



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

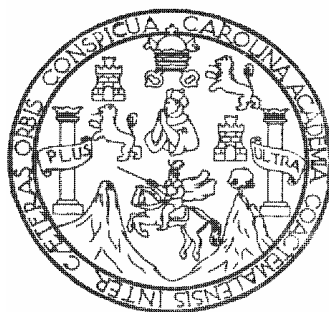
**LIXIVIACIÓN DE COLORANTES DEL TIPO
FLAVONOIDES CONTENIDOS EN LA CORTEZA DE LA
ESPECIE FORESTAL ALISO (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*),
UTILIZANDO DOS SOLVENTES PARA SU EXTRACCIÓN, A
NIVEL LABORATORIO**

Genaro Francisco Barrera García

Asesorado por: Inga. Telma Maricela Cano Morales

Guatemala, noviembre de 2008.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**LIXIVIACIÓN DE COLORANTES DEL TIPO FLAVONOIDES
CONTENIDOS EN LA CORTEZA DE LA ESPECIE FORESTAL ALISO
(*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*), UTILIZANDO DOS SOLVENTES PARA SU
EXTRACCIÓN, A NIVEL LABORATORIO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA

POR

GENARO FRANCISCO BARRERA GARCÍA

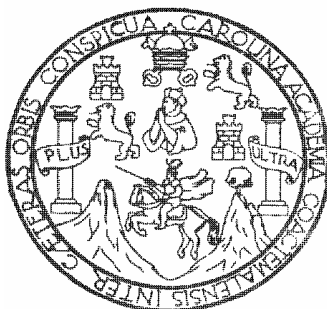
ASESORADO POR INGA. TELMA MARICELA CANO MORALES

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2008

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE 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. José Milton De León Bran
Vocal V	Br. Isaac Sultán Mejía
Secretaria	Inga. Marcia Ivónne Véliz Vargas

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

Decano	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
Examinador	Ing. José Eduardo Calderón García
Examinador	Ing. José Manuel Tay Oroxom
Examinador	Ing. Jorge Emilio Godinez Lemus
Secretaria	Inga. Marcia Ivónne Véliz Vargas

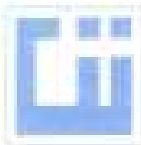
HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

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:

**LIXIVIACIÓN DE COLORANTES DEL TIPO FLAVONOIDES
CONTENIDOS EN LA CORTEZA DE LA ESPECIE FORESTAL
ALISO (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*), UTILIZANDO DOS SOLVENTES
PARA SU EXTRACCIÓN, A NIVEL LABORATORIO,**

tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 29 de mayo de 2008.

Genaro Francisco Barrera García



Guatemala, 7 de julio de 2008

Ingeniero
Williams Álvarez
Director
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería Química
Universidad de San Carlos de Guatemala

Ingeniero Álvarez:

Por medio de la presente HAGO CONSTAR que he revisado y dado mi aprobación del informe final del trabajo de graduación **"LIXIVIACIÓN DE COLORANTES DEL TIPO FLAVONOIDES CONTENIDOS EN LA CORTEZA DE LA ESPECIE FORESTAL ALISO (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*), UTILIZANDO DOS SOLVENTES PARA SU EXTRACCIÓN A NIVEL LABORATORIO"**, del estudiante Genaro Francisco Barrera García quien se identifica con carné número 2003-12463.

Sin otro particular me suscribo de usted.

Atentamente,


Inga. Telma Maricela Cano Morales
Colegiada No. 433
Supervisora Sección Química Industrial
Centro de Investigaciones de Ingeniería/ CII





UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA.

Guatemala, 23 de octubre de 2008
Ref. EIQ.306.2008

Ingeniero
Williams Guillermo Álvarez Mejía
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Presente.

Estimado Ingeniero Álvarez:

Como consta en el Acta TG-073-08-B-IF le informo que reunidos los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del informe final del trabajo de graduación, para optar al título de INGENIERO QUÍMICO al estudiante universitario GENARO FRANCISCO BARRERA GARCÍA, identificada con carné No. 2003-12463, titulado: "LIXIVIACIÓN DE COLORANTES DEL TIPO FLAVONOIDES CONTENIDOS EN LA CORTEZA DE LA ESPECIE FORESTAL ALISO (*Alnus arguta* (Schitdl.) Spach), UTILIZANDO DOS SOLVENTES PARA SU EXTRACCIÓN A NIVEL LABORATORIO" el cual ha sido asesorado por la Ingeniera Química Telma Marcela Cano Morales, como consta en el Acta.

Habiendo encontrado el referido informe final satisfactorio, se procede a recomendarle autorice al estudiante Barrera García proceder con los trámites requeridos de acuerdo a normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"DÉ Y ENSEÑAR A TODOS"

Inga. Teresa Lizely de León Arana, M.Sc.

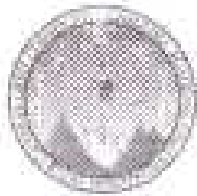
COORDINADORA

Tribunal que revisó el informe final
Del trabajo de graduación



ESCUELA DE
INGENIERÍA QUÍMICA

Cc: archivo



El Director de la Escuela de Ingeniería Química Ing. Williams Guillermo Álvarez Mejía, M.Sc. Después de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el trabajo de graduación del estudiante Genaro Francisco Barrera García titulado: "LIXIVIACIÓN DE COLORANTES DEL TIPO FLAVONOIDES CONTENIDOS EN LA CORTEZA DE LA ESPECIE FORESTAL ALISO (*Alnus arguta* (Schtdl) Spach), UTILIZANDO DOS SOLVENTES PARA SU EXTRACCIÓN, A NIVEL LABORATORIO", procede a la autorización del mismo, ya que reúne rigor, coherencia y calidad requeridos.


Ing. Williams Guillermo Álvarez Mejía M.Sc.
DIRECTOR ESCUELA INGENIERÍA QUÍMICA



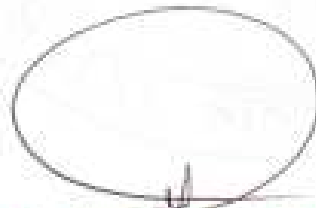
Guatemala, octubre de 2,008

C.c: archivo



El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de graduación titulado: **LIXIVIACIÓN DE COLORANTES DEL TIPO FLAVONOIDEOS CONTENIDOS EN LA CORTEZA DE LA ESPECIE FORESTAL ALISO (Alnus arguta (Schitdl.) Spach), UTILIZANDO DOS SOLVENTES PARA SU EXTRACCIÓN, A NIVEL LABORATORIO**, presentado por el estudiante universitario **Genaro Francisco Barrera Garcia**, procede a la autorización para la impresión del mismo.

IMPRÍMASE



Ing. Murphy Olympo Patz Recinos
DECANO

Guatemala, noviembre 2008



AGRADECIMIENTOS A:

DIOS

Mí creador y salvador.

MIS PADRES

Genaro e Iris, gracias por su ayuda incondicional y confianza depositada en mí.

MIS HERMANOS

Estuardo y Belbeth, por su apoyo y cariño recibidos.

MIS TÍOS Y PRIMOS

Por su ayuda y cariño en todos los momentos de mi vida.

MIS AMIGOS

Por su amistad y apoyo brindado durante todo este tiempo.

INGA. TELMA CANO

Por todo el apoyo brindado para la realización del presente informe.

ING. CESAR GARCÍA

Por su colaboración y paciencia en la revisión del presente informe.

DEDICATORIA A:

DIOS

Fuente inagotable de virtud y sabiduría

MIS PADRES

Genaro Oswaldo Barrera Molina
Iris del Carmen García Meléndez

MIS HERMADOS

Estuardo y Belbeth

Todos los integrantes de mí familia García.

Todos los integrantes de mi familia Barrera.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	V
LISTA DE SÍMBOLOS	XI
GLOSARIO	XII
RESUMEN	XV
HIPÓTESIS	XVII
OBJETIVOS	XIX
INTRODUCCIÓN	XX
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO	
2.1 Color	3
2.2 Colorantes	
2.2.1 Colorantes naturales	4
2.2.2 Sinopsis histórica	5
2.3 Las plantas como colorantes	6
2.3.1 Flavonoides	8
2.4 Características fisicoquímicas de los colorantes	9
2.4.1 Colorantes sustantivos	9
2.4.2 Colorantes mordientes	9
2.4.3 Colorantes a la tina	9
2.4.4 Colorantes directos	9
2.5 Tipos de extracción de colorantes naturales	10
2.6 Identificación de colorantes	11
2.7 Cromatografía	12
2.7.1 Principios de la cromatografía	12
2.7.2 Clasificación de la cromatografía	13

2.7.2.1 Cromatografía de reparto	13
2.7.2.2 Cromatografía de adsorción	13
2.7.2.3 Cromatografía de exclusión	14
2.7.2.4 Cromatografía de capa fina	14
2.7.2.4.1 Historia	14
2.7.2.4.2 Proceso de adsorción	14
2.7.2.4.3 Adsorbentes	15
2.7.2.4.4 Preparación de la placa cromatográfica	15
2.7.2.4.5 Aplicación de la muestra	15
2.7.2.4.6 Desarrollo de la placa	16
2.7.2.4.7 Cámaras para desarrollo	16
2.7.2.4.8 Evaluación de un cromatograma de capa fina	16
2.8 Índice de refracción	17
2.9 Descripción de la especie forestal Aliso (<i>Alnus arguta</i> (Schltdl.) Spach)	18
2.9.1 Taxonomía	18
2.9.1.1 Nombre científico	18
2.9.1.2 Sinonimia	18
2.9.1.3 Nombre (s) común (es)	18
2.9.1.4 Origen	18
2.9.1.5 Forma biológica	19
2.9.1.5.1 Forma	19
2.9.1.5.2 Copa/hojas	19
2.9.1.5.3 Tronco /ramas	20
2.9.1.5.4 Corteza	20
2.9.1.5.5 Flor	21
2.9.1.5.6 Fruto	21
2.9.1.6 Fenología	21
2.9.1.6.1 Follaje	21
2.9.1.6.2 Floración	21

2.9.1.6.3 Fructificación	21
2.9.2 Distribución	22
2.9.3 Usos	22
2.10 Secado de plantas	23
2.10.1 Almacenamiento de plantas secas	24
2.11 Lixiviación	25
2.11.1 Procesos de lixiviación	25
2.11.2 Preparación de los sólidos para la lixiviación	26
2.11.3 Temperatura de lixiviación	27
2.11.4 Métodos de operación	27
2.11.4.1 Operación en estado no estacionario	28
2.11.4.2 Operación en estado estacionario (continuo)	28
2.11.4.2.1 Tanques con agitación	28
3. METODOLOGÍA	
3.1 Localización	29
3.2 Recursos humanos	29
3.3 Obtención de las muestras	29
3.4 Diseño de tratamientos	30
3.5 Metodología experimental	30
3.5.1 Materiales y equipo a utilizar en la experimentación	30
3.5.1.1 Materia prima	30
3.5.1.2 Cristalería	31
3.5.1.3 Equipo	31
3.5.1.4 Otros	32
3.5.1.5 Reactivos	33
3.5.2 Método de extracción del tinte natural a nivel laboratorio	33
3.5.3 Métodos para la caracterización de los tintes naturales, determinación de las propiedades fisicoquímicas de los extractos colorantes	34
3.5.3.1 Determinación de densidad	34

