean más firmes y resistentes a la luz solar, los mordientes pueden modificar los colores, en algunos casos dándoles más brillo o viveza, en otros oscureciéndolos, y en otros transformando el color original en uno nuevo.

La industria textil utiliza sales metálicas (de aluminio, hierro, plomo ...), ácidos (el ácido tánico, usado para fijar colores básicos), sustancias orgánicas (caseína, gluten, albúmina ...), etcétera, que sirven para fijar los colores de estampados en los textiles.

La acidez o alcalinidad de un baño de tinte afecta de manera determinante el resultado del teñido e incide en su éxito final.

- a. Mordientes Acidos: Entre los ácidos, el más común es el crémor tártaro. Otros ácidos menos fuertes son el limón y el vinagre. Los taninos son también ácidos. Hay otras fuentes de ácidos menos conocidas como el ácido fórmico de las hormigas rojas y el ácido oxálico de las hojas de ruibarbo (pH = 11). Los ácidos se emplean en fibras animales. Fibras como el algodón y otras de origen vegetal pueden ser dañadas por los ácidos. Todos los entonadores y fijadores tienen una característica común, modificar el PH del colorante.
- b. Mordientes Alcalinos: Entre los alcalinos más requeridos se encuentran el alumbre, el hierro, el amoníaco, cenizas y lejías (de banano, cáscaras de granos, etc.). Otros alcalinos son el carbonato

de sodio y el bicarbonato de sodio. Los álcalis fuertes incluyen las lejías. Un álcali se considera fuerte cuando supera a pH = 10. El añil es el único tinte que requiere un álcali superior a 10. Las fibras de animales son especialmente susceptibles de ser dañadas por los álcalis.

2.1.4.1.3 Tipo de reducción:

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

2.1.4.1.4 **Pigmentos:**

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

2.1.5 Uso artesanal de colorantes naturales en el teñido de fibras naturales

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

2.1.5.1 Fibras textiles naturales

Es el material con el cual se fabrican los hilos y los tejidos. Se encuentran en la naturaleza como parte de las semillas, en los vegetales o en el pelo de los animales. Muchas fibras se encuentran disponibles en el mercado y son de origen vegetal, animal o mineral.

2.1.5.2 Fibras de origen vegetal

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

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

2.1.5.3 Fibras de origen animal

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

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

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

2.1.5.4 Fibras de origen mineral

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

2.1.6 Extracción, purificación e identificación de los colorantes

2.1.6.1 Tipos de extracciones en plantas

La extracción de colorantes de las plantas, depende básicamente de la parte de la planta que se utilice y la cantidad de agua que contenga. Se pueden

encontrar técnicas de extracción de flavonoides específicas para la parte de la planta que se desea utilizar como materia prima. Desde el punto de vista general podemos realizar tres tipos de extracciones de las plantas:

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

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

La extracción para elucidación estructural consiste en una maceración o extracción con Soxhlet usando inicialmente un solvente de amplio espectro (metanol o etanol) y luego fraccionamiento con diferentes disolventes o mezclas de disolventes que permitan separar las diferentes fracciones por partición.

Idealmente el fraccionamiento debe ser guiado por un bioensayo que permita llegar a la estructura química responsable de la actividad en un tiempo relativamente corto. (Cáceres, 1996)

Los solventes usados para la extracción de estos compuestos son muy variados y pueden ser desde muy polares como agua y etanol para glicósidos o

agliconas muy hidroxiladas, hasta menos polares como éter y cloroformo para flavonas altamente metoxiladas. (Lock, 1997)

2.1.6.2 Purificación e Identificación

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

Otras reacciones de color usuales son:

- Reacción con álcalis: los extractos acuosos pueden mostrar variaciones de color con el agregado de un álcali, si hay presencia de flavonas, flavanonoles e isoflavonas se ponen amarillas, flavanonas y flavonoles cambian de amarillo a naranja; chalconas de naranja a rojizo.
- Prueba de Marini Bettolo: con solución de SbCl, en CCl₄, los flavonoides en general dan colores característicos o precipitados; por ejemplo, las flavonas dan precipitado amarillo o anaranjado, y las Chalconas, rojo oscuro o violeta.
- Reacción con H₂SO₄ concentrado las flavonas y flavonoles dan coloración fuertemente amarilla, las flavanonas, anaranjadas o guindas; las chalconas y auronas, rojo, guinda o rojo azulado.

- Reactivo de Dimroth: solución de H₂BO₃, en (CH₃CO)₂O, las 5-hidroxiflavonas dan soluciones anaranjadas o rojas.
- Reacción con solución acuosa o etanólica de FeCl₃; aunque hay coloración en presencia de cualquier compuesto fenólico, la aparición de un color verde sugiere la presencia de un derivado de catecol y de un color azul de un derivado de pirogalol. (Lock, 1997)

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

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

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

2.2 Cromatografía

Las técnicas cromatográficas se emplean para separar los componentes individuales de una mezcla y, en ciertos casos, para identificar un compuesto comparando su comportamiento cromatográfico con el de sustancias conocidas empleadas como patrón.

La base de la técnica es que cuando un determinado soluto interactúa con dos fases, una de ellas, habitualmente sólida, llamada fase estacionaria, experimenta una serie de procesos (adsorción en fase sólida, solubilización en cada fase, arrastre por la fase móvil, etc.) que, en último extremo, llevan a que el soluto se reparta entre ambas fases. En el equilibrio, la relación entre las concentraciones del soluto entre ambas fases es constante, y se denomina coeficiente de reparto. Si en una mezcla, cada componente tiene un coeficiente de reparto diferente del de los otros, la separación será buena. Naturalmente, dicho coeficiente depende de la naturaleza de las fases, así como de las condiciones de la cromatografía.

2.2.1 Cromatografía en capa fina

Una de las técnicas cromatográficas más sencillas es la que se realiza en capa fina, llamada así porque la fase estacionaria es una capa fina de un material poroso (gel de sílice, alúmina, etc.) extendida para su manejo mecánico sobre un soporte inerte.

La fase móvil es una mezcla de disolventes en diferentes proporciones, que emigra por la fase estacionaria debido, sobre todo, a la capilaridad. En su movimiento, arrastra más o menos a los componentes de una mezcla en función de sus mayores o menores coeficientes de reparto.

El coeficiente de reparto es poco empleado en la práctica. En su lugar, y relacionado con él, se emplea el denominado Rf, característico de cada sustancia, definido como la relación entre la distancia que recorre dicha sustancia y la que recorre la fase móvil. Las más insolubles tendrán, en el disolvente empleado, un Rf próximo a cero, mientras las más solubles se acercarán a uno.

La cromatografía en capa fina se puede emplear para separar distintos grupos de biomoléculas.

2.3 Índice de refracción

El índice de refracción se mide con un aparato llamado refractómetro en el que se compara el ángulo de incidencia con el ángulo de refracción de la luz de una longitud de onda específica.

El índice de refracción es la relación entre la velocidad de la luz en el vacío y la velocidad de la luz en la sustancia o el medio transparente.

Como el índice de refracción es sensible a los cambios de temperatura y varía con la longitud de onda de la luz, deben especificarse ambas variables al expresar el índice de refracción de una sustancia.

2.4 Aliso Común

Alnus jorullensis Humboldt, Bonpland & Kunth

2.4.1 Etimología

Alnus: del céltico al y han que significa cerca a las aguas

Jorullensis: del nahualt xorullo o jorullo, pueblo mexicano.

Humboldt: de Alexander von Humboldt, naturalista alemán

Bonpland: de Aimé Bonpland, botánico francés.

Kunth: de Carl Sigismund Kunth, botánico alemán.

2.4.2 Taxonomía

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Fagales

Familia: Betulaceae

Género: Alnus

Especie: Alnus jorullensis

Su nombre científico es Alnus jorullensis Humboldt, Bonpland & Kunth y conocido comúnmente como Aliso Común.

2.4.3 Origen del cultivo

Nativo de México, aunque numerosas especies de *Alnus* se localizan en Norte América, Centro América y en algunas regiones de Sudamérica (Argentina) en formaciones de bosque montano de alturas entre 1500 y 3000 msnm. Los que se localizan en México han sido frecuentemente determinados como *A. jorullensis* H.B.K., y existen muchas referencias en la literatura para el nombre, pero esas especies, descritas desde los Andes de Perú, no se localizan en México. (Ref. 6)

2.4.4 Descripción botánica

2.4.4.1 Árbol

En forma natural, generalmente mide 15 a 25 metros de altura, siendo su corteza de color gris claro, a veces plateado, con lenticelas bien visibles, y frecuentemente con rebordes horizontales.

Cuando crece en condiciones de suficiente humedad, su fuste es recto y algo cónico, pero en zonas secas el árbol puede tener troncos múltiples, torcidos y con abundantes ramas que naces desde la base; tronco con perturbaciones de tamaño y forma de una arbeja en aproximadamente su primer metro y medio de altura. Su copa es irregular, abierta y angosta. (Ref. 6)

2.4.4.2 Hojas

Simples, alternas, con estipulas y pecioladas; presentan forma elíptica o anchamente ovalada, de 7 a 15 cm. de largo, con el ápice agudo o terminado

en punta, la base obtusa o redondeada y de margen acentuadamente aserrado o irregularmente dentado, con nervaduras, secundarias prominentes y paralelas. Son de color verde oscuro por el haz y verde claro a gris por el envés, lisas en el haz mientras que en el envés presentan vellosidades de color marrón.

El tamaño varía dependiendo de la exposición a la luz; a plena luz 10–18 cm. de largo, 8–14 cm. de ancho, a media sombra 3–5 cm. de largo. Yemas característicamente desnudas elípticas de 2 x 07 cm. Especie eminentemente caducifolia, la desfoliación se presenta en ejemplares adultos y semanifiesta por un cambio en la coloración del follaje hacia el rojizo antes del desprendimiento de la hoja. (Ref. 6)

2.4.4.3 Flores

La especie es monoica, con ambas flores en la misma rama. Especie de floración temprana, a partir del cuarto año. Comúnmente se observan flores masculinas de enero a febrero y de septiembre a enero flores femeninas. Fructifica de septiembre a enero.

Inflorescencia masculina en una espiga terminal, cilíndrica hasta de 10 x 0.7 cm. con brácteas verdosas y anteras de color marrón, presenta 4 estambres libres. Las flores masculinas están dispuestas en el árbol en largos racimos rollizos y alargados con flores densamente dispuestas, que producen abundante polen el cual es diseminado por le viento. (Ref. 6)

Inflorescencia femenina es un cono cilíndrico de 2.5 x 1 cm. y de color inicialmente rojo, luego verde y al final castaño, sin corola ni cáliz (sin perianto)

y protegidas por una escama leñosa o estigma de color lila, bifurcado, glandular, dos ovarios, lobular (un óvulo por lóbulo). El fruto es una nuececilla comprimida, usualmente alada y unilocular, por aborto de una celda. La floración se inicia en los primeros meses del año. (Ref. 6)

2.4.4.4 Fruto

Son piñas o conos dehiscentes al principio de color verde que al madurar se oscurecen.

Generalmente de 3 cm. de largo, con escamas leñosas persistentes. Su maduración no es uniforme en un mismo árbol.

2.4.4.5 **Semillas**

Son de tamaño pequeño, aladas, aplanadas y poseen una cubierta membranosa, en promedio un fruto puede contener entre 80 y 100 semillas. Los frutos del aliso se presentan en forma de estróbilo (fruto de algunas coníferas) con semillas, las cuales se localizan en las axilas de las brácteas leñosas, se pueden recolectar prácticamente en cualquier época del año. Los conos deben ser recolectados del árbol.

2.4.4.6 Raíces

Superficiales, con nódulos que se encuentran en los primeros 5 cm. del suelo debido a la exigencia de oxígeno que presenta Frankia alni, un

actinomiceto con el que presenta una asociación simbiótica que le permite fijar el nitrógeno libre, razón por la cual es muy usado en Europa para la repoblación de suelos estériles.

2.4.4.7 Ramas

Alternas, desde 2-3 m, con tendencia a formar ramas gruesas extendidas, con ramitas marrón verdosas que presentan pubescencias y estrías longitudinales delgadas. Las ramas se podan naturalmente cuando no reciben suficiente luz. Al final de su rotación natural (25 años) las ramas de la parte superior de la globosa y densa copa se secan, dándole al follaje forma de escoba.

2.4.4.8 Corteza

Externa de color gris oscuro, plomiza, liza y con pocas deformaciones, provista de lenticelas visibles conspicuas y de cicatrices anulares. La corteza interna es de color amarillo. Es rica en taninos

2.4.4.9 Propagación

2.4.4.9.1 Propagación sexual

2.4.4.9.1.1 Obtención y manejo de la semilla

Preferentemente se deben seleccionar árboles sanos libres de enfermedades, vigorosos y con buena forma; que se localicen en sitios naturales.

2.4.4.9.1.1.1 Fuente de semilla

Existen grandes áreas donde la especie se encuentra ampliamente distribuida para considerarse como zonas semilleras. En Guatemala estas áreas se encuentran en Totonicapán.

2.4.4.9.1.1.2 Período de recolección

El período óptimo para la colecta de semilla es de agosto a octubre.

2.4.4.9.1.1.3 Recolección

Se cosecha el fruto, generalmente en costales de yute, en rodales de árboles bien conformados libres de plagas y enfermedades y de buena forma. Cuando el cambio de color de la punta del fruto, de verde a amarillo o café oscuro, indica el momento adecuando para la recolección.

Los frutos se deben cortar longitudinalmente y observar las semillas, cuando los embriones estén blancos y las alas de las semillas tengan color café, los frutos están listos para ser recolectados. Cortar las ramas con ganchos de mango largo para jalar o cortar ya que los frutos son pequeños. Hay 2,000,000 semillas por kg.

2.4.4.9.1.1.4 Métodos de beneficio de frutos y semillas

Los frutos se transportan en sacos de yute o bolsas de papel, se secan a una temperatura ambiente, entonces las semillas son extraídas colocando los conos a pleno sol sobre una superficie limpia, plana y lisa hasta que el fruto empiece abrirse. Cuando salga la semilla ésta debe separarse mediante tamices. (Ref. 7)

2.4.4.9.1.1.5 Recomendaciones para su almacenamiento

Para que la semilla mantenga al máximo su porcentaje de germinación debe encontrarse libre de enfermedades, por lo que es necesario reducir el contenido de humedad de la semilla a 6% y almacenarlas a temperaturas de entre 4 y 8 °C. Al año de almacenamiento la semilla pierde aproximadamente un 2% mensual del poder germinativo. (Ref. 7)

2.4.4.9.1.2 Producción de planta

2.4.4.9.1.2.1 Período de siembra

El período ideal de la siembra es a fines de otoño.

2.4.4.9.1.2.2 Tratamientos pregerminativos

Las semillas son sometidas a un período de estratificación a bajas temperaturas antes de sembrarlas; aproximadamente de 24-48 horas.

2.4.4.9.1.2.3 Método de siembra

Se siembra en almácigo al voleo o en hileras y se cubre con una capa de sustrato de 1 cm. El trasplante a los almácigos debe hacerse cuando la plántula tenga una altura mayor de 5 cm. El sustrato debe tener una buena proporción de arena, lo que favorece el drenaje, y también materia orgánica bien descompuesta, que reduce las fluctuaciones rápidas en la humedad del mismo. (Ref. 7)

2.4.4.9.2 Propagación asexual

2.4.4.9.2.1 Varetas, acodos, esquejes, raquetas estacas

Las estacas foliosas de madera suave de *Alnus* enraízan con facilidad, de preferencia usar ramas jóvenes, vigorosas y libres de enfermedades.

2.4.4.9.2.1.1 Época de recolección y propagación

Para evitar daños en la fisiología de los árboles, se recomienda recolectar el material vegetativo antes de iniciar la primavera e inmediatamente realizar el estacado.

2.4.4.9.2.1.2 Partes vegetativas útiles

Principalmente las ramas jóvenes.

2.4.4.9.2.1.3 Métodos de obtención

Selección del material libre de enfermedades y de individuos vigorosos, es importante seleccionar ramas jóvenes, terminales o laterales. El corte basal debe hacerse justamente debajo de un nudo o de una yema axilar.

2.4.4.9.2.1.4 Manejo de material vegetativo

Las ramas deben ser podadas de todas sus hojas únicamente dejar las yemas adventicias para mantener al mínimo las pérdidas de agua y permitir un menor espaciamiento. Se recomienda que las estacas sean de una altura de entre 7.5 y 15 cm. (Ref. 7)

2.4.4.9.2.1.4.1 Transporte

El material vegetativo debe obtenerse durante las primeras horas de la mañana, cuando los tallos y ramas estén turgentes; durante su transporte, deben mantenerse envueltos en tela de manila húmeda, limpia, o colocarse en bolsas de polietileno grandes. Se deben proteger del sol todo el tiempo, hasta que se hagan las estacas. (Ref. 7)

2.4.4.9.2.1.4.2 Almacenamiento

Las estacas no pueden permanecer por mucho tiempo en almacenamiento pero se pueden almacenar durante algunos meses envueltas en tela y a temperaturas de 4 $^{\circ}$ C.

2.4.4.9.2.1.5 Tratamientos para estimular el enraizamiento

Esta especie tiene la capacidad de enraizar en una gran variedad de medios como suelo, arena o musgo turboso o en mezclas de vermiculita, perlita etc. Los reguladores del crecimiento como el ácido-indol-

butírico pueden ser utilizados para acelerar y mejorar el enraizamiento, sin embargo, la especie tiene buena respuesta de enraizamiento sin necesidad de aplicar dicho regulador. (Ref. 7)

2.4.4.9.2.1.6 Trasplante

Una vez que la estaca tenga desarrolladas las hojas y que la raíz esté suficientemente desarrollada (alrededor de 40 días), la planta esta lista para ser trasplantada.

2.4.5 Distribución

2.4.5.1 Ecología

Es una especie pionera de crecimiento rápido que necesita luz, y regenera en áreas abierta. Tolera un amplio rango de climas y tipos de suelo. En Costa Rica crece desde los 1500 hasta cerca de los 3100 msnm. Forma rodales puros en la región central del país, en una gran variedad de condiciones ecológicas. En Guatemala se encuentra en bosques naturales en asociación con Pinus, Quercus y Abies.

Coloniza suelos desnudos, expuestos y perturbados, como deslizamientos. Muy sensible a la sequía, por lo que crece en laderas húmedas, cerca de quebradas y caminos en montañas, normalmente en suelos húmedos a lo largo de cursos de agua y humedales donde forma típicamente densos rodales puros. También se asocia a llanuras de inundación o pendientes de

montaña húmedas. Puede adaptarse a limas más secos, aunque aquí se restringe a zonas con abundante humedad del suelo. (Ref. 7)

2.4.5.2 Natural

El aliso común es nativo desde el norte de México, a través de zonas de motaña en América Central (Guatemala, Costa Rica y Panamá) hasta el norte de Argentina, generalmente a elevada altitud, 1200 – 3200 msnm.

2.4.5.3 Plantada

Cultivada extensamente en plantaciones a lo largo de la cordillera central de Costa Rica, Cordillera Andina de Colombia, Bolivia, Perú, y en la Sierra Madre de Guatemala. En Costa Rica también en asociaciones agroforestales.

En Costa Rica varias fuentes locales (entre 7.4 y 7.8 m en 34 meses) crecieron más rápido que una introducida en Guatemala (6.4).

2.4.6 Requerimientos edafoclimáticos

2.4.6.1 **Altitud (msnm)**

De 1200 a 3000 msnm...

2.4.6.2 Suelo

2.4.6.2.1 Clasificación

Andesíticos, basálticos, así como formados por tobas, granitos, gneis y muchos otros tipos de roca.