3.5.3.2 Determinación del índice de refracción	34
3.5.4 Identificación de flavonoides	35
3.5.4.1 Reacciones coloridas:	35
3.5.5 Análisis cromatográfico en capa fina	35
3.5.5.1 Preparación de la muestra	35
3.5.5.2 Preparación de las soluciones estándar	36
3.5.5.3 Preparación de la fase móvil	36
3.5.5.4 Preparación de la placa cromatográfica	36
3.5.5.5 Desarrollo de la placa cromatográfica	37
3.5.5.6 Preparación de las soluciones reveladoras	37
4. RESULTADOS	38
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	45
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	49
CONCLUSIONES	61
RECOMENDACIONES	62
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS	63
BIBLIOGRAFÍA	64
APÉNDICES	65

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Estructura básica de un flavonoide	8
2.	Aliso (<i>Alnus arguta</i> (Schltdl.) Spach)	19
3.	Hoja y fruto de Aliso (<i>Alnus arguta</i> (Schltdl.) Spach)	19
4.	Tronco de Aliso (<i>Alnus arguta</i> (Schltdl.) Spach)	20
5.	Corteza de Aliso (<i>Alnus arguta</i> (Schltdl.) Spach)	20
6.	Distribución Potencial de <i>Alnus arguta</i> (Schltdl.) Spach	22
7.	Plancha de calentamiento	31
8.	Bomba de vacío	31
9.	Balanza	32
10.	Rotavapor	32
11.	Gráfico del porcentaje de rendimiento de los extractos tintóreos del Aliso (<i>Alnus arguta</i> (Schltdl.) Spach) para la primera etapa de extracción sucesiva	39
12.	Gráfico del porcentaje de rendimiento de los extractos tintóreos del Aliso (<i>Alnus arguta</i> (Schltdl.) Spach) para la segunda etapa de extracción sucesiva	39
13.	Gráfico del porcentaje de rendimiento de los extractos tintóreos del Aliso (<i>Alnus arguta</i> (Schltdl.) Spach) para la tercera etapa de extracción sucesiva	40
14.	Gráfica de comparación del porcentaje de rendimiento acumulado a tres etapas de extracción sucesivas en función de la solución extractora utilizada con el porcentaje de rendimiento a agotamiento en un equipo de extracción Soxhlet	40
15.	Gráfica para el modelo matemático polinomial	

	de la forma $\%R = a(\%Et)^3 + b(\%Et)^2 + c(\%Et) + d$ para cada una de las etapas de extracción sucesivas realizadas, y el rendimiento acumulado a tres etapas de extracción	41
16.	Gráfico de densidades promedios al final del período de extracción de los extractos tintóreos del Aliso (<i>Alnus arguta</i> (Schltdl.) Spach) en función de cada solución extractora utilizada y el número de extracciones sucesivas a 20°C	43
17.	Gráfico del índice de refracción promedio al final del período de extracción de los extractos tintóreos del Aliso (<i>Alnus arguta</i> (Schltdl.) Spach) en función de cada solución extractora utilizada y el número de extracciones sucesivas a 20°C	43
18.	Corteza molida de <i>Alnus arguta</i> ((Schltdl.) Spach)	71
19.	Sistema de maceración dinámica con reflujo	71
20.	Filtración de los extractos tintóreos	72
21.	Extracto tintóreo líquido de <i>Alnus arguta</i> ((Schltdl.) Spach)	72
22.	Rotaevaporación de los extractos tintóreos	72
23.	Extracto tintóreo de <i>Alnus arguta</i> ((Schltdl.) Spach) rotaevaporado para tamizaje fitoquímico.	73
24.	Secado de los extractos tintóreos	73
25.	Extracto tintóreo en polvo de <i>Alnus arguta</i> ((Schltdl.) Spach)	73
26.	Rendimientos obtenidos para los distintos Tamices y Solventes	74
27.	Análisis Fitoquímico, de izquierda a derecha: solución estándar, Prueba de Shinola, Prueba con Cloruro Ferrico, Prueba de Ácido Sulfúrico	74
28.	Desarrollo de la placa cromatográfica	74
29.	Cromatografía en capa fina para la determinación de flavonoides	75
30.	Determinación de la densidad del extracto tintóreo	75
31.	Determinación del índice de refracción del extracto tintóreo	75
32.	Diagrama requerimientos académicos para la elaboración de	

	trabajos de graduación de Ingeniería Químicas de extracción de Colorantes Naturales	76
33.	Diagrama Ishikawa para el proceso de extracción de colorante del Aliso, mediante lixiviación	77

TABLAS

I	Longitud de onda correspondiente a cada color	3
II	Clasificación de los colorantes naturales, según su composición química	7
III	Secado de las diferentes partes de una planta	23
IV	Rendimiento promedio de extractos tintóreos del Aliso (<i>Alnus arguta (Schltdl.) Spach</i>), porcentaje de rendimiento acumulado a tres etapas de extracción sucesiva, para un sistema de maceración dinámica a reflujo con relación corteza molida/solución extractora de 1/10, con un tamaño de partícula de 248- 297 μm , con periodo de extracción de 2 horas a temperatura de ebullición de la solución extractora y Porcentaje de rendimiento a agotamiento utilizando equipo de extracción Soxhlet para una muestra de corteza seca de 10 g y utilizando etanol al 95% como solución extractora.	38
V	Coeficientes de correlación para el modelo matemático de la forma $\%R=a(\%Et)^3+b(\%Et)^2+c(\%Et)+d$ para cada una de las etapas de extracción sucesivas realizadas, y el rendimiento acumulado a tres etapas de extracción	41
VI	Propiedades fisicoquímicas promedios de los extractos tintóreos del Aliso (<i>Alnus arguta (Schltdl.) Spach</i>) a 20°C, para un sistema de maceración dinámica a reflujo con relación corteza molida/solución extractora de 1/10, con un	

	tamaño de partícula de 248- 297 μm , con periodo de extracción de 2 horas a temperatura de ebullición de la solución extractora	42
VII	Reacción coloridas de Acido Sulfúrico y Shinoda para la identificación de Flavonoides en el extracto tintóreo del Aliso (<i>Alnus arguta (Schltdl.) Spach</i>)	44
VIII	Análisis cromatográfico en capa fina para la determinación de la presencia de Quercitina, Rutina, Ácido Clorogénico e Hiperósido en los extractos tintóreos del Aliso (<i>Alnus arguta (Schltdl.) Spach</i>)	44
IX	Organización de datos de ANOVA	49
X	ANOVA	50
XI	Organización de datos ANOVA de densidad de los extractos tintóreos para la primera etapa de extracción sucesiva	51
XII	ANOVA de densidad de los extractos tintóreos para la primera etapa de extracción sucesiva	52
XIII	Organización de datos ANOVA de densidad de los extractos tintóreos para la segunda etapa de extracción sucesiva	52
XIV	ANOVA de densidad de los extractos tintóreos para la segunda etapa de extracción sucesiva	53
XV	Organización de datos ANOVA de densidad de los extractos tintóreos para la tercera etapa de extracción sucesiva	53
XVI	ANOVA de densidad de los extractos tintóreos para la tercera etapa de extracción sucesiva	54
XVII	Organización de datos ANOVA del índice de refracción de los extractos tintóreos para la primera etapa de extracción sucesiva	54

XIII	ANOVA del índice de refracción de los extractos tintóreos para la primera etapa de extracción sucesiva	55
XIX	Organización de datos ANOVA del índice de refracción de los extractos tintóreos para la segunda etapa de extracción sucesiva	55
XX	ANOVA del índice de refracción de los extractos tintóreos para la segunda etapa de extracción sucesiva	56
XXI	Organización de datos ANOVA del índice de refracción de los extractos tintóreos para la tercera etapa de extracción sucesiva	56
XXII	ANOVA del índice de refracción de los extractos tintóreos para la tercera etapa de extracción sucesiva	57
XXIII	Organización de datos ANOVA del rendimiento de los extractos tintóreos para la primera etapa de extracción sucesiva	57
XXIV	ANOVA del rendimiento de los extractos tintóreos para la primera etapa de extracción sucesiva	58
XXV	Organización de datos ANOVA del rendimiento de los extractos tintóreos para la segunda etapa de extracción sucesiva	58
XXVI	ANOVA del rendimiento de los extractos tintóreos para la segunda etapa de extracción sucesiva	59
XXVII	Organización de datos ANOVA del rendimiento de los extractos tintóreos para la tercera etapa de extracción sucesiva	59
XXVIII	ANOVA del rendimiento de los extractos tintóreos para la tercera etapa de extracción sucesiva	60
XXIX	Porcentaje de rendimiento del extracto tintóreo del Aliso (<i>Alnus arguta (Schltdl.) Spach</i>)	65

XXX	Porcentaje de rendimiento a agotamiento del extracto tintóreo del Aliso (<i>Alnus arguta (Schltdl.) Spach</i>) Utilizando equipo de extracción Soxhlet	66
XXXI	Densidad de los extractos tintóreos del Aliso (<i>Alnus arguta (Schltdl.) Spach</i>) a 20 °C.	66
XXXII	Índice de refracción de los extractos tintóreos del Aliso (<i>Alnus arguta (Schltdl.) Spach</i>).	67
XXXIII	Análisis granumétrico de la corteza molida del Aliso (<i>Alnus arguta (Schltdl.) Spach</i>)	67

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Descripción
°C	Grados Celsius
CF	Cromatografía en capa fina
Et 35%	Etanol al 35 % en peso
Et 70%	Etanol al 70% en peso
g	Gramos
Ho	Hipótesis nula
Hi	Hipótesis alternativa
inHg	Pulgadas de Mercurio
mL	Mililitros
msnm	Metros sobre el nivel del mar
nm	Nanometro
rpm	Revoluciones por minuto
σ	Desviación estándar
ξ	Constante dieléctrica
%R	Porcentaje de rendimiento
SST	Suma total de cuadrados
SSA	Suma de cuadrados en tratamiento
SSE	Suma de cuadrados del error
s^2_1	Cuadrado medio del tratamiento
s^2	Cuadrado medio del error
v	Volumen
w	Masa

GLOSARIO

Auxocromos	Son los responsables de la fijación al sustrato a teñir, son capaces de fijar la molécula del colorante y en algunos casos intensificar la labor de los cromóforos.
Colorantes naturales	Aquellas sustancias naturales que añaden o devuelven algún color, y se encuentran presentes como pigmentos en plantas, hojas y frutos.
Cromatografía	Es una técnica de separación basada en la diferente velocidad con que se mueven los solutos a través de un medio estacionario.
Cromatofolio	Placa cromatográfica hecha a base de sílica gel, utilizada en la cromatografía en capa fina.
Cromórfos	Son todos aquellos compuestos que tienen electrones resonando a determinada frecuencia y por eso absorben luz al unirse refuerzan la absorción de radiación.