2.4.6.2.2 Textura

Arenosos o arcillosos.

2.4.6.2.3 Profundidad

Someros o profundos.

2.4.6.2.4 pH

Ácidos de entre 4 y 6.

2.4.6.2.5 Características físicas

Calizas con topografía Kárstica, sobre laderas de cerros andesíticos, basálticos.

2.4.6.2.6 Características químicas

Abundante materia orgánica, ricos en nitrógeno, fósforo y potasio.

2.4.6.3 Temperatura (°C)

2.4.6.3.1 Media

Anual entre 12 a 23℃.

2.4.6.3.2 Mínima

Hasta 4℃.

2.4.6.3.3 Máxima

Hasta 27.5 ℃.

2.4.6.4 Precipitación (mm)

De 1500 a 3000 mm.

2.4.6.5 Otros

El número de meses secos varía de 0 a 4.

2.4.7 Preparación del Terreno para el cultivo

2.4.7.1 Rastreo

Sólo cuando el suelo es profundo y con una pendiente no mayor de 25%.

2.4.7.2 Deshierbe

Durante su fase de establecimiento, después no es necesario.

2.4.7.3 Subsolado

Sólo en terrenos poco profundos y pedregosos.

2.4.7.4 Trazado

Se puede trazar el terreno en forma regular con espaciamientos de 2 X 3 m entre planta y planta, utilizando los diseños de "tresbolillo" o "marco real".

2.4.7.5 Apertura de cepas

Cepa común de 40 X 40 X 40 cm. o bien dependiendo del cepellón.

2.4.8 Manejo de la planta

2.4.8.1 Tipo de envase

Bolsas de polietileno negro de dimensión variable según el tamaño de la planta producida.

2.4.8.2 Media sombra

Para mejorar el enraizamiento se recomienda de un sombreado o de un invernadero bien sombreado con temperatura de 17 a 20 ℃.

2.4.8.3 Control sanitario

Para evitar las infecciones fungosas puede ser aconsejable dar al material de estacas una inmersión en una preparación funguicida, como benomyl (0.5 g/l), ya sea antes o después de hacer las estacas. Se puede hacer una combinación entre el funguicida y algún regulador promotor de raíces como el ácido—indol—butírico. Las hojas que se caigan se deben retirar al igual que las estacas muertas. Cualquier presencia de insectos o algún tipo de enfermedad debe ser tratada de inmediato. (Ref. 7)

2.4.8.3.1 Principales plagas y enfermedades

Los amentos (flores) se ven afectados por enfermedades fungosas del género *Taphrinas*. Se han reportado hongos que dañan la raíz y el tallo, tanto en la fase de vivero como en la de plantaciones. El hongo *Rosellina bunodes*, provoca marchitez y muerte y los hongos *Colletotrichum* sp y *Phomopsis* sp., causan lesiones en el follaje de los árboles.

2.4.8.4 Labores culturales

En el vivero debe aplicarse riego por lo menos dos veces al día, durante la primera semana después del repique (si no está lloviendo), luego se procura mantener el suelo húmedo en los bancales o bolsas, pero sin regar en exceso. Si se observa formación de musgos sobre el sustrato o en las bolsas, se está regando en exceso. Es necesario eliminar malezas ya que la especie es intolerante a la competencia, y se debe combatir la aparición de plagas y enfermedades. (Ref. 7)

2.4.8.5 Tiempo total para la producción de la especie

De cuatro a seis meses se obtiene la planta lista para sacar al campo.

2.4.9 Transporte de planta

2.4.9.1 Selección y preparación de la planta en vivero

Para el traslado al lugar definitivo se debe realizar una selección del material para utilizar únicamente plantas cuyas condiciones físicas, fisiológicas y genéticas hagan más probable su supervivencia y sano crecimiento. En este proceso se debe considerar: dimensiones, sanidad, vigor, follaje sano, raíces abundantes y bien distribuidas, con una sola yema terminal, lo más homogéneas posible. (Ref. 7)

2.4.9.2 Medio de transporte

Los vehículos deben ser adecuados para este fin, cerrados para trasladar la planta debidamente cubierta para protegerla de la turbulencia del aire y la insolación, factores que puedan provocar intensa deshidratación e inclusive la muerte de la planta. Para optimizar la capacidad de los vehículos y disminuir los costos de transporte, es conveniente construir estructuras sobre la plataforma de carga, para que se puedan acomodar dos o más pisos de plantas. (Ref. 7)

2.4.9.3 Método de estibado

La planta envasada en bolsa de plástico es colocada en cajas, las cuales se colocan en pisos que previamente se habrán de acondicionar en el vehículo, de otra forma si la planta se transporta a granel ocurrirá un elevado daño y mortalidad, producida por rupturas del tallo, aplastamiento de la planta, pérdida

del sustrato, etc. No se debe mover planta tomándola del follaje, sino del cepellón. Las cajas se utilizan durante toda la fase del transporte. (Ref. 7)

2.4.9.4 Distancia de transporte

Para evitar que los costos se eleven demasiado y que la planta se maltrate, el traslado no debe ser superior a 50-60 km del vivero. Sólo se justifica en el caso de que el material fuera muy valioso o experimental o bien el número de plantas sea muy bajo.

2.4.10 Protección

2.4.10.1 Cercado del terreno

Se justifica en lugares donde la plantación esté expuesta a vandalismo o pastoreo, principalmente durante los primeros años de la plantación.

2.4.10.2 Plagas y enfermedades forestales (Detección y control)

La plantación debe ser monitoreada con frecuencia, 4-6 meses, para conocer su estado general. Se ha encontrado que *Eotetranychus carpini* ácaro, ataca el follaje y puede llegar a ser de consideración como para tomar medidas de control. También se debe considerar a *Pseudopityophtorus spp*, coleóptero de poca importancia que sin embargo, sus orificios de entrada sirven como puntos de penetración de hongos causantes de cancros (cánceres). El control es mediante raleos sanitarios de intensidades altas y también con la quema del

material afectado. El adecuado mantenimiento de la plantación es importante para evitar enfermedades. (Ref. 7)

2.4.11 Mantenimiento

2.4.11.1 Deshierbe

Es imprescindible eliminar la competencia de plantas herbáceas o arbustivas, especialmente durante los primeros dos o tres años. En plantaciones jóvenes estas limpiezas son necesarias, aun en aquellas establecidas con fines silvopastoriles; es decir, combinadas con pastos. En el primer año se requiere entre dos y tres limpiezas, para el segundo año, dos y en el siguiente, podría ser necesario solamente una. El número necesario de limpias depende de la zona donde se ubique la plantación y de la densidad inicial. Los Chapeos se hacen bajos, con machete y evitando dañar el tronco del árbol, para lo cual se dejan sin chapear los 10 a 15 cm cercanos a la base del árbol. Con las limpias, además de controlar la competencia, se reduce el riesgo de plagas, enfermedades e incendios. (Ref. 7)

2.4.11.2 Preaclareos, aclareos y cortas intermedias

Cuando el objetivo es producir grandes volúmenes de madera de pequeñas dimensiones para leña, pulpa para papel y postería, no es necesario hacer aclareos. Pero cuando se espera producir trozas de mayores dimensiones para aserrío, los raleos son imprescindibles. El raleo o aclareo consiste en la extracción de una proporción de árboles de la plantación, con la finalidad de estimular el crecimiento de los árboles remanentes, y lograr la

producción de madera de mayores diámetros y mejor forma. Cuando por competencia en las copas de los árboles, se comienzan a secar las ramas bajas, es necesario revisar la plantación para determinar si amerita un aclareo. Si además de lo anterior, la altura promedio de la plantación es de alrededor de 10 m, con una densidad inicial de 1111 árboles/ha, podría ser el momento oportuno de realizar el primer aclareo. Como los árboles crecen más rápido en los sitios de mejor calidad, la edad a la que se practican los aclareos varía según el sitio. (Ref. 7)

Para las podas, con densidades iniciales altas, presenta poda natural o autopoda; sin embargo, cuando se establece con distancias mayores a 2.0 X 2.0 m, es conveniente limpiar las ramas inferiores persistentes. La poda tiene como finalidad mejorar la calidad de la madera.

2.4.11.3 Reapertura de cepas y reposición de la planta

Para aprovechar el máximo potencial reproductivo de la plantación, se aconseja que después de uno o dos meses de colocada la planta se repongan las pérdidas. Igualmente se puede sustituir plantas que no sean vigorosas.

2.4.11.4 Construcción y limpieza de brechas cortafuego

Los incendios constituyen el mayor riesgo para las plantaciones, sobre todo fuera de la época de lluvias, cuando los productores agrícolas y pecuarios realizan quemas para eliminar los residuos y promover el crecimiento de retoños de los pastos. Para prevenir los daños, además de las labores de vigilancia, se recomienda el abrir y mantener brechas cortafuego en el

perímetro de la plantación de tres metros de cada lado de la cerca, en total 6 metros. También se debe hacer un buen control de desperdicios y materia orgánica seca, para disminuir la presencia de material combustible. (Ref. 7)

2.4.12 Aplicaciones

2.4.12.1 Restauración y protección

Se considera una especie importante para la restauración de suelos degradados.

2.4.12.2 Agroforestal

Tiene la propiedad de mejorar la fertilidad del suelo debido a que sus raíces fijan el nitrógeno atmosférico. La plantación de *Alnus* asociada con maíz y frijol, contribuye a reducir el costo de establecimiento de la plantación hasta en un 60%, lo cual puede representar una opción rentable para el productor. De la misma forma cuando se asocia con pastos se ha encontrado que el pasto crece mejor bajo árboles de *Alnus*.

2.4.12.3 Urbano

En algunos lugares se cultiva como planta de sombra y ornato en calles, parques y jardines por la belleza de su follaje.

2.4.12.4 Comercial

Las características físicas de la madera de árboles adultos, cuya densidad es de 0.430-0.440 kg/dm³, permite su fácil manejo. Se reporta que es usada en la fabricación de cajas para transporte de hortalizas, hormas para zapatos, palillos de fósforos, en carpintería, ebanistería y muebles de corte recto así como para leña, carbón, aserrío y pulpa para papel. La corteza es astringente y rica en taninos por lo que se usa como curtiente además la infusión que se obtiene de la corteza se utiliza en medicina casera en enfermedades cutáneas y venéreas, además, las hojas son usadas como cataplasmas para heridas de piel, y los extractos del fruto para inflamación de garganta. (Ref. 7)

2.4.12.5 Otros

En su medio natural proporciona hábitat y alimento a la fauna silvestre.

3. METODOLOGÍA

3.1 Localización

La parte experimental de la investigación se realizó en las siguientes

instalaciones:

1. Laboratorio de la Sección de Química Industrial del Centro de

Investigaciones de la Facultad de Ingeniería.

2. Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, LIPRONAT, de la

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la USAC.

3.2 Recursos humanos

Investigador:

Br. Mario Roberto Calderón Guevara

Asesora:

Inga. Qca. Telma Maricela Cano Morales

3.3 Obtención de las muestras

La corteza de aliso común fue proporcionada por la organización no

gubernamental FUNCEDESCRI, del bosque propio ubicado en San Lucas

Sacatepéquez, Guatemala.

47

San Lucas Sacatepéquez se encuentra a una latitud de 14° 36' 35" N y una longitud de 90° 39' 35" O, a unos 2602 msnm, es un lugar de clima templado húmedo; al igual que el resto de la República de Guatemala, se marcan dos estaciones verano e invierno, el primero se caracteriza por ser el clima seco, y el segundo por ser el clima húmedo y con fuertes lluvias. La corteza se recolectó en época de verano.

El promedio anual de temperatura máxima es de 22.7 grados centígrados siendo su temperatura media anual de 18.4 grados centígrados; se obtienen temperaturas mínimas que llegan hasta 5.7 grados centígrados, como consecuencia de la altura y lo frío del altiplano.

Los bosques cuentan con una precipitación pluvial de 2.065 - 3.900 mm, la biotemperatura es de 12,5 - 18,6 °C, con una altura sobre el nivel del mar de 1.800 - 3.000 m.

Los suelos de San Lucas Sacatepéquez pertenecen a la serie Cauque, siendo su material la ceniza volcánica de color claro; su relieve es fuertemente ondulado e inclinado y su drenaje interno es bueno. El suelo superficial es de color café muy oscuro; su textura y consistencia es franco- fiable y su espesor es de 20 a 40 cm. El suelo es de color café amarillento oscuro; su consistencia fiable; su textura es franco- arcillosa y su espesor aproximadamente de 60 a 70 cm.

Los suelos de San Lucas tienen un declive dominante de 32 al 45%, su drenaje a través del suelo es regular, lo mismo que su capacidad de abastecimiento de humedad. En general su fertilidad es alta lo mismo que la erosión.

Se colectó toda la corteza del árbol en general y se colocaron en recipientes herméticos para luego ser llevados hacia el secador eléctrico de flujo transversal con bandejas, controlándose la humedad relativa y temperatura en el proceso de secado. La corteza seca se molió en un molino de martillos y se sometió al proceso de extracción de colorantes naturales, destilación con reflujo a nivel laboratorio y maceración con agitación a nivel planta piloto

3.4 Diseño de tratamientos

Para la evaluación estadística se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo combinatorio, en el cual se aplicaron un experimento factorial sobre la especie de estudio evaluando 1 corteza y utilizando la técnica de maceración dinámica a reflujo constante, 3 tipos de extractores (agua, etanol al 35% (v/v) y etanol al 70% (v/v)) y 3 tipos de tamaño de partícula de corteza seca (rangos entre 495 y 420 micrones, 420 y 297 micrones, 297 y 250 micrones), con 3 repeticiones para cada una, resultando 9 unidades experimentales, y un total de 27 tratamientos.

El tamaño del tratamiento de maceración dinámica a reflujo fue constante, en función de la relación corteza seca/solvente de 1:10 (w/v), con tiempo de extracción de 2 horas y a temperatura de ebullición de la solución, 94 ºC para el agua, 89 ºC para el etanol al 35% (v/v) y 77 ºC para el etanol al 70% (v/v), a presión atmosférica de 640 mmHg.

Obtenidos los extractos se procedió a realizarles los análisis fisicoquímicos correspondientes y cromatografía en capa fina.

3.5 Metodología experimental

3.5.1 Materiales y equipo a utilizar en la experimentación

3.5.1.1 Materia prima

Corteza de aliso común molida a rangos entre 495 y 420 micrones, 420 y 297 micrones, 297 y 250 micrones.

3.5.1.2 Cristalería

Micro pipetas.

Balones.

Earlenmeyer.

Varillas de agitación.

Probetas graduadas.

Perlas de ebullición.

Tubos de ensayo.

3.5.1.3 Equipo

Plancha de calentamiento

Marca: CORNING.

Modelo: PC-620.

Voltaje: 120 Volt.

Frecuencia: 60 Hz.

Potencia: 1113 Watts.

Hecha en Estados Unidos.

Bomba de vacío

Marca: Gast.

Modelo: O523-VAFG588DX.

Voltaje: 100 -115 Volt.

Frecuencia: 50 Hz.

Potencia: 1/4 Hp.

Revoluciones: 1725/1425 rpm.

Hecha en Michigan, USA.

Balanza

Marca: Adventurer.

Serie: G1231202040133.

Voltaje: 8 -14.5 Volt.

Frecuencia: 50/60 Hz.

Máxima Capacidad: 150 g.

Lectura Mínima: 0.001 g.

Hecha en USA.

Refrigeradora

Marca: Daewoo.

Modelo: FR-147RV.

Voltaje: 115 - 120 Volt.

Frecuencia: 60 Hz.

Amperaje1.1 Amperes.

Refrigerante: R-134a.

Hecha en Korea.

Rotavapor

Marca: Büchi.

Modelo: R-200.

No. Fabricación: 414191030002.

Voltaje: 120 V.

Frecuencia: 50/60 Hz.

Potencia: 120 Watts.

Hecho en Flawil, Suiza.

Espectofotómetro UV

Marca: Data Color Internacional.

Modelo: Espectroflash SF 300.

Hecho en USA.

Placas cromatográficas

Marca: Merck.

Modelo: Kieselgel 60 F254.

Dimensiones: 20 x 20 cm.

Espesor: 0.2 mm.

3.5.1.4 Reactivos

Etanol Grado Industrial marca Merck.

Agua desmineralizada marca Salvavidas.

3.5.2 Método de extracción del tinte natural a nivel laboratorio

- La corteza se coloca en un matraz de cuello corto con esmeril 24/40, de 500 mL de capacidad; en una relación de corteza seca/solvente de 1:10 (w/v).
- 2. El método que se utilizó es el de maceración dinámica a reflujo constante, se coloca el condensador en el cuello del matraz y todo el equipo se coloca en una manta de calentamiento durante dos horas a temperatura de ebullición de la solución.
- 3. Luego se procede a filtrar, utilizando la técnica de filtrado al vacío.
- 4. Los extractos obtenidos se secan por evaporación, luego se colocan en recipientes cerrados color ámbar para su posterior caracterización y utilización en el proceso de tinción de fibras.
- 5. Para poder analizar la calidad del extracto obtenido se procede de la siguiente manera: se concentra a presión reducida en un rotavapor, a temperatura no mayor de 40°C y girando a una velocidad constante. El tiempo de extracción de solvente es continuo, hasta que la muestra no tenga presencia de solvente. El residuo obtenido contiene extracto de colorante, el que es almacenado en viales debidamente identificados y en refrigeración.
- Después de obtener los extractos se le realizan pruebas físicas y químicas, por medio de técnicas de identificación de flavonoides y cromatografía en capa fina.

3.5.3 Métodos para la caracterización de los tintes naturales y determinación de las propiedades fisicoquímicas de los extractos colorantes

3.5.3.1 Determinación de densidad

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

3.5.3.2 Determinación del índice de refracción

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

3.5.4 Identificación de flavonoides

Para identificar flavonoides se utilizaron pruebas colorimétricas y cromatografía en capa fina.

3.5.4.1 Reacciones coloridas:

a. Reacción de Shinoda: al extracto alcohólico incoloro o ligeramente amarillo se le coloca un pequeño trozo de magnesio y unas pocas gotas de HCI concentrado el desarrollo inmediato de coloración es indicativo de la presencia de flavonas y flavonoles (amarillo a rojo), flavanonoles (rojo a magenta) flavanonas (rojo, magenta, violeta, azul), isoflavonas (amarillo), isoflavononas, chalconas y auronas no dan coloración. b. Reacción con H₂SO_{4 conc}. : a la muestra se le agrega una gota de ácido y se observa si hay cambio de color: las flavonas y flavonoles dan coloraciones fuertemente amarillas, las flavanonas, anaranjadas o guindas; las chalconas y auronas, rojo guinda o rojo azulado.

3.5.5 Análisis cromatográfico en capa fina

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

3.5.5.1 Preparación de la muestra

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

3.5.5.2 Preparación de las soluciones estándar

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

3.5.5.3 Preparación de la fase móvil

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

3.5.5.4 Preparación de la placa cromatográfica

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

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

3.5.5.5 Desarrollo de la placa cromatográfica

Se coloca la placa dentro de la cámara cromatográfica que contiene la fase móvil, se deja que las líneas que aparecen, lleguen a una distancia de 2 cm. abajo del borde superior de la placa. Se retira la placa y se coloca en la

campana de extracción, para que seque la fase móvil, si es necesario se rocía la placa con solución reveladora, luego se observa la placa con una lámpara ultravioleta.

3.5.5.6 Preparación de las soluciones reveladoras

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

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

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

Se observa con luz ultravioleta los puntos que coinciden con los puntos de las soluciones estándar, identificando de esta manera la presencia de colorantes del tipo flavonoides.