Extracción	Procedimiento por el cual se obtienen los principios químicos de una planta, al colocarla en contacto con un solvente apropiado.
Extracto seco	Producto de la extracción de los principios químicos de una planta, libres de solvente.
Flavonoides	Son metabolitos secundarios que se ubican dentro del grupo de compuestos aromáticos y fenólicos, su estructura química se basa en el anillo flavano sustituido.
Lixiviación	La lixiviación es un proceso en el cual se extrae uno o varios solutos de un sólido, mediante la utilización de un disolvente líquido.
Maceración	Operación que consiste en sumergir un sólido vegetal en un líquido para extraer de él sus partes solubles.
Secado	Operación unitaria que consiste en la eliminación de agua interior de ciertos productos mediante un gradiente de temperatura entre el interior del producto con el medio de calefacción.

Sinergia

Integración de elementos que da como resultado algo más grande que la simple suma de éstos, es decir, cuando dos o más elementos se unen sinérgicamente crean un resultado que aprovecha y maximiza las cualidades de cada uno de los elementos.

Tamiz

Cedazo de malla tupida, usado para separar las partes menudas de las gruesas de una masa pulverulenta.

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.

RESUMEN

El presente trabajo de graduación tiene como objetivo general evaluar el rendimiento extractivo a tres etapas de extracción sucesivas y caracterizar el extracto tintóreo de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) proveniente de un bosque comunal del municipio de Momostenango, Totonicapán. Para llevar a cabo este objetivo se recolectó y se secó la corteza del aliso en un secador de bandejas para luego ser molida utilizando un molino de martillos, luego se tamizó la corteza finamente molida y luego se procedió a su extracción mediante el método de maceración dinámica con reflujo.

Se realizó la extracción y caracterización de los extractos tintóreos de la especie forestal guatemalteca Aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*), para ello se utilizaron 2 solventes y 5 soluciones extractoras (agua, etanol al 35%, etanol al 50%, etanol al 70% y 3 etapas de extracciones sucesivas, con 3 repeticiones para cada una, resultando 36 extracciones en total.

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, 95°C para el agua, 82°C para el etanol al 35%, 80°C para el etanol al 50%, 78°C para el etanol al 70%, a presión atmosférica (640 mmHg).

Los extractos fueron concentrados al vacío a 12 inHg y a temperaturas menores de 45°C. Luego de obtenerlos, se colocaron en refrigeración y protegidos de la luz directa hasta el momento de su análisis. Los análisis que se realizaron fueron: pruebas

colorimétricas (reacción de Shinoda y reacción con ácido sulfúrico concentrado), prueba cromatográfica (cromatografía en capa fina).

El mayor rendimiento se obtuvo al utilizar la solución etanólica al 35%, teniendo un rendimiento promedio del 22.82% para la primera extracción sucesiva, 9.87% para la segunda extracción sucesiva y 4.32% para la tercera extracción sucesiva.

Como parte complementaria se realizó una extracción Soxhlet a la corteza del Aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) con el objetivo de determinar el porcentaje máximo de rendimiento del extracto tintóreo que se puede obtener y compararlo con el rendimiento total a 3 etapas de extracción sucesivas, para esto se utilizaron 10 g de materia prima utilizando como solución extractora etanol al 95%, llevando la materia prima hasta agotamiento obteniendo así el rendimiento máximo posible, se obtuvo un rendimiento del 40.02%.

De igual manera se logró determinar cromatográficamente que el tipo de pigmento colorante encontrado fue del tipo flavonoide, específicamente la quercitina, la presencia de flavonoides, no se ve afectada por el tipo de solvente ni el numero de extracciones sucesivas, ya que todos lo extractos presentaron los mismos resultados.

HIPÓTESIS

Es factible extraer y caracterizar el extracto tintóreo obtenido de la corteza de aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) para propósitos de obtención de colorantes naturales.

HIPÓTESIS ESTADÍSTICA

Hipótesis nula

No existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en función de cada extracciones sucesiva y según la solución extractora utilizada.

$$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en función de cada extracciones sucesiva y según la solución extractora utilizada.

$$\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$$

Hipótesis nula

No existe diferencia significativa en el rendimiento del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en función de cada extracciones sucesiva y según la solución extractora utilizada.

$$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa en el rendimiento del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en función de cada extracciones sucesiva y según la solución extractora utilizada.

$$\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$$

OBJETIVOS

GENERAL

Evaluación del rendimiento extractivo a tres etapas de extracción sucesivas y caracterización del extracto tintóreo de la corteza del Aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*).

ESPECÍFICOS

1. Evaluar el rendimiento del extracto tintóreo de la corteza de aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en función de las tres etapas de extracciones sucesivas que se realicen.
2. Caracterizar, fisicoquímicamente, el extracto tintóreo obtenido de la corteza de aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*).
3. Caracterizar, por medio de un tamizaje fitoquímico y cromatografía en capa fina, el extracto tintóreo obtenido de la corteza de aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*).
4. Evaluar la existencia de diferencia significativa mediante el tratamiento estadístico para la evaluación de rendimientos y propiedades fisicoquímicas del extracto tintóreo obtenido de la corteza de aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) mediante un análisis de varianza

INTRODUCCIÓN

Los colores son utilizados de diferentes maneras por los seres vivos. Por ejemplo, con la absorción de la luz solar, a través de la fotosíntesis, se produce alimento a partir de aire, agua y nutrientes del suelo. Las flores atraen al insecto polinizador; y estos los usan para camuflajearse y pasar inadvertidos.

Por más lejos que nos remontemos en la historia, se sabe que la especie humana ha tenido un inmenso aprecio por la belleza; a partir de lo anterior fue que surgió la idea de extraer de la naturaleza sus colores brillantes y bellos, con la finalidad de plasmarlos en ciertos lugares y objetos creados por el hombre. Dichos colorantes eran extraídos principalmente de las plantas. Los compuestos colorantes que se encuentran en la planta se localizan prácticamente en todas sus partes. Los colorantes naturales se usaron en su mayoría para teñir telas, fibras, hilos y en la elaboración de vasijas o utensilios y de esa manera expresar sus creencias y sentimientos. Actualmente, también se usan en la industria de alimentos y en la farmacéutica.

Según estudios realizados los flavonoides poseen una gran importancia en la utilización de las plantas como colorantes naturales. Los flavonoides en forma natural se encuentran en forma libre como glicósidos o derivados metilados en las células vivas de las plantas.

El objetivo general del presente estudio es extraer, a nivel laboratorio, los pigmentos colorantes del tipo flavonoides contenidos en la corteza del Aliso (*Alnus arguta*, (Schltdl.) Spach) provenientes de los bosques de Momostenango, Totonicapán, con la finalidad de su uso en la industria textil en el teñido de fibras. Actualmente en las comunidades del altiplano guatemalteco y en especial en Momostenango se utiliza la

corteza del Aliso (*Alnus arguta*, (Schltdl.) Spach) para obtener un extracto tintóreo acuoso utilizado para el teñido de fibras que se usan en la confección de diversidad de prendas de vestir, ropa de cama, artesanías, etc. Los mencionados extractos tintóreos acuosos son obtenidos de una manera empírica por lo que tienen una vida media muy baja; 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.

A lo largo de este trabajo de graduación se encontrarán diferentes secciones en donde se dará respuesta a varias interrogantes que habían surgido antes de realizar la parte experimental, tales como: ¿Qué solvente ofrece un mayor rendimiento en cuanto a la obtención de extractos colorantes del Aliso?, ¿Qué solvente ofrece extractos con el mayor número de pigmentos colorantes del tipo flavonoides contenidos en el Aliso, mediante la cromatografía en capa fina?, etc.

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, Domínguez M, de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, realizó la investigación de tesis titulada “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.

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 de tesis denominada “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 2 métodos de extracción, con el fin de determinar el método donde se obtiene el mejor rendimiento.

En el año 2001, el Ing. 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 EXPORTACION DE LA PRODUCCION 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.

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 de trabajo de graduación denominado “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.

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 de tesis “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.

Roberto Calderón, asesorado por la Inga. Telma Cano, en Julio de 2007, en el Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería de USAC, realizó el estudio de tesis “Extracción y caracterización fisicoquímica del extracto colorante de la corteza de aliso común (*Alnus jorullensis humboldt, bonpland & kunth*), proveniente de la organización no gubernamental FUNCEDESCRI, en San Lucas Sacatepéquez, Guatemala”. Los solventes utilizados fueron: agua y etanol y utilizo tres tamaños de partículas diferentes.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Color

El color de una sustancia depende de la capacidad de la misma de absorber o reflejar las radiaciones lumínicas correspondientes al espectro visible. Se llama espectro visible a la zona del espectro electromagnético a la que es sensible el ojo humano. Las longitudes de onda de las radiaciones correspondientes a este espectro van desde los 4.000 a los 7.500 Å. (Wall, 2003)

Un compuesto que absorba luz en todas las longitudes de onda excepto la del azul (4.900 – 5.100 Å) reflejará la luz azul y podrá ser percibido de ese color. Al contrario, si absorbiese sólo la luz en la longitud de onda del azul y reflejase todo el resto, aparecerá del color complementario a la luz absorbida, percibiéndose ahora de color naranja.

La siguiente tabla muestra la longitud de onda correspondiente a cada color y lista los colores complementarios correspondientes. Las longitudes de onda menores a 4.000 Å pertenecen a la región espectral del ultra-violeta, mientras que las que superan los 7.500 Å corresponden a la región del infrarrojo.

Tabla I. Longitud de onda correspondiente a cada color

Longitud de Onda [Unidades Amstrong]	Color absorbido	Color Complementario
4,000 – 4.200	Violeta	Amarillo – Verdoso
4,200 – 4,450	Índigo	Amarillo
4.450 – 4,900	Azul	Naranja
4,900 – 5,100	Azul – Verdoso	Rojo
5,100 – 5,300	Verde	Púrpura

5,300 – 5,450	Amarillo – Verdoso	Violeta
5,450 – 5,800	Amarillo	Índigo
5,800 – 6,300	Naranja	Azul
6,300 – 7,200	Rojo	Azul – Verdoso
7,200 – 7,500	Púrpura	Verde

Fuente: Wall, 2003

2.2 Colorantes

Un colorante se define como “Cualquiera de los productos químicos pertenecientes a un extenso grupo de sustancias, las cuales son capaces de teñir las fibras vegetales y animales.”. Para que un colorante sea útil, debe ser capaz de unirse fuertemente a la fibra, y por lavado no debe perder su color. Debe ser relativamente estable químicamente y soportar bien la acción de la luz. (Lock, 1997)

2.2.1 Colorantes naturales

Los colorantes naturales son aquellas sustancias obtenidas a partir de algunas partes específicas de alguna planta empleando un método de extracción física ó química que ocasiona una selección de los pigmentos que se usan como componentes nutritivos o aromáticos. (Lock, 1997)

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

Los colorantes naturales 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.