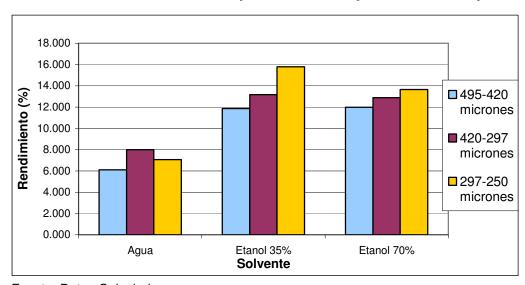
4. RESULTADOS

Tabla I. Rendimiento promedio porcentual de extractos tánicos, obtenidos a presión atmosférica (640 mmHg).

Solventes	Rangos de Tamaño de partícula (micrones)			
Solvenies	495 - 420	420 - 297	297 - 250	
Agua (Teb. 94ºC)	6.107 % ± 0.506	8.003 % ± 0.506	7.067 % ± 0.506	
Etanol 35% (v/v) (Teb. 89°C)	11.867 % ± 0.506	13.173 % ± 0.506	15.787 % ± 0.506	
Etanol 70% (v/v) (Teb. 77ºC)	11.987 % ± 0.506	12.893 % ± 0.506	13.653 % ± 0.506	

Fuente: Datos Calculados.

Figura 1. Gráfico del porcentaje de rendimiento de los extractos tánicos en función del tipo de solvente y de tamaño de partícula.



Fuente: Datos Calculados.

Tabla II. Resultados promedio de propiedades fisicoquímicas de los extractos colorantes.

Solvente	Densidad (g/mL)	Índice de Refracción
Agua		
(Teb. 94ºC)	1.087 ± 0.009	1.350 ± 0.004
Etanol 35% (v/v)		
(Teb. 89ºC)	1.098 ± 0.009	1.360 ± 0.001
Etanol 70% (v/v)		
(Teb. 77ºC)	1.088 ± 0.009	1.356 ± 0.005

Fuente: Datos Calculados.

Tabla III. Reacción colorida de Shinoda para la identificación de Flavonoides en el extracto colorante.

Solvente	Flavonoide Identificado	
Agua	Flavonas y Flavonoles	
(Teb. 94ºC)	Flavolias y Flavolioles	
Etanol 35% (v/v)	Flavores v. Flavores la s	
(Teb. 89ºC)	Flavonas y Flavonoles	
Etanol 70% (v/v)		
(Teb. 77ºC)	Flavonas y Flavonoles	

Fuente: Análisis Experimental.

Tabla IV. Reacción colorida con Ácido Sulfúrico para la identificación de Flavonoides en los extractos colorantes.

Solvente	Flavonoide identificado
Agua	
(Teb. 94ºC)	Flavonas y Flavonoles
Etanol 35% (v/v)	
(Teb. 89ºC)	Flavonas y Flavonoles
Etanol 70% (v/v)	
(Teb. 77ºC)	Flavonas y Flavonoles

Fuente: Análisis Experimental.

Tabla V. Análisis cromatográfico en capa fina para la determinación de la presencia de Quercitina, Rutina, Ácido Clorogénico, Hiperósido y Antroquinonas en los extractos colorantes.

Solvente	Ácido Clorogénico	Rutina	Hiperósido	Quercitina	Antroquinonas
Agua					
(Teb. 94ºC)	-	+	-	-	-
Etanol 35%					
(v/v)	-	+	-	-	-
(Teb. 89ºC)					
Etanol 70%					
(v/v)	-	+	-	-	-
(Teb. 77ºC)					

Fuente: Análisis Experimental.

Tabla VI. Prueba de taninos para extracto colorante.

Solvente Prueba	Agua (Teb. 94ºC)	Etanol al 35% (v/v) (Teb. 94ºC)	Etanol al 70% (v/v) (Teb. 94ºC)	Tipo de tanino
Gelatina gel 1%	+	+	+	Catecol
Gelatina Sal	+	+	+	Catecol
Cloruro Férrico	+	+	+	Catecol

Fuente: Análisis Experimental.

Tabla VII. Determinación de cumarinas en los extractos colorantes.

Solvente	Cumarinas
Agua	
(Teb. 94ºC)	-
Etanol 35% (v/v)	
(Teb. 89ºC)	-
Etanol 70% (v/v)	
(Teb. 77ºC)	-

Fuente: Análisis Experimental.

5. DISCUSIÓN RESULTADOS

En la presente investigación se realizó la extracción y caracterización de los extractos tintóreos obtenidos de la corteza del Aliso Común (*Alnus jorullensis HBK*), a nivel laboratorio para determinar si hay o no diferencia entre las propiedades fisicoquímicas, así como realizar una caracterización fitoquímica de dichos extractos. La corteza de Aliso Común fue proporcionada por la organización no gubernamental FUNCEDESCRI, del bosque propio ubicado en San Lucas Sacatepéquez, Guatemala; el municipio se encuentra a una latitud de 14° 36' 35" N y una longitud de 90° 39' 35" O, a unos 2602 msnm, posee un clima templado húmedo a una temperatura promedio de 18.4°C y sus suelos pertenecen a la serie Cauque, siendo su material la ceniza volcánica de color claro.

Para obtener los datos necesarios se realizaron extracciones con el método de maceración dinámica a reflujo constante en función de la relación corteza seca/solvente de 1:10 (w/v), con tiempo de extracción de 2 horas y a temperatura de ebullición de cada solvente, a una presión de 640 mmHg. Para ello se utilizaron 3 tipos de extractores (agua, etanol al 35% (v/v) y etanol al 70% (v/v)) y 3 tipos de tamaño de partícula de corteza seca (rangos entre 495 y 420 micrones, 420 y 297 micrones, 297 y 250 micrones), con 3 repeticiones para cada una, resultando 27 extracciones en total.

Obtenidos los extractos se procedió a realizarles los análisis fisicoquímicos correspondientes y cromatografía en capa fina.

5.1 Rendimientos

En la Tabla I se muestra el rendimiento porcentual del extracto colorante obtenido. En ella se puede apreciar que la especie presenta un valor de rendimiento promedio total de $11.17\% \pm 0.506$.

En la Tabla XI en la sección de Análisis Estadístico, se determinan los efectos en el rendimiento en función del solvente utilizado y del tamaño de partícula; se observa que hay interacción entre ellos.

En la Tabla XII se establece que los mejores rendimientos son obtenidos al utilizar el solvente etanólico al 35% (v/v) con un tamaño de partícula entre 297 y 250 micrones; siendo estos de 15.787% \pm 0.506.

Con base a los resultados obtenidos en la Tabla XIII se concluye que el etanol al 35% (v/v) produce un mayor rendimiento en los extractos que con el agua o el etanol al 70% (v/v); sin embargo en la Tabla XIV se puede observar que no existe una diferencia significativa entre el rendimiento promedio obtenido con el etanol al 35%(v/v) y el etanol al 70% (v/v); no así con el agua.

Con base a los resultados obtenidos en la Tabla XV se concluye que el que el tamaño de partícula entre 297 y 250 micrones produce un mayor rendimiento en los extractos que con los tamaños de partícula entre 495 y 420, 420 y 297 micrones; sin embargo en la Tabla XVI se puede observar que no existe una diferencia significativa entre el rendimiento promedio obtenido con el tamaño de partícula entre 420 y 250 micrones; no así con el tamaño de partícula de entre 495 y 420 micrones.

En conclusión, y basándose en las pruebas de Duncan realizadas en las Tablas XVII y XVIII, se establece que los mejores rendimientos se producen con la utilización de los solventes etanólicos y con los tamaños de partícula entre 420 y 250 micrones; por lo cual el agua y el tamaño de partícula entre 495 y 420 micrones no son rentables en la extracción de colorantes de la corteza de aliso común mediante el proceso de maceración dinámica a reflujo.

5.2 Propiedades fisicoquímicas

En la tabla II se muestran los promedios de propiedades fisicoquímicas de los extractos colorantes. Para los valores de densidad obtenidos, no hay efecto significativo del solvente utilizado.

Al realizarse el Análisis de varianza en la Tabla XX, se estableció que no existe diferencia significativa en las densidades obtenidas en cada solvente utilizado, lo cuál es confirmado al realizarse la prueba de Duncan en la Tabla XXI.

Para los valores obtenidos del índice de refracción, hay efectos significativos según el solvente utilizado y su interacción. Se observan valores de índice de refracción mayores en los extractos colorantes al utilizar como solvente etanol que agua.

Al realizarse el Análisis de varianza en la Tabla XX, se estableció que existe diferencia significativa en los índices de refracción obtenidos en cada solvente utilizado, lo cuál es confirmado al realizarse la prueba de Duncan en la Tabla XXII; pero se observa que las diferencias entre los índices de refracción

obtenidos para cada solvente son mínimos, los cuales en la práctica pueden ser despreciables.

5.3 Identificación de Flavonoides

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

En la Tabla III se observa en el extracto colorante de la corteza de Aliso Común están presentes los Flavonoides denominados Flavonas y Flavonoles, independiente del tipo de solvente utilizado.

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

En la Tabla V se observa que el extracto colorante de aliso común no posee Ácido Clorogénico ni Hiperósido, la prueba para Rutina es positiva lo que indica que está presente en los extractos obtenidos de aliso con los 3 diferentes solventes. Las pruebas para Quercitina y Antroquinonas son negativas, independiente del solvente utilizado.

En la Tabla VI, las 3 pruebas para determinar presencia de taninos en los extractos colorantes de aliso fueron positivas, independiente del solvente utilizado, estableciéndose según las pruebas que el tipo de tanino es Catecol, debido a la coloración verde-grisácea que se obtuvo con la prueba de Cloruro Férrico. El catecol es un radical formado por un anillo bencénico con dos grupos hidroxilo a diferencia del pirogalol que posee tres grupos hidroxilo. El pirogalol se identifica cuando existe una coloración azul al agregarse Cloruro Férrico.

En la Tabla VII, la prueba para determinación de Cumarinas resultó negativa independiente del solvente utilizado, ya que no hubo cambio de coloración en la solución al agregarse KOH.