2.2.2 Sinopsis histórica

Hasta mediados del siglo XIX, las plantas, animales y minerales fueron las únicas fuentes como agentes colorantes para teñir o pigmentar. Las primeras fibras teñidas fueron usadas en tiempos prehistóricos alrededor del año 1000 a.C. Estos teñidos simples fueron los primeros ejemplos de la aplicación de los llamados colorantes directos o colorantes sustantivos, los que resultaron de muy pobre solidez, pobre resistencia al lavado y a la luz.

De la planta Índigo se obtiene un colorante azul denominado añil, que ha sido utilizado en la India por cerca de 4000 años. Los comerciantes fenicios y los migrantes, introdujeron estos colorantes en el Mediterráneo; otro colorante azul, glasto, ha estado en uso desde la Edad de bronce (2500-800 A.C). El índigo tenía que ser fermentada y tratada con orina, luego la fibra era introducida para conseguir un color azul insoluble. Muchos tonos de rojo pudieron obtenerse con la raíz de rubia.

Las plantas así como los antiguos procedimientos de teñido han sido registrados por dos historiadores del primer siglo después de Cristo. El naturalista romano Plinio El Viejo se refiere en sus escritos tanto al índigo como al glasto, dos colorantes comunes usados por las tribus Gálicas. El griego Dioscórides describe los colorantes de la “rubia” para el rojo, del azafrán, y gualda para amarillos, glasto para azul, entre otros. Durante la Edad Media, alrededor de 1250 d.C., los procedimientos de tintura fueron registrados por los monjes medioevales. En aquellos tiempos, a menudo, las mismas plantas eran usadas para teñir y para fines medicinales. Y así fueron desarrollándose gremios que perfeccionaron los procesos de teñido, conservándose estos guardados como secretos.

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 cochinilla, 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 pírico, 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 significativa en la preparación y procesamiento de los mismos.

2.3 Las plantas como colorantes

Los colorantes naturales pueden ser clasificados según su naturaleza química en diversos grupos. Como fuentes naturales de estos colorantes se pueden considerar las plantas superiores, las algas, hongos y líquenes, algunos insectos, así como algunos organismos marinos vertebrados. (Lock, 1997)

Son muchas las plantas superiores que producen colorantes; a pesar de su universalidad no están suficientemente concentrados para permitir una rápida y económica extracción, y en consecuencia son escasas las que tienen gran importancia comercial como fuente de colorantes.

La siguiente tabla muestra una clasificación de colorantes naturales propuesta por Lock en 1997.

Tabla II. Clasificación de los colorantes naturales, según su composición química

NATURALEZA QUÍMICA	EJEMPLOS	COLOR PREDOMINANTE
Tetrapirroloe	Ficobilinas	Azul-verde
	Clorofila	Verde
Carotenoides	Carotenoides	Amarillo-Anaranjado
Flavonoides	Flavonas	Blanco-Crema
	Flavonales	Amarillo-Blanco
	Charconas	Amarillo
	Auronas	Amarillo
	Antocianinas	Rojo-Azul
Xantonas	Xantonas	Amarillo
Quinonas	Naftoquinonas	Rojo-Azul-Verde
Derivados indigoides e índoles	Índigo	Azul-Rosado
	Betalaínas	Amarillo-Rojo
Pirimidinas sustituidas	Perinas	Blanco-Amarillo
	Flavinas	Amarillo
	Fenoxanizinas	Amarillo-Rojo
	Fenazinas	Amarillo-Púrpura

Fuente: Lock, 1997

2.3.1 Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos vegetales que poseen un esqueleto carbonado $C_6-C_3-C_6$ como se encuentra en la flavonona, aurona, charcona, flavona, flavanonol, flavonol, flavandirol-3,4, antocianidina, catequina, isoflavona y neoflavona.

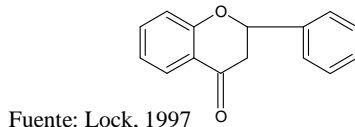
Se conocen unos 200 flavonoides naturales. Se encuentran distribuidos entre las plantas, tanto libres como glicósidos; estos últimos contribuyen a darle color a las flores, frutos y hojas. Los flavonoides presentan todos los matices de solubilidad, desde totalmente solubles en agua hasta insolubles en ella pero solubles en éter etílico (las agliconas muy eterificadas), pasando por los solubles en etanol (agliconas). Por regla general los flavonoides son insolubles en éter de petróleo, lo que permite desengrasar un material antes de extraerlos.

Según estudios realizados los flavonoides representan una gran importancia para la utilización de las plantas como colorantes naturales. Los flavonoides en forma natural se encuentran libres como glicósidos o derivados metilados en las células vivas de las plantas. Como glicósidos, uno o más grupos hidroxilos fenólicos están combinados con residuos de mono o disacáridos.

La principal función de los flavonoides es que desempeñan un papel importante en las relaciones ecológicas entre las plantas y con otros organismos insectos benéficos, depredadores y de otros animales.

Los flavonoides son metabolitos secundarios que se ubican dentro del grupo de compuestos aromáticos y fenólicos, su estructura química se basa en el anillo flavano sustituido. Poseen dos anillos bencénicos (A y B) que están juntos por una unidad de tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C.

Figura 1. Estructura básica de un flavonoide



Los flavonoides son producidos por una síntesis mixta, ya que el anillo B se forma por la ruta del ácido shiquímico, en tanto que el anillo A se sintetiza por la unión cabeza-cola de tres moléculas de acetato. Así A y B se unen en una relación de condensación. Investigaciones suponen que todos los anillos aromáticos que tienen grupo hidroxilo en posición orto, tienen como precursor al ácido shiquímico, mientras que los anillos aromáticos con grupos hidroxilo en posición meta, vienen del acetato.

2.4 Características fisicoquímicas de los colorantes

2.4.1 Colorantes sustantivos

Son colorantes que pueden teñir directamente las fibras de algodón.

2.4.2 Colorantes mordientes

El mordiente es un producto que se adiciona a la fibra y es absorbido por ella, pudiendo consecutivamente atraer el colorante. Este término, se usa principalmente para los colorantes que se adicionan usando óxidos metálicos como mordiente. Especialmente se emplean como mordientes los óxidos de aluminio y cromo por formar precipitados insolubles.

2.4.3 Colorantes a la tina

Son sustancias insolubles que se pueden reducir a materiales alquil-solubles. El colorante se aplica en su forma reducida y se re-oxida en presencia de la fibra.

2.4.4 Colorantes directos

Se absorbe directamente por las fibras en soluciones acuosas. Hay colorantes ácidos y básicos de este tipo. Estos dos tipos de colorantes se emplean especialmente en el teñido de lanas y en poliamidas sintéticas.

- a. Los colorantes básicos son sales amónicas o complejos formados por cloruro de cinc o aminas. Algunos colorantes básicos, de elevado peso molecular, son absorbidos por el algodón y el rayón.
- b. Los colorantes ácidos son sales de los ácidos sulfúricos o carboxílicos que se precipitan sobre la fibra.

La familia de los colorantes ácidos se llama así, porque en la constitución química del colorante se encuentran moléculas de grupos ácido. Son colorantes 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.

2.5 Tipos de extracción de colorantes naturales

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.

Para la utilización de las plantas la población usa técnicas sencillas, dependiendo del nivel técnico del curandero, los medios disponibles y la tradición. Sin embargo, para la investigación fitoquímica y farmacológica es necesario realizar extracciones que sean reproducibles, cuantitativas, estables y eficientes por el efecto que se desea demostrar.

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 disolventes con diferentes polaridades, generalmente diclorometano o hexano, éter o etanol y agua.

La extracción para eludación estructural consiste en una maceración o extracción Soxhlet usando inicialmente un disolvente de amplio espectro (metanol o etanol) y luego un 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. (Domínguez, 1987)

2.6 Identificación de colorantes

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.
- 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.
- 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.

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.

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 amoníaco, 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

2.7 Cromatografía

2.7.1 Principios de la cromatografía

Es una técnica de separación basada en la diferente velocidad con que se mueven los solutos a través de un medio estacionario mediante el flujo en un disolvente llamado eluyente. F. Runge químico alemán, describió el proceso de separación que actualmente se conoce como cromatografía en papel.

Al ruso Mijail Tswett corresponde el haber establecido las ventajas de la cromatografía y la adopción parcial de la terminología, también fue quien sentó las bases de los principales procedimientos experimentales relativos a esta técnica. A pesar de que

el método cromatográfico prometía simplificar la separación de sustancias de mezclas complejas, no fue sino hasta finales de la década de los 30 y principios de los 40 cuando se empezó a desarrollar la técnica, teniendo este método diversas aplicaciones. Las únicas sustancias que no pueden ser examinadas por cromatografía son las insolubles y aquellas que se descomponen con el solvente o con la fase estacionaria.

2.7.2 Clasificación de la cromatografía

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

2.7.2.1 Cromatografía de reparto

La separación de una mezcla de solutos es función de la distribución de las moléculas de estos entre una fase estacionaria líquida, soportada sobre un sólido, y la fase móvil o eluyente del sistema. La fase móvil puede ser un líquido o un gas según sea el caso de la cromatografía; en caso de que la cromatografía sea líquida-líquida la fase móvil será un líquido, o de un gas en cuyo caso es cromatografía gas-líquido.

2.7.2.2 Cromatografía de adsorción

La adsorción se manifiesta por un aumento de la concentración del soluto en la interfase que rodea el medio estacionario. La separación está basada en las diferencias en el comportamiento, adsorción, desorción de sustancias contenidas en las fases móvil sobre un sólido estacionario y pueden ser sistemas líquido-sólido y gas-sólido.

En cualquier fenómeno de adsorción influyen tres variables: adsorbente, eluyente y solutos. El término adsorción en términos cromatográficos se refiere a interacciones débiles.

2.7.2.3 Cromatografía de exclusión

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

2.7.2.4 Cromatografía de capa fina

2.7.2.4.1 Historia

El botánico ruso Mikhail Tswett estableció las ventajas de la cromatografía y fue el primero en utilizar este término. Es recordado como el Padre de la cromatografía.

Ismailov y Scraiber utilizaron láminas de vidrio para colocar capas muy delgadas de alúmina y luego aplicaron extractos vegetales, se produjo así la primera forma de Cromatografía de Capa Fina. Sin embargo, fue Egon Stahl (1956), quien le dio el nombre de Cromatografía de Capa Fina. Estandarizó los procedimientos, equipos y adsorbentes y dio un auge a la técnica simple, a bajo costo y eficiente.

2.7.2.4.2 Proceso de adsorción

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

2.7.2.4.3 Adsorbentes

Los adsorbentes más utilizados en la cromatografía de capa fina son:

- Sílica gel (se utiliza en el 80% de las separaciones)
- Óxido de Aluminio o Alúmina (ácida, neutra o básica)
- Tierra Silíceo o Kieselguhr
- Celulosa (Nativa o micro-cristalina)

Estos adsorbentes deben tener las siguientes características:

- Tamaño de Partícula
- Volumen de Poro
- Diámetro de Poro
- Área Superficial
- Homogeneidad
- Pureza

2.7.2.4.4 Preparación de la placa cromatográfica

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

Hay placas que contienen un indicador de Fluorescencia: F254 o F366. El número que aparece como subíndice nos indica la longitud de onda de excitación del indicador utilizado.

2.7.2.4.5 Aplicación de la muestra

La muestra se aplica en la placa según el objetivo:

- Banda
- Punto o mancha

2.7.2.4.6 Desarrollo de la placa

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

2.7.2.4.7 Cámaras para desarrollo

Existen varios tipos de cámaras:

- Normal
- Doble compartimiento
- Sandwich
- Horizontal
- Vario KS
- U
- Detección o visualización

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

Estos métodos son:

- Químicos (por inmersión). Se obtienen derivados coloreados o fluorescentes
- Físicos (ópticos). Generalmente se utiliza radiación UV

2.7.2.4.8 Evaluación de un cromatograma de capa fina

La evaluación puede ser realizada por los siguientes métodos:

- Análisis cualitativo
- Medida de R_f
- Comparación visual de color/intensidad
- Propiedades UV/IR/MS/NMR

- Análisis semi-cuantitativo
- Comparación visual del diámetro y la intensidad del color de la mancha contra una serie de manchas patrones de concentración conocida.

- Análisis cuantitativo
- Indirecta
- Directa
- Densitometría
- Medida de transmisión. Medida de luz transmitida a través de la sustancia.
- Medida de emisión. Medida de luz reflejada desde la sustancia.
- Espectrofotometría
- Fluorescencia
- Fluorescencia con *quenching*.

2.8 Índice de refracción

El índice de refracción, de una sustancia o un medio transparente, 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.

Este número, mayor que la unidad y sin unidades, es una constante característica de cada medio y representa el número de veces que es mayor la velocidad de la luz en el vacío que en ese medio.

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.

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.

2.9 Descripción de la especie forestal Aliso

2.9.1 Taxonomía

2.9.1.1 Nombre científico

Alnus arguta (Schltdl.) Spach

2.9.1.2 Sinonimia

Betula arguta (Schltdl.) Spach, *Alnus acuminata* H.B.K., *Alnus pringlei* Fern., *Alnus arguta* var. *cuprea* Bartlett, *Alnus arguta* (Schltdl.) Spach var. *subserica* Bartlett.

2.9.1.3 Nombre(s) común(es)

Aliso (Solola, Totonicapán, Quetzaltenango, Huehuetenango, San Marcos), Ilamo (Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango), Aile (Jalisco, Morelos, Oaxaca; del Nahuatl, ailitl); abedul (Veracruz, Oaxaca); olmo del país (Veracruz, Hidalgo), palo de águila (Oaxaca), yaga-bizie (Oaxaca, Zapotec, *Reko*); labrán (Perú), cerezo (Colombia), y Jaúl (Costa Rica), ilite en algunas regiones de México.

2.9.1.4 Origen

Nativo de México, aunque numerosas especies de *Alnus* se localizan en Norte América, Centro América y en algunas regiones de Sudamérica (Argentina). Los que se localizan en México han sido frecuentemente determinados como *A. acuminata* 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. (OFI/CATIE)

2.9.1.5 Forma biológica

2.9.1.5.1 Forma

Árbol o arbusto perennifolio / caducifolio, de 10 a 25 m (hasta 30 m) de altura, con un diámetro a la altura del pecho de 35 a 40 cm (hasta 1 m). Algunos individuos llegan a superar los 42 m de altura en plantaciones

Figura 2. Aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach)



Fuente: OFIE/CATIE, árboles de Centro América

2.9.1.5.2 Copa/Hojas

Copa estrecha (angosta) y piramidal (en plantaciones), en bosquetes sucesionales toma formas irregulares. Hojas con la lámina ovada, de 6 a 15 cm de largo y 3 a 8 cm de ancho, margen agudamente biserrado; el haz y el envés glabros en la madurez.

Figura 3. Hojas y Fruto del Aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach)



Fuente: OFIE/CATIE, árboles de Centro América

2.9.1.5.3 Tronco / Ramas

Tronco cilíndrico aligeramente ovalado. Generalmente con varios troncos. En campo abierto desarrolla ramas gruesas desde la base mientras que en bosque denso alcanza una mayor proporción de tronco libre de ramas y nudos por una poda natural.

Figura 4. Tronco del Aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach)



Fuente: OFIE/CATIE, árboles de Centro América

2.9.1.5.4 Corteza

Corteza lisa o ligeramente rugosa, escamosa en individuos viejos, con frecuencia marcada con arrugas transversales o constricciones circundantes.

Figura 5. Corteza de Aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach)



Fuente: OFIE/CATIE, árboles de Centro América

2.9.1.5.5 Flor

Inflorescencias masculinas en amentos de 5 a 10 cm de largo, generalmente en agrupaciones de 3; inflorescencias femeninas 3 a 4 en racimos, de 3 a 8 mm de largo en anthesis; conos de 11 a 28 mm de largo y de 8 a 12 mm de diámetro.

2.9.1.5.6 Fruto

Fruto elíptico a ovalado, papiráceo a coriáceo, con el margen alado y estilo persistente. Las alas angostas de 2 a 2.3 mm de largo y 0.2 a 1 mm de ancho, el cuerpo de 1.5 a 3 mm de largo y 1.5 a 1.8 mm de ancho.

2.9.1.6 Fenología

2.9.1.6.1 Follaje

Perennifolio / Caducifolio. Los árboles llegan a tirar sus hojas en forma total o parcial durante la época seca.

2.9.1.6.2 Floración

Florece de febrero a abril.

2.9.1.6.3 Fructificación

Fructifica de junio a diciembre (marzo).

2.9.2 Distribución

Es una especie pionera de crecimiento rápido que necesita luz, y regenera en áreas abiertas. Tolera un amplio rango de climas y tipos de suelo. 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 climas más secos, aunque aquí se restringe a zonas con abundante humedad del suelo.

Figura 6. Distribución potencial de *Alnus arguta* (Schltdl.) Spach



Fuente: OFIE/CATIE, árboles de Centro América

2.9.3 Usos

Las características físicas de la madera de árboles adultos permiten su fácil manejo. Se reporta que es usada en la fabricación de cajas para transporte de hortalizas,

formas 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, y las hojas son usadas como cataplasmas para heridas de piel, y los extractos del fruto para inflamación de garganta.

2.10 Secado de plantas

El secado es el paso más importante para lograr un producto de óptima calidad, ya que de éste depende que el producto esté en condiciones de comercializarse, consumirse y conservarse por períodos prolongados (1-2 años las hojas y flores y 2-3 años las cortezas). Lo óptimo es secar el material a un 10% de humedad. (Cervantes, 2005)

De acuerdo con los datos generados por productores de plantas medicinales, a continuación se muestra el contenido de humedad de diferentes partes de la planta fresca y la pérdida de humedad después del secado partiendo de 1 kg de peso de material fresco.

Tabla III. Secado de las diferentes partes de una planta

Parte	Humedad (%)	Peso seco (g)	Pérdida (%)
Semillas y frutos	5 a 10	900 a 950	5 a 10
Raíces y rizomas	70 a 85	100 a 300	70 a 90
Corteza y tallos	80 a 90	300 a 400	60 a 70
Frutos carnosos	80 a 90	300 a 400	60 a 70
Flores	20 a 30	100 a 200	80 a 90
Hojas	70 a 95	100 a 300	70 a 90

Fuente: Cervantes, 2005

El secado debe hacerse en condiciones especiales ya que la humedad, el sol directo y el polvo pueden deteriorar el material y destruir sus propiedades medicinales. La experiencia demuestra que el secado puede hacerse a cuatro niveles dependiendo del volumen. Las condiciones y recursos disponibles, casero, familiar, microindustrial e industrial.

2.10.1 Almacenamiento de plantas secas

Al llegar a este nivel y de haberse seguido cuidadosamente los pasos anteriores para asegurar un producto vegetal seco de buena calidad, es necesario y de suma importancia su adecuada conservación que puede muchas veces ser por un período prolongado. Se recomienda que no sea mayor de 18-24 meses para flores y hojas y hasta 24-36 meses para raíces, cortezas y semillas. Lo anterior se logrará únicamente si el producto se almacena adecuadamente, lo cual garantizará su estabilidad y permitirá conservar las propiedades físicas, químicas, organolépticas y terapéuticas que le dan valor.

Del almacenamiento depende que el producto no vuelva a absorber humedad del ambiente, lo que favorecería el crecimiento de moho. Por otro lado, el almacenamiento adecuado contribuirá a que el producto no esté en contacto con otros factores que lo arruinen como sol, polvo, roedores e insectos y garantizará que no haya pérdida de sus propios aceites volátiles.

Puede usarse sacos de manta, brin o kenaf, pero con cuidado en la forma de guardarlos para evitar el contacto con el suelo, humedad y animales domésticos.

Cuando el volumen es mayor y se dispone de recurso económico para invertir en infraestructura, se aconseja adquirir barriles plásticos (no es recomendable el PVC), de fibra de vidrio o cartón piedra con tapadera a presión o rosca o bien de cierre plástico con argolla de metal.

2.11 Lixiviación

Muchas sustancias biológicas, así como compuestos inorgánicos y orgánicos, se encuentran como mezclas de diferentes componentes en un sólido. Para separar el soluto deseado o eliminar un soluto indeseable de la fase sólida, ésta se pone en contacto con una fase líquida. Ambas fases entran en contacto íntimo y el soluto o los solutos se difunden desde el sólido a la fase líquida, lo que permite una separación de los componentes originales del sólido. Este proceso se llama lixiviación líquido-sólido o simplemente, lixiviación. (Geankoplis, 2004)

Esta operación unitaria, una de las más antiguas en la industria química, ha recibido muchos nombres, según la técnica más o menos compleja utilizada para llevarla a cabo. La *colada* se refería originalmente a la percolación del líquido a través de un lecho fijo del sólido, pero en la actualidad se utiliza para describir la operación en forma general, sin importar la forma en que se realice. Lixiviación se utiliza con menos frecuencia como sinónimo para colada, aunque al principio se refería específicamente a la colada de álcali a partir de cenizas de madera. El término *extracción* también se emplea por lo común para describir esta operación particular, aunque también se aplica a todas las operaciones de separación, que utilicen métodos de transferencia de masa o mecánicos. La *decocción* se refiere específicamente al uso del disolvente a su temperatura de ebullición. Cuando el material soluble está sobre todo en la superficie de un sólido insoluble y simplemente se lava con el disolvente, la operación algunas veces recibe el nombre de *elución*.

2.11.1 Procesos de lixiviación

En la industria de procesos biológicos y alimenticios, muchos productos se separan de su estructura natural original por medio de una lixiviación líquido-sólido. Un proceso importante es la lixiviación de azúcar de la remolacha con agua caliente. En la producción de aceites vegetales, se emplean disolventes orgánicos como hexano,

acetona y éter, para extraer aceite de cacahuete, soya, semillas de lino, semillas de ricino, semillas de girasol, semillas de algodón, harina, pasta de palo e hígado de hipogloso. En la industria farmacéutica se obtiene una gran diversidad de productos por lixiviación de raíces, hojas y tallos de plantas. En la producción de café “instantáneo” soluble, el café tostado y molido se somete a una lixiviación con agua pura. El tanino se extrae de las cortezas de árboles por lixiviación con agua.