CONCLUSIONES

- 1. Existe diferencia significativa entre los rendimientos de los extractos acuosos y etanólicos obtenidos de la corteza de Aliso Común (*Alnus jorullensis HBK*). Siendo el extracto con solvente etanólico al 35% (v/v) el que presentó el doble de rendimiento con relación al agua.
- Existe diferencia significativa en el rendimiento de los extractos tintóreos de la corteza de Aliso Común para cada solvente a utilizar. Siendo el extracto con solvente etanólico al 35% (v/v) el que presentó mayor rendimiento con un promedio de 13.60% ± 0.506.
- 3. No existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas del extracto tintóreo de la corteza de Aliso Común en cada solvente utilizado.
- 4. Existe efecto muy claro de la influencia del tamaño de partícula en el rendimiento del extracto colorante obtenido, ya que los mayores rendimientos se obtuvieron el tamaño de partícula de corteza molida entre 297 y 250 micrones.
- 5. La presencia de flavonoides y taninos no se ve afectada por el tipo de solvente ni por el tamaño de partícula utilizado.

RECOMENDACIONES

- 1. Realizar la extracción del colorante de la corteza de *alnus jorullensis HBK* a nivel planta piloto y aplicarlo a diferentes fibras naturales y sintéticas.
- 2. Evaluar el potencial tintóreo de otras especies forestales y su aplicación a fibras naturales y sintéticas.
- 3. Implementar nuevas variables de proceso para la caracterización de extractos tintóreos de *alnus jorullensis HBK*, como uso de materia prima con cultivo controlado en diferentes regiones del país, diferentes altitudes y así comparar sus propiedades.
- Someter a estudio extracciones de colorantes utilizando solventes etanólicos que tengan una relación volumen-volumen debajo del 35% y entre el 35 - 70 %
- Fomentar más estudios comparativos entre las propiedades de las plantas en su uso comercial como parte de la estandarización de las mismas para fines industriales

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1. Cáceres, Armando. **Plantas de uso medicinal en Guatemala.** (Colección Monografías, Volumen 1). Guatemala: Editorial Universitaria. 1996. pp. 18-23, 27.
- 2. Micfrosoft Encarta 2002, **Colorantes.** Biblioteca de Consulta de Microsoft 2002.
- 3. Kirk, Raymond y Donald Othmer. **Enciclopedia de tecnología química.** (Volumen 1). México: Editorial Hispanoamericana. 1962. 625 pp.
- 4. Lock O. Citado por Cecilia Valencia, Colorantes naturales. (Perú: 1997).
- 5. Rodríguez Montoya, Martha Catalina. **Alimentos con color natural.** (29/10/2002).http://www.consumaseguridad.com/web/es/investigacion/2002/10/29/3885.php. (17/01/07).
- 6. SIRE Paquetes Tecnológicos. **Alnus Acuminata HBK**. http://www.conafor.gob.mx/portal/docs/secciones/bosquedes/Fichas%20Tecnicas/Alnus%20acuminata.pdf. (16/01/07).
- 7. Universidad Nacional Experimental del Táchira y la Gobernación del estado Táchira. **El Aliso.** http://www.funtha.gov.ve/fundacite2005b/download/aliso.pdf (16/01/07).

BIBLIOGRAFÍA

- Domínguez M., Augusto Alberto. Extracción de los pigmentos colorantes del tipo xantofilas contenidos en la flor Tagetes Erecta (Marigold). Trabajo de graduación de Ing. Química. Guatemala, USAC, Facultad de Ingeniería, 1987. 50 pp.
- 2. Domínguez, Xorge. **Métodos de investigación fitoquímica.** México: Editorial Limusa, 1973. 250 pp.
- 3. Donado Miranda, Marco Antonio. Extracción de carotenoides de la caléndula para su utilización como colorante natural en productos para consumo humano. Trabajo de graduación de Ing. Química. Guatemala, USAC, Facultad de Ingeniería, 2000. 47 pp.
- 4. Ibid., Volumen V. 630 pp.

APÉNDICE A

Datos Originales

Tabla VIII. Densidad de los extractos colorantes a 20 ºC.

Solvente	Corrida	Densidad (g/mL)	Promedio (g/mL)
Agua	1	1.0800	
	2	1.0835	1.087
(T _{eb} . 94ºC)	3	1.0975	
Etanol al 35% (v/v)	1	1.0875	
, ,	2	1.1000	1.098
(T _{eb} . 89ºC)	3	1.1050	
Etanol al 70% (v/v)	1	1.0815	
	2	1.0990	1.088
(T _{eb} . 77ºC)	3	1.0825	

Fuente: Análisis de Laboratorio.

Tabla IX. Porcentaje de rendimiento de extracto colorante en función del solvente y del tamaño de partícula.

Solvente	Tamaño de partícula	Repetición	Rendimiento
	(micrones)		
		1. 6.64 %	
	495 - 420	2. 5.36 %	6.11 %
		3. 6.32 %	
Agua		1. 7.60 %	
, igua	420 - 297	2. 8.69 %	8.00 %
(Tab. 049C)		3. 7.72 %	
(Teb. 94ºC)		1. 6.40 %	
	297 - 250	2. 7.76 %	7.06 %
		3. 7.04 %	
		1. 11.72 %	
	495 - 420	2. 12.16 %	11.86 %
		3. 11.72 %	
Etanol		1. 13.60 %	
al 35% (v/v)	420 - 297	2. 12.80 %	13.17 %
ai 00 /0 (V/V)		3. 13.12 %	
(Tala 2000)		1. 17.20 %	
(Teb. 89ºC)	297 - 250	2. 14.36 %	15.78 %
		3. 15.80 %	
		1. 11.64 %	
	495 - 420	2. 12.44 %	11.98 %
		3. 11.88 %	
Etanol		1. 12.64 %	
al 70% (v/v)	420 - 297	2 12.24 %	12.89 %
ai 7070 (v/v)		3. 13.80 %	
(T.L. 77.00)		1. 15.48 %	
(Teb. 77 ºC)	297 - 250	2. 13.00 %	13.65 %
		3. 12.48 %	

Fuente: Análisis de laboratorio.

Tabla X. Índices de Refracción de los extractos colorantes.

Solvente	Corrida	Índice de refracción	Promedio
Agua	1	1.3521	
	2	1.3459	1.3504
(Teb. 94ºC)	3	1.3532	
Etanol al 35% (v/v)	1	1.3600	
	2	1.3595	1.3600
(Teb. 89ºC)	3	1.3605	
Etanol al 70% (v/v)	1	1.3585	
, ,	2	1.3520	1.3562
(Teb. 77ºC)	3	1.3580	

Fuente: Análisis de laboratorio.

APÉNDICE B

Análisis Estadístico (Programa SAS)

Los análisis estadísticos elaborados se basaron en el Análisis de Varianza (ANDEVA) y la prueba de Duncan; para ello se utilizó el programa SAS; la nomenclatura utilizada fue la siguiente:

Nomenclatura

F = factor estadístico utilizado en el ANDEVA para la conclusión.

Indre = Índice de Refracción.

N = Número de repeticiones.

Solvente 1 = Agua.

Solvente 2 = Etanol al 35% (v/v).

Solvente 3 = Etanol al 70% (v/v).

Sig. = Significancia.

 σ = Desviación Estándar.

Tamiz = Tamaño de Partícula.

Tamiz 30 = Tamaño de partícula de 495 micrones.

Tamiz 40 = Tamaño de partícula de 420 micrones.

Tamiz 50 = Tamaño de partícula de 297 micrones.

Tamiz 60 = Tamaño de partícula de 250 micrones.

Figura 2. Gráfico de la relación del rendimiento de los extractos en función del tamaño de partícula para cada tipo de solvente.

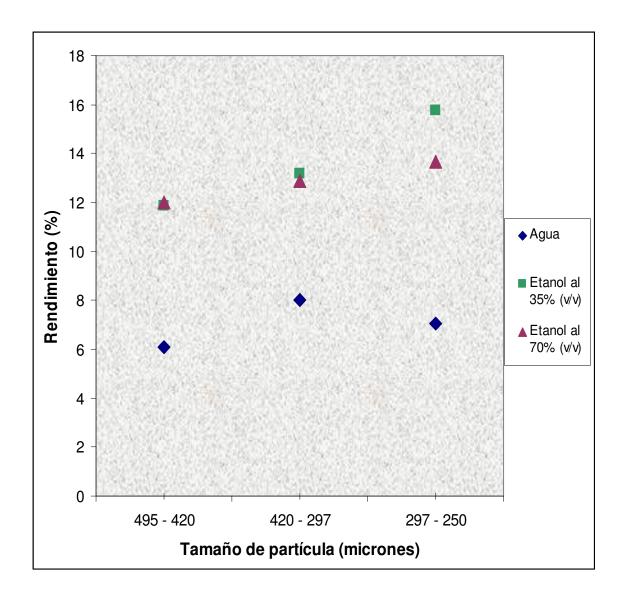


Tabla XI. Análisis de Varianza para el tamaño de partícula en función del solvente en base a los rendimientos de los extractos obtenidos.

Fuente de	Suma de	Grados de	Cuadrados		
Variación	Cuadrados	Libertad	Medios	F _{calculada}	Sig.
Solvente	230.879	2	115.439	150.523	.000
Tamiz	21.896	2	10.948	14.275	.000
Solvente*Tamiz	11.581	4	2.895	3.775	.021
Error	13.805	18	.767		
Total	278.160	26			

Tabla XII. Dependencia entre el tipo de solvente y el tamaño de partícula utilizados.