2.11.2 Preparación de los sólidos para la lixiviación

El éxito de una lixiviación y la técnica que se va a utilizar dependen con mucha frecuencia de cualquier tratamiento anterior que se le pueda dar al sólido.

El método de preparación del sólido depende en alto grado de la proporción del constituyente soluble presente, de su distribución en el material sólido original, de la naturaleza del sólido, que puede estar constituido por células vegetales o el material soluble estar totalmente rodeado por una matriz de materia insoluble, y del tamaño de partícula original. Si la materia soluble está rodeada de una matriz de materia insoluble, el disolvente se debe difundir hacia el interior para ponerse en contacto y disolver el material soluble, y después difundirse hacia afuera. En estos casos se procede a una trituración y molienda previa de los materiales para aumentar la velocidad de lixiviación, pues de esta manera las porciones solubles quedan más accesibles a la acción del disolvente. Si la sustancia soluble está en solución sólida o ampliamente distribuida en la totalidad del sólido, la acción de lixiviación del disolvente forma canales pequeños. Esto hace que el paso de disolvente adicional resulte más fácil, por lo cual se puede prescindir de la molienda a tamaños muy pequeños.

Los materiales biológicos tienen estructura celular y los constituyentes solubles suelen estar dentro de las células. En ocasiones, la velocidad de lixiviación es bastante baja, debido a que las paredes celulares constituyen una resistencia adicional a la difusión. (Treybal, 1994)

Para lixiviar productos farmacéuticos de hojas, tallos y raíces, el secado del material antes de la extracción ayuda a romper las paredes celulares. De esta manera, el disolvente ataca directamente al soluto. Las paredes celulares de las semillas y de otros vegetales sufren bastantes rupturas cuando la materia se reduce de tamaño, por medio de un proceso de laminación para formar pequeñas escamas. Las células son de tamaño más pequeño, por lo que sus paredes se rompen y el soluto queda más accesible a la acción del disolvente.

2.11.3 Temperatura de lixiviación

Por lo general, se desea realizar la lixiviación a temperaturas lo más elevadas posible. Las temperaturas elevadas producen la mayor solubilidad del soluto en el disolvente y, en consecuencia, concentraciones finales mayores en el licor de lixiviación.

A temperaturas elevadas la viscosidad del líquido es menor y mayores las difusividades; esto incrementa la rapidez de lixiviación. (Treybal, 1994)

2.11.4 Métodos de operación

Las operaciones de lixiviación se realizan por lotes o semilotes (estado no estacionario) y también en condiciones totalmente continuas (estado estacionario). En cada categoría se encuentran equipos del tipo de etapas y de contacto continuo. Se utilizan dos técnicas principales de manejo: la aspersion o goteo del líquido sobre el sólido y la completa inmersión del sólido en el líquido. En cualquier caso, la elección del equipo que se va a utilizar depende bastante de la forma física de los sólidos y de las dificultades y costo de manejo. (Treybal, 1994)

2.11.4.1 Operación en estado no estacionario

Las operaciones en estado no estacionario incluyen aquellas en que los sólidos y los líquidos se ponen en contacto únicamente en forma de lotes y también aquellas en que un lote del sólido se pone en contacto con una corriente que fluye continuamente del líquido (método por semilotes). Las partículas sólidas gruesas generalmente se tratan en lechos fijos mediante métodos de percolación, mientras que los sólidos finamente divididos, que pueden mantenerse más fácilmente en suspensión, pueden dispersarse en todo el líquido con la ayuda de algún tipo de agitador.

2.11.4.2 Operación en estado estacionario (continuo)

El equipo para las operaciones en estado estacionario continuo puede clasificarse en dos grandes categorías principales: operado por etapas o en contacto continuo. Algunas veces, el equipo por etapas puede montarse en unidades múltiples, para producir efectos de varias etapas; el equipo de contacto continuo puede proporcionar el equivalente a muchas etapas en un único aparato.

2.11.4.2.1 Tanques con agitación

Los sólidos finamente molidos que son fáciles de suspender en líquidos por medio de la agitación, pueden lixiviarse continuamente en cualquiera de los muchos tipos de tanques con agitación. Éstos pueden utilizarse para el flujo continuo del líquido y del sólido en y fuera del tanque y deben diseñarse con cuidado para que no haya acumulación del sólido. (Treybal, 1994)

Debido al mezclado completo que se obtiene, estos aparatos funcionan en una sola etapa; además, el líquido y el sólido tienden a alcanzar el equilibrio en el tanque.

Pueden utilizarse los tanques agitados mecánicamente, para los cuales es probable, que el agitador de tipo de turbina sea generalmente el más adecuado.

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 de la USAC.
2. Laboratorio del Área de Química de la Escuela de Ingeniería Química de la Facultad de Ingeniería de la USAC.
3. Laboratorio de Investigación de productos naturales, LIPRONAT, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la USAC.

3.2 Recursos humanos

Investigador: Br. Genaro Francisco Barrera García

Asesora: Inga. Qca. Telma Maricela Cano Morales

3.3 Obtención de las muestras

La corteza de Aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) se obtuvo directamente en los bosques comunales del municipio de Momostenango, Totonicapán.

Momostenango está a una altura de 2,204.46 msnm. Latitud 14° 02' 40", longitud 91° 24' 30". Es un lugar de clima templado húmedo. Los bosques cuentan con una precipitación pluvial de 1,057-1.588 mm, la biotemperatura es de 15- 23 °C, con una altura de 1,500 – 2,400 msnm. Se colectó toda la corteza del árbol en general y se colocó en recipientes apropiados, 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 utilizando en un molino de martillos.

3.4 Diseño de tratamientos

Para la evaluación estadística se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo combinatorio, en el cual se aplicó un experimento factorial sobre la especie de estudio evaluando 1 corteza y utilizando la técnica de maceración dinámica a reflujo constante, 5 tipos de soluciones extractoras (agua, etanol al 35%, etanol al 50%, etanol al 70% y etanol al 95%) y 3 etapas de extracciones sucesivas para una muestra obtenida de un tamaño de partícula de 248 - 297 μm con un porcentaje del 3% según el análisis granométrico realizado a la corteza molida (Apéndice A), con 3 repeticiones para cada solución extractora, resultando 9 unidades experimentales, y un total de 45 tratamientos.

El tamaño del tratamiento de maceración dinámica a reflujo constante en función de la relación corteza seca/solución extractora de 1:10 (w/v), con tiempo de extracción de 2 horas y a temperatura de ebullición de la solución extractora, 95°C para el agua, 82°C para el etanol al 35%, 80°C para el etanol al 50%, 78°C para el etanol al 70%.

Obtenidos los extractos sólidos 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 (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach) molida y tamizada a 248 - 297 μm

3.5.1.2 Cristalería

- Balones aforados de 1 L
- Matraces de cuello corto de fondo plano con esmeril 24/40 de 500 mL
- Condensadores de bolas con esmeril 24/40
- Varillas de agitación
- Probetas graduadas de 100 mL y 500 mL
- Beacker de 500 mL
- Kitasato de 500 mL
- Embudo Buchner

3.5.1.3 Equipo

- Plancha de calentamiento
 - Marca: WWR
 - Modelo: PC-620
 - Voltaje: 120 V
 - Frecuencia: 60 Hz.
 - Potencia: 1113 W.Hecha en Estados Unidos

Figura 7. Plancha de Calentamiento



Fuente: Laboratorio de Química Industrial

- Bomba de vacío
 - Marca: Gast
 - Voltaje: 100 -115 V
 - Frecuencia: 50 Hz.
 - Potencia: ¼ Hp.
 - Revoluciones: 1725/1425 rpmHecha en Michigan, USA

Figura 8. Bomba de vacío



Fuente: Laboratorio de Química Industrial

- Balanza
 - Marca: Adventurer
 - Voltaje: 8 -14.5 V
 - Frecuencia: 50/60 Hz.
 - Máxima Capacidad: 150 g.
 - Lectura Mínima: 0.001 g
 - Precisión: 0.0005 g
- Hecha en USA

Figura 9. Balanza



Fuente: Laboratorio de Química Industrial

- Rotavapor
 - Marca: Büchi
 - Modelo: R-200
 - Voltaje: 120 V
 - Frecuencia: 50/60 Hz.
 - Potencia: 120 W
- Hecho en Flawil, Suiza.

Figura 10. Rotavapor



Fuente: Laboratorio de Química Industrial

3.5.1.4 Otros

- Agitadores magnéticos de 2 pulgadas
- Papel filtro Catalogo No. 1450070
- Placas cromatográficas
 - Marca: Merck
 - Modelo: Kieselgel 60 F254
 - Dimensiones: 20 x 20 cm

3.5.1.5 Reactivos

- Etanol 95% Grado Industrial marca Merck
- Agua desmineralizada marca Salvavidas

3.5.2 Método de extracción del tinte natural a nivel laboratorio

1. La corteza de Aliso previamente tamizada se coloca en un matraz de fondo plano y de cuello corto con esmeril 24/40 de 500 mL de capacidad; la relación de corteza seca y el solvente es de 1:10 (w/v). Se utilizaran 30 g de materia tamizada.
2. Se utilizo el método de maceración dinámica a reflujo. Se coloca el condensador de bolas en el cuello del matraz, se arma todo el equipo, colocándolo en una plancha de calentamiento con agitación a 400 rpm durante 2 horas a ebullición.
3. Terminada las dos horas de calentamiento, se procede a filtrar, utilizando el filtrado al vacío a presión de vacío de 12 inHg.
4. Toda la materia prima del filtrado, se vuelve a recuperar, colocándola de nuevo al matraz, siendo la relación de corteza y solvente la misma que en el inciso 1. Repetir incisos dos y tres.
5. Realizar incisos 1-4 hasta obtener tres extracciones sucesivas de una misma muestra.
6. La mezcla de sólidos solubles en la solución extractora se seca por evaporación a temperatura de ebullición de la solución extractora (95 °C para el agua, 82 °C para el et. 35%, 80°C para el et. 50%, 78 °C para el et. 70%) a presión atmosférica (640 mmHg), el extracto solidó obtenido se pesa para evaluar el rendimiento de

extracción y luego se guarda en frascos PET para su caracterización y uso en el proceso de teñido de fibras.

7. Para determinar la calidad de los sólidos solubles obtenidos se procede de la siguiente manera: la mezcla de sólidos solubles en la solución extractora se concentra a presión de vacío de 12 inHg en un rotavapor, a temperatura no mayor de 45°C y girando a una velocidad constante de 60 rpm. El periodo de extracción de solvente es continuo, hasta que la muestra no tenga presencia de solución extractora. El extracto concentrado obtenido se almacena en refrigeración, en frascos color ámbar de vidrio.
8. Después de obtener el extracto concentrado se le realizan pruebas fisicoquímicas para índice de refracción y densidad, pruebas fitoquímicas para la identificación de flavonoides y cromatografía en capa fina.

3.5.3 Métodos para la caracterización de los tintes naturales, Determinación de las propiedades fisicoquímicas de los extractos colorantes

3.5.3.1 Determinación de densidad

La densidad del extracto de la corteza de aliso (*Alnus arguta (Schtdl.) Spach*) se obtiene por medio de un picnómetro de 10 mL a una temperatura de 20°C.

3.5.3.2 Determinación del índice de refracción

Se utiliza un refractómetro Abbe. Se limpiará el lente con Xilol y se vierte una gota del extracto tintóreo a temperatura de 20°C en el prisma, tomando nota de la lectura del equipo.

3.5.4 Identificación de flavonoides

Para identificar flavonoides se utilizan pruebas fitoquímicas (reacciones colorimétricas), cromatografía en capa fina.

3.5.4.1 Reacciones coloridas:

- a. Reacción con H_2SO_4 conc. : al extracto obtenido del rotavapor se le agrega una gota de ácido sulfúrico. 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.
- b. Reacción de Shinoda: al extracto obtenido del rotavapor, se le coloca un trozo pequeño de magnesio y unas pocas gotas de HCl concentrado, el desarrollo inmediato de coloración es indicativo de la presencia de flavonas y flavonoles (amarillo a rojo), flavanonoles (rojo a magenta) flavanonas (rojo, magenta, violeta, azul), isoflavonas (amarillo), isoflavanonas, chalconas y auronas no dan coloración.

3.5.5 Análisis cromatográfico en capa fina

La caracterización del extracto se hace por medio de un análisis cromatográfico, utilizando cromatografía de capa fina. Ésta se divide en varias etapas, como lo son la preparación de la muestra, de las soluciones estándar, la fase móvil, la placa cromatográfica y preparación de soluciones reveladoras.

3.5.5.1 Preparación de la muestra

Se coloca, 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

Se colocan, en un beacker, 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

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). La mezcla 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

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

1. Trazar con lápiz, una línea horizontal un centímetro arriba de la parte inferior de la placa.
2. Marcar a lo largo de la línea horizontal 17 puntos, dejando 1 cm de separación entre cada uno.
3. Inyectar con ayuda de un capilar 5 μ L 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 introduce la placa dentro de la cámara cromatográfica que contiene la fase móvil. Dejar que las líneas que aparecen y 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.

3.5.5.6 Preparación de las soluciones reveladoras

Se le aplica a la placa un revelador, esto hace que se observen de mejor manera los colores que se forman en la placa al introducirla a una cámara de luz ultravioleta, el revelador se prepara con:

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

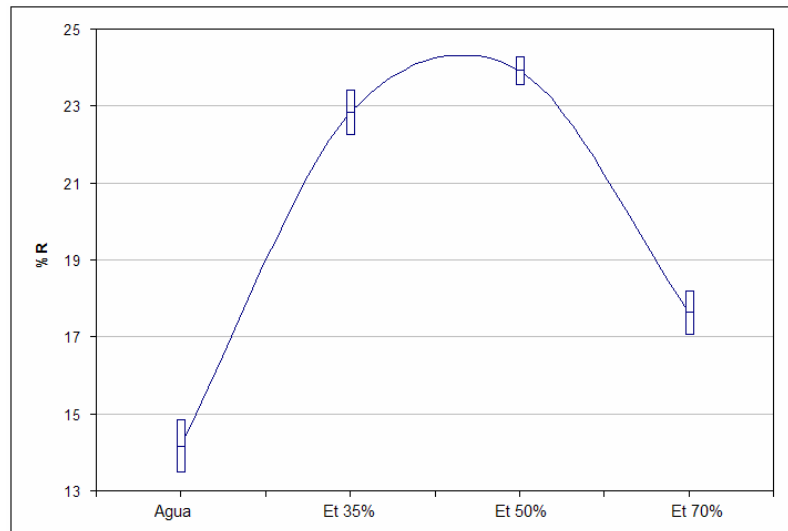
4. RESULTADOS

Tabla IV. Rendimiento promedio de extractos tintóreos del Aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach), porcentaje de rendimiento acumulado a tres etapas de extracción sucesiva, para un sistema de maceración dinámica a reflujo con relación corteza molida/solución extractora de 1/10, con un tamaño de partícula de 248- 297 μm , con periodo de extracción de 2 horas a temperatura de ebullición de la solución extractora y Porcentaje de rendimiento a agotamiento utilizando equipo de extracción Soxhlet para una muestra de corteza seca de 10 g y utilizando etanol al 95% como solución extractora.

Solvente	No. Etapa de Extracción	% Rendimiento Promedio	%R Acumulado		$\Delta\text{R}\%$	% R Agotamiento	
			1-2	1-2-3			
Agua	0	-	-	-	-	40.02 \pm 0.16	
	1	14.16 \pm 0.69	-	-	14.16		
	2	6.72 \pm 0.57	20.88	-	7.43		
	3	2.13 \pm 0.55	-	23.01	4.59		
Etanol	Et 35%	0	-	-	-		
		1	22.82 \pm 0.58	-	-		22.82
		2	9.87 \pm 0.55	32.69	-		12.96
		3	4.32 \pm 0.49	-	37.01		5.54
	Et 50%	0	-	-	-		-
		1	23.01 \pm 0.35	-	-		23.01
		2	10.83 \pm 0.41	-	-		13.09
		3	4.51 \pm 0.34	-	39.25		6.32
	Et 70%	0	-	-	-	-	
		1	17.63 \pm 0.57	-	-	17.63	
		2	7.33 \pm 0.52	24.97	-	10.30	
		3	3.53 \pm 0.30	-	28.50	3.80	

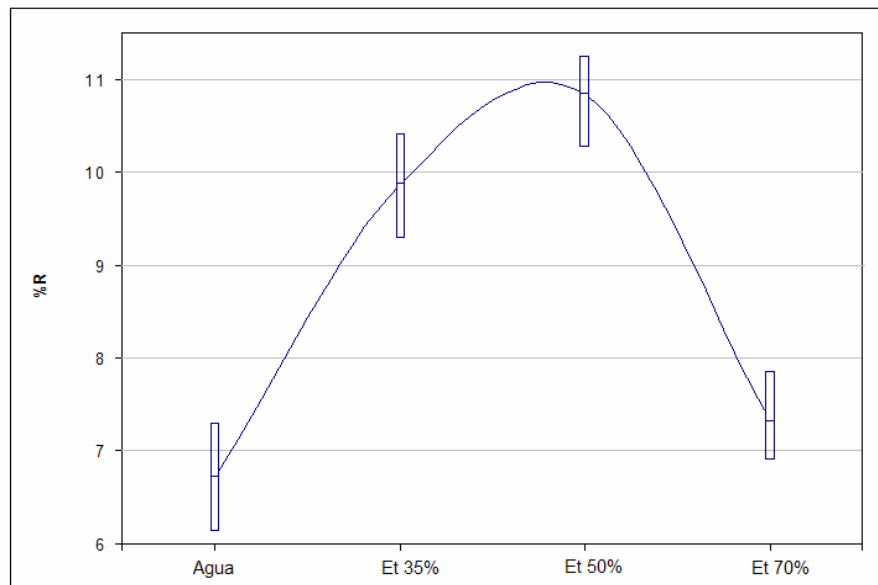
Fuente: Datos Originales

Figura 11. Gráfico del porcentaje de rendimiento de los extractos tintóreos del Aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach) para la primera etapa de extracción sucesiva



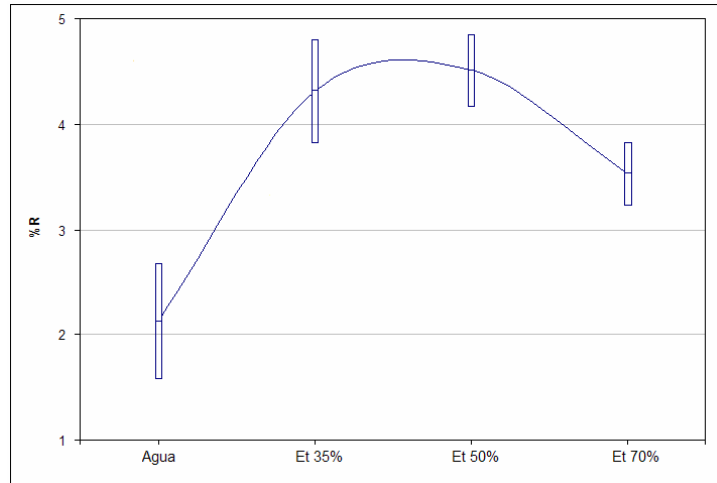
Fuente: Tabla IV

Figura 12. Gráfico del porcentaje de rendimiento de los extractos tintóreos del Aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach) para la segunda etapa de extracción sucesiva



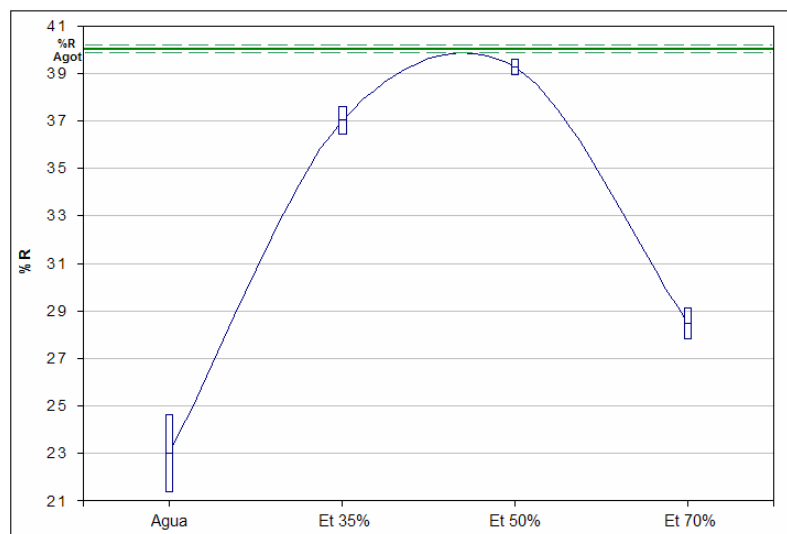
Fuente: Tabla IV

Figura 13. Gráfico del porcentaje de rendimiento de los extractos tintóreos del Aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach) para la tercera etapa de extracción sucesiva



Fuente: Tabla IV

Figura 14. Gráfica de comparación del porcentaje de rendimiento acumulado a tres etapas de extracción sucesivas en función de la solución extractora utilizada con el porcentaje de rendimiento a agotamiento obtenido en un equipo de extracción Soxhlet.