				Intervalo de Confianza 95%		
Solvente	Tamiz	Promedio	σ	Límite Inferior	Límite Superior	
1	30 - 40	6.107	.506	5.044	7.169	
	40 - 50	8.003	.506	6.941	9.066	
	50 - 60	7.067	.506	6.004	8.129	
2	30 - 40	11.867	.506	10.804	12.929	
	40 - 50	13.173	.506	12.111	14.236	
	50 - 60	15.787	.506	14.724	16.849	
3	30 - 40	11.987	.506	10.924	13.049	
	40 - 50	12.893	.506	11.831	13.956	
	50 - 60	13.653	.506	12.591	14.716	

Tabla XIII. Promedios de rendimientos de los extractos obtenidos con cada solvente utilizado.

			Intervalo de Confianza 95%			
Solvente	Promedio	σ	Límite Inferior	Límite Superior		
1	7.059	.292	6.446	7.672		
2	13.609	.292	12.996	14.222		
3	12.844	.292	12.231	13.458		

Tabla XIV. Relación entre los tipos de solventes en función de los rendimientos de los extractos obtenidos para los distintos tamaños de partícula.

(I) Solvente	(J) Solvente	Diferencia de Medias	σ	Sig.	Intervalo de Confianza 95%		
		(I-J)			L. Inferior	L. Superior	
1	2	-6.550	.413	.000	-7.417	-5.683	
	3	-5.786	.413	.000	-6.653	-4.918	
2	1	6.550	.413	.000	5.683	7.417	
	3	.764	.413	.081	103	1.632	
3	1	5.786	.413	.000	4.918	6.653	
	2	764	.413	.081	-1.632	.103	

Tabla XV. Promedios de rendimientos de los extractos obtenidos con cada tamaño de partícula para todos solventes utilizados.

			Intervalo de Confianza 95%			
Tamiz	Promedio	σ	Límite Inferior	Límite Superior		
30 - 40	9.987	.292	9.373	10.600		
40 - 50	11.357	.292	10.743	11.970		
50 - 60	12.169	.292	11.556	12.782		

Tabla XVI. Relación entre los tamaños de partícula en función de los rendimientos de los extractos obtenidos para los distintos solventes utilizados.

(I)	(J)	Diferencia de Medias	σ	Sig.	Intervalo de C	confianza 95%	
Tamiz	Tamiz	(I-J)			L. Inferior	L. Superior	
30 - 40	40 - 50	-1.370	.413	.004	-2.237	503	
	50 - 60	-2.182	.413	.000	-3.050	-1.315	
40 - 50	30 - 40	1.370	.413	.004	.503	2.237	
	50 - 60	812	.413	.065	-1.680	.055	
50 - 60	30 - 40	2.182	.413	.000	1.315	3.050	
	40 - 50	.812	.413	.065	055	1.680	

Tabla XVII. Análisis de Duncan para los rendimientos de los extractos obtenidos en función del tipo de solvente utilizado

Salvanta	N	Subgrupos		
Solvente	IN	1	2	
1	9	7.0589		
3	9		12.8444	
2	9		13.6089	
Sig.		1.000	.081	

Tabla XVIII. Análisis de Duncan para los rendimientos de los extractos obtenidos en función del tamaño de partícula.

TAMIZ	N	Subg	upos	
I AWIIZ		1	2	
30 - 40	9	9.9867		
40 - 50	9		11.3567	
50 - 60	9		12.1689	
Sig.		1.000	.065	

Figura 3. Gráfico de las densidades obtenidas de los extractos para cada solvente utilizado.

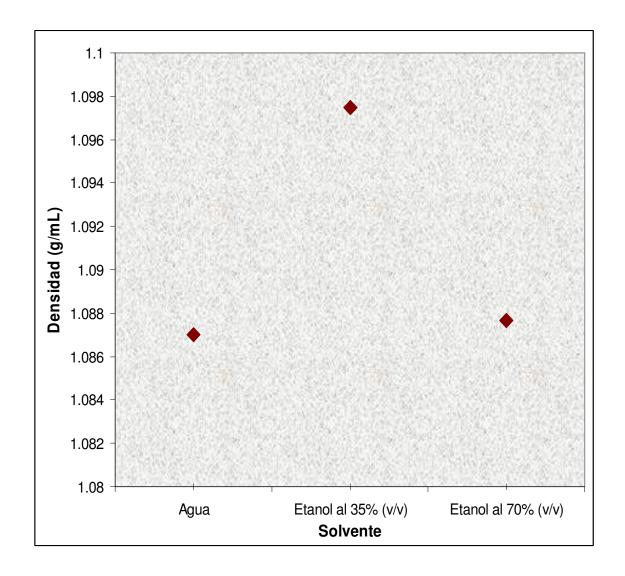


Figura 4. Gráfico de los Índices de Refracción de los extractos obtenidos para cada solvente utilizado.

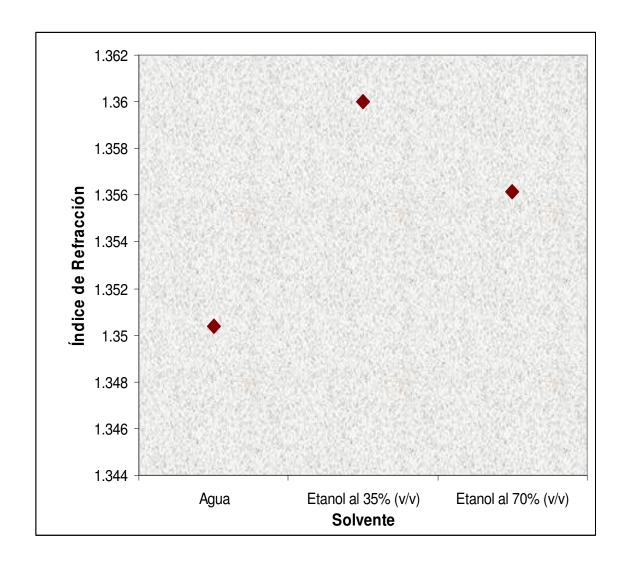


Tabla XIX. Medias y desviaciones estándar obtenidas en las Densidades e Índices de Refracción de los extractos en los solventes utilizados.

						Interva	alo de	Mínimo	
Propiedad	Solv.	N	Promedio	σ	σ Error	Confianza 95%			Máximo
Topicaaa	3014.	'	Tiomedio	U	O LIIOI	Límite	Límite		WIGATITIO
						Inferior	Superior		
Densidad	1	3	1.087000	.0092601	.0053463	1.063997	1.110003	1.0800	1.0975
	2	3	1.097500	.0090139	.0052042	1.075108	1.119892	1.0875	1.1050
	3	3	1.087667	.0098277	.0056740	1.063253	1.112080	1.0815	1.0990
	Total	9	1.090722	.0095822	.0031941	1.083357	1.098088	1.0800	1.1050
Indre	1	3	1.350400	.0039357	.0022723	1.340623	1.360177	1.3459	1.3532
	2	3	1.360000	.0005000	.0002887	1.358758	1.361242	1.3595	1.3605
	3	3	1.356167	.0036171	.0020883	1.347181	1.365152	1.3520	1.3585
	Total	9	1.355522	.0049719	.0016573	1.351701	1.359344	1.3459	1.3605

Fuente: Programa SAS.

Tabla XX. ANDEVA de Densidades e Índices de Refracción de los extractos.

Fuente de Variación	Relación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	F _{calculada}	Sig.
Densidad	Entre grupos	.000	2	.000	1.180	.370
	Dentro de grupos	.001	6	.000		
	Total	.001	8			
Indre	Entre grupos	.000	2	.000	7.291	.025
	Dentro de grupos	.000	6	.000		
	Total	.000	8			

Fuente: Programa SAS.

Tabla XXI. Análisis de Duncan para las densidades de los extractos obtenidas en cada solvente utilizado.

Solvente	N	Subgrupo para α = .05	
		1	
1	3	1.087000	
3	3	1.087667	
2	3	1.097500	
Sig.		.233	

Fuente: Programa SAS.

Tabla XXII. Análisis de Duncan para los Índices de Refracción de los extractos obtenidos en cada solvente utilizado.

Solvente	N	Subgrupo para α = .05	
		1	2
1	3	1.350400	
3	3	1.356167	1.356167
2	3		1.360000
Sig.		.063	.181

Fuente: Programa SAS.

APÉNDICE C

Soluciones Binarias No Ideales

Si preparamos una mezcla de 50 mL de agua y 50 mL de un alcohol, después de mezclarlos el volumen total resulta diferente a 100 mL; en concreto, si tenemos etanol y agua a 1 atm y 20 °C obtendríamos sólo 96 mL. Esto es debido a que las interacciones intermoleculares en disolución son diferentes a las interacciones que existían entre los componentes puros. Además, las moléculas ocupan diferente volumen. La misma situación ocurre para todas aquellas propiedades extensivas, por ejemplo, U, H, S, G, A. Además, estas propiedades generalmente cambian cuando se mezclan los componentes; el volumen molar de una sustancia pura no es igual al volumen que esa sustancia ocupa después de la mezcla! (V≠V_{1n1}+V_{2n2})

Determinación del cambio de volumen de la solución de Etanol al 35 % (v/v).

Volumen total= 250 mL

Volumen Etanol = 87.5 mL

Volumen Agua = 162.5 mL

% en Peso de la Solución de Alcohol

% =
$$g \text{ Etanol}$$
 * 100 (ec. 11)
g Etanol + g Agua

 $\rho_{\text{Etanol a 20 }^{\circ}\text{C}} = 0.78934 \text{ g/mL}$

 $\rho_{Agua\ a\ 20\ ^{\circ}C} = 0.99823\ g/mL$

% =
$$\frac{(87.5 \text{ mL})(0.78934 \text{ g/mL})}{(87.5 \text{ mL})(0.78934 \text{ g/mL}) + (162.5 \text{ mL})(0.99823 \text{ g/mL})} = 29.86 \%$$
 (ec. 11)

Volúmenes Real e Ideal

PM Etanol = 46 g

 $PM_{aqua} = 18 g$

 ρ Solución 29.86% en peso de alcohol = 0.95416 g/mL

Fracción en peso de Etanol = X Etanol = 0.2986

Fracción en peso de Agua = X Agua = 0.7014

$$V_{Real} = (PM_{Agual}) (X_{Agua}) + (PM_{Etanol}) (X_{Etanol})$$
 (ec. 14)

 ρ Solución 29.86% en peso de alcohol

$$V_{Real} = \frac{(18 \text{ g}) (0.7014) + (46 \text{ g}) (0.2986)}{0.95416 \text{ g/mL}} = 27.63 \text{ mL/mol}$$
 (ec. 14)

$$V_{Ideal} = \underbrace{(PM_{Agual})}_{(\rho_{Agua})} (X_{Agua}) + \underbrace{(PM_{Etanol})}_{(\rho_{Etanol})} (X_{Etanol})$$

$$(ec. 15)$$

$$V_{\text{Ideal}} = \underbrace{ (\ 18\ g\)}_{(0.99823\ g/\text{mL})} \underbrace{ (0.7014) + \underbrace{ (46\ g\)}_{(0.78934\ g/\text{mL})} }_{(0.78934\ g/\text{mL})} \underbrace{ (0.2986) = \ 30.05\ \text{mL/mol}}_{(0.78934\ g/\text{mL})}$$

Cambio en el volumen de la solución

$$\Delta V = V_{Real} - V_{Ideal}$$
 (ec. 16)

$$\Delta V = 27.63 \text{ mL/mol} - 30.05 \text{ mL/mol}$$
 (ec. 16)

 $\Delta V = -2.42 \text{ mL/mol}$

2. Determinación del cambio de volumen de la solución de Etanol al 70 % (v/v).

Volumen total= 250 mL

Volumen Etanol = 175 mL

Volumen Agua = 75 mL

% en Peso de la Solución de Alcohol

% =
$$g \text{ Etanol}$$
 * 100 (ec. 11)
g Etanol + g Agua

g Agua =
$$(Volumen Agua)^*(Densidad Agua)$$
 (ec. 13)

 $\rho_{Etanol\ a\ 20\ ^{\circ}C} = 0.78934\ g/mL$

 $\rho_{Agua\ a\ 20\ ^{\circ}C} = 0.99823\ g/mL$

% =
$$\frac{(175 \text{ mL})(0.78934 \text{ g/mL})}{(175 \text{ mL})(0.78934 \text{ g/mL}) + (75 \text{ mL})(0.99823 \text{ g/mL})} = 64.85 \%$$
 (ec. 11)

Volúmenes Real e Ideal

PM Etanol = 46 g

 $PM_{agua} = 18 g$

 $\rho\,$ Solución 64.85% en peso de alcohol = $0.87995\,\,g/mL$

Fracción en peso de Etanol = X Etanol = 0.6485

Fracción en peso de Agua = X Agua = 0.3515

$$V_{Real} = (PM_{Agual}) (X_{Agua}) + (PM_{Etanol}) (X_{Etanol})$$
 (ec. 14)

ρ Solución 64.85% en peso de alcohol

$$V_{\text{Real}} = \frac{(18 \text{ g}) (0.3515) + (46 \text{ g}) (0.6485)}{0.87995 \text{ g/mL}} = 41.09 \text{ mL/mol}$$
 (ec. 14)

$$V_{Ideal} = \underbrace{(PM _{Agual})}_{(\rho _{Agua})} (X _{Agua}) + \underbrace{(PM _{Etanol})}_{(\rho _{Etanol})} (X _{Etanol})$$
 (ec. 15)

$$V_{\text{Ideal}} = \underbrace{ (18 \text{ g}) }_{(0.99823 \text{ g/mL})} (0.3515) + \underbrace{ (46 \text{ g}) }_{(0.78934 \text{ g/mL})} (0.6485) = 44.13 \text{ mL/mol}$$

Cambio en el volumen de la solución

$$\Delta V = V_{Real} - V_{Ideal}$$
 (ec. 16)

$$\Delta V = 41.09 \text{ mL/mol} - 44.13 \text{ mL/mol}$$
 (ec. 16)

 $\Delta V = -3.04 \text{ mL/mol}$

APÉNDICE D

Constante dieléctrica

La solubilidad depende de las propiedades de un solvente que le permitan interaccionar con un soluto de manera más fuerte que como lo hacen las partículas del solvente unas con otras. La constante dieléctrica, es una medida de las propiedades de un solvente para mantener cargas opuestas separadas.

 Determinación de la constante dieléctrica de la solución de Etanol al 35 % (v/v).

$$\xi_{agua\ a\ 20^{\circ}C} = 78.5$$

$$\xi_{\ etanol\ a\ 20^{\circ}C}=24$$

Volumen total= 250 mL

 ρ Etanol a 20 $^{\circ}C$ = 0.78934 g/mL

$$\rho$$
 $_{Agua\;a\;20\;^{9}C}$ = 0.99823 g/mL

$$PM_{Etanol} = 46 g$$

$$PM_{agua} = 18 g$$

Fracciones molares

Fracción mol (x) =
$$\frac{\text{moles a}}{\text{moles a}}$$
 (ec. 17)

$$x_{\text{etanol}} = \frac{(87.5 \text{ mL})(0.78934 \text{ g/mL})(1 \text{ mol/ } 46 \text{g})}{(87.5 \text{ mL})(0.78934 \text{ g/mL})(1 \text{ mol/ } 46 \text{ g}) + (162.5 \text{ mL})(0.99823 \text{ g/mL})(1 \text{ mol/ } 18 \text{g})}$$

$$x_{\text{etanol}} = 0.143$$

$$x_{agua} = \frac{(162.5 \text{ mL})(0.99823 \text{ g/mL})(1 \text{ mol/ } 18\text{g}).}{(87.5 \text{ mL})(0.78934 \text{ g/mL})(1 \text{ mol/ } 46 \text{ g}) + (162.5 \text{ mL})(0.99823 \text{ g/mL})(1 \text{ mol/ } 18\text{g})}$$

$$X_{agua} = 0.857$$

Constantes Dieléctricas

$$\xi_{\text{solución}} = \xi_{\text{agua}}^* X_{\text{agua}} + \xi_{\text{etanol}}^* X_{\text{etanol}}$$
 (ec. 18)

$$\xi_{\text{solución}} = (78.5)(0.857) + (24)(0.143) \tag{ec. 18}$$

$$\xi_{\text{solución}} = 70.70$$

2. Determinación de la constante dieléctrica de la solución de Etanol al 70 % (v/v).

$$\xi_{\text{agua a 20}^{\circ}\text{C}} = 78.5$$

$$\xi_{\text{etanol a 20}^{\circ}\text{C}} = 24$$

$$\rho_{Etanol\ a\ 20\ ^{\circ}C} = 0.78934\ g/mL$$

$$\rho_{Agua\ a\ 20\ ^{\circ}C} = 0.99823\ g/mL$$

$$PM_{agua} = 18 g$$

Fracciones molares

$$X_{\text{etanol}} = \frac{(175 \text{ mL})(0.78934 \text{ g/mL})(1 \text{ mol/ 46g})}{(175 \text{ mL})(0.78934 \text{ g/mL})(1 \text{ mol/ 46 g}) + (75 \text{ mL})(0.99823 \text{ g/mL})(1 \text{ mol/ 18g})}$$

$$x_{etanol} = 0.419$$

$$x_{agua} = (75 \text{ mL})(0.99823 \text{ g/mL})(1 \text{ mol/ } 18\text{g}).$$

$$(175 \text{ mL})(0.78934 \text{ g/mL})(1 \text{ mol/ } 46 \text{ g}) + (75 \text{ mL})(0.99823 \text{ g/mL})(1 \text{ mol/ } 18\text{g})$$

$$X_{aqua} = 0.581$$

Constantes Dieléctricas

$$\xi_{\text{solución}} = \xi_{\text{agua}}^* x_{\text{agua}} + \xi_{\text{etanol}}^* x_{\text{etanol}}$$
 (ec. 18)

$$\xi_{\text{solución}} = (78.5)(0.581) + (24)(0.419) \tag{ec. 18}$$

$$\xi_{\text{solución}} = 55.66$$

APÉNDICE D

Figura 5. Corteza molida de alnus jorullensis HBK.



Figura 6. Sistema de maceración dinámica a reflujo.

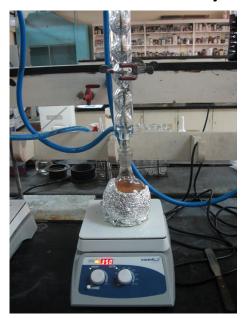


Figura 7. Filtración de los extractos tintóreos.



Figura 8. Extracción utilizando el método de maceración dinámica a reflujo.



Figura 9. Rotaevaporación de los extractos acuosos y etanólicos



Figura 10. Extractos tintóreos de *alnus jorullensis HBK* en polvo.

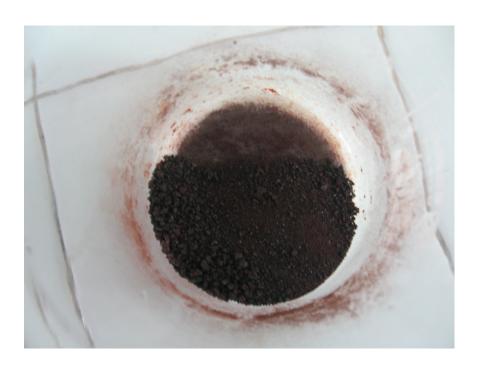


Figura 11. Extracto tintóreo de *alnus jorullensis HBK* rotaevaporado para tamizaje fitoquímico.



Figura 12. Cromatografía en Capa Fina para la determinación de flavonoides.

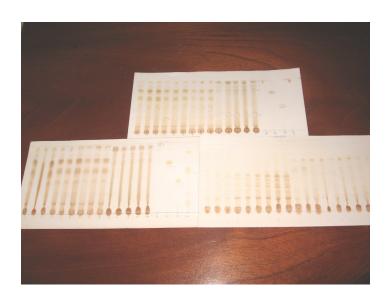


Figura 13. Rendimientos obtenidos para los distintos tamaños de partícula y solventes utilizados.