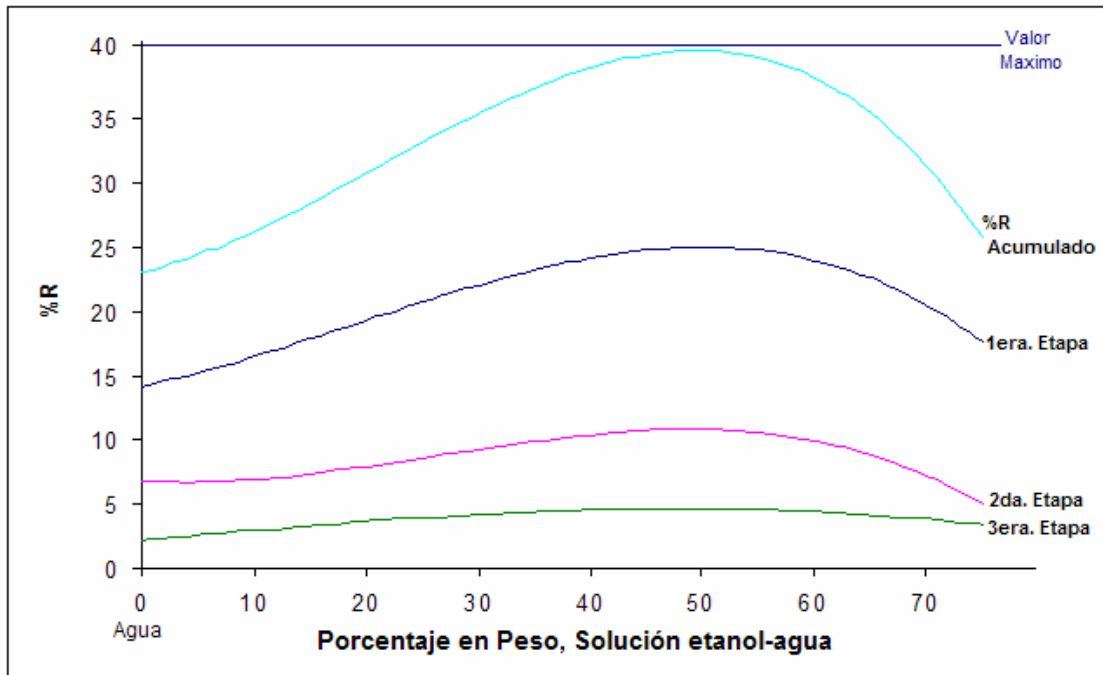
Fuente: Tabla IV

Tabla V. Coeficientes de correlación para el modelo matemático polinomial de la forma $\%R = a(\%Et)^3 + b(\%Et)^2 + c(\%Et) + d$ para cada una de las etapas de extracción sucesivas realizadas, y el rendimiento acumulado a tres etapas de extracción

No. Etapa de Extracción	Coeficientes				R^2	%R Máximo	%Et
	a	b	C	d			
1	-0.0001	0.0057	0.1812	14.156	1	24.967	50
2	-9.00E-05	0.0071	-0.0496	6.7222	1	10.751	48.830
3	-1.00E-05	-9.00E-05	0.0787	2.1333	1	4.598	48.306
Acumulado a tres etapas	-0.0002	0.0127	0.2103	23.011	1	40	49.424

Fuente: Apéndice F

Figura 15. Gráfica para el modelo polinomial de la forma $\%R = a(\%Et)^3 + b(\%Et)^2 + c(\%Et) + d$ para cada una de las etapas de extracción sucesivas realizadas, y el rendimiento acumulado a tres etapas de extracción



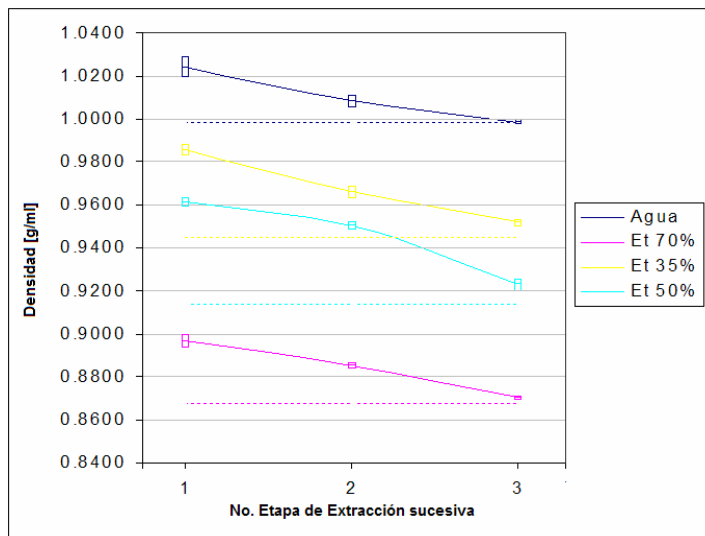
Fuente: Tabla V

Tabla VI. Propiedades fisicoquímicas promedios de los extractos tintóreos del Aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) a 20°C, para un sistema de maceración dinámica a reflujo con relación corteza molida/solución extractora de 1/10, con un tamaño de partícula de 248- 297 μm , con periodo de extracción de 2 horas a temperatura de ebullición de la solución extractora

Solvente		No. Etapa de Extracción	Densidad [g/ml]	$\Delta\rho$ [g/ml]	Índice de Refracción	ΔIR
Agua		0	0.9982	-	1.3341	-
		1	1.0243 \pm 0.0045	0.0261	1.3405 \pm 0.0015	0.0064
		2	1.0083 \pm 0.0023	0.0101	1.3381 \pm 0.0002	0.0040
		3	0.9987 \pm 0.0012	0.0004	1.3360 \pm 0.0002	0.0019
Etanol	Et 35%	0	0.9449	-	1.3511	-
		1	0.9857 \pm 0.0025	0.0407	1.3596 \pm 0.0013	0.0085
		2	0.9660 \pm 0.0026	0.0211	1.3567 \pm 0.0001	0.0056
		3	0.9519 \pm 0.0014	0.0070	1.3547 \pm 0.0004	0.0035
	Et 50%	0	0.9138	-	1.3591	-
		1	0.9612 \pm 0.0021	0.0474	1.3688 \pm 0.0001	0.0097
		2	0.9503 \pm 0.0017	0.0365	1.3661 \pm 0.0007	0.0070
		3	0.9229 \pm 0.0024	0.0090	1.3630 \pm 0.0004	0.0039
	Et 70%	0	0.8677	-	1.3632	-
		1	0.8970 \pm 0.0030	0.0293	1.3709 \pm 0.0023	0.0077
		2	0.8853 \pm 0.0012	0.0177	1.3675 \pm 0.0004	0.0043
		3	0.8704 \pm 0.0010	0.0027	1.3657 \pm 0.0002	0.0025

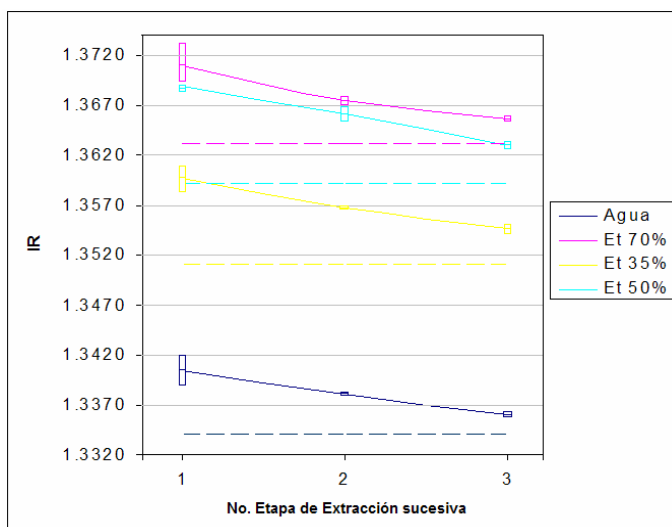
Fuente: Datos Originales

Figura 16. Gráfico de densidades promedio al final del período de extracción de los extractos tintóreos del Aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en función de cada solución extractora utilizada y el número de extracciones sucesivas a 20°C



Fuente: Tabla VI

Figura 17. Gráfico del índice de refracción promedio al final del período de extracción de los extractos tintóreos del Aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en función de cada solución extractora utilizada y el número de extracciones sucesivas a 20°C



Fuente: Tabla VI

Tabla VII. Reacciones coloridas de Ácido Sulfúrico y Shinoda para la identificación de Flavonoides en los extractos tintóreos del Aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach)

Solvente		No. Etapa de Extracción	Flavonoide Identificado
Agua		1	Flavonas y Flavonoles
		2	Flavonas y Flavonoles
		3	Flavonas y Flavonoles
Etanol	Et 70%	1	Flavonas y Flavonoles
		2	Flavonas y Flavonoles
		3	Flavonas y Flavonoles
	Et 35%	1	Flavonas y Flavonoles
		2	Flavonas y Flavonoles
		3	Flavonas y Flavonoles

Fuente: Análisis experimental

Tabla VIII. Análisis cromatográfico en capa fina para la determinación de la presencia de Quercitina, Rutina, Ácido Clorogénico e Hiperósido en los extractos tintóreos del Aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach)

Solvente		No. Extracción Sucesiva	Rutina	Quercitina	Acido Clorogénico	Hiperósido
Agua		1	-	+	-	-
		2	-	+	-	-
		3	-	+	-	-
Etanol	Et 70%	1	-	+	-	-
		2	-	+	-	-
		3	-	+	-	-
	Et 35%	1	-	+	-	-
		2	-	+	-	-
		3	-	+	-	-

Fuente: Análisis experimental

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El objetivo general del presente trabajo es evaluar el rendimiento a tres etapas de extracción sucesivas y caracterizar el extracto tintóreo de la corteza del aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach).

Para obtener los datos necesarios se realizaron extracciones con el método de maceración dinámica a reflujo constante en función de la relación corteza seca/solución extractora de 1:10 (w/v), con período de extracción de dos horas a temperatura de ebullición de cada solución extractora, a una presión atmosférica de 640 mmHg. Para ello se utilizaron 4 soluciones extractoras (agua, etanol al 35%, etanol 50% y etanol 70%) y un tamaño de partícula de corteza seca de 248-298 μm , con 3 repeticiones para cada una y 3 tres extracciones sucesivas, resultando 36 extracciones en total.

Los resultados mostraron que de las cuatro soluciones extractoras, con la que se tuvo un mayor rendimiento acumulado a tres etapas de extracción sucesiva, en cuanto a la obtención de extractos tintóreos, fue el etanol al 50% con un rendimiento acumulado de 39.25%; seguido del etanol al 35% con un rendimiento de 37.01% y por último el agua con un rendimiento de 23.01%, en comparación con el rendimiento a agotamiento obtenido utilizando un equipo de extracción sohxlet de 40.02%.

En la Tabla IV se muestra el rendimiento del extracto tintóreo obtenido según la extracción sucesiva realizada y el solvente utilizado. En ella se puede apreciar que la especie presenta un valor de rendimiento promedio más alto en la primera etapa de extracción sucesiva utilizando etanol al 50% con un valor obtenido de 23.01% así como también para la segunda y tercera etapa de extracción siendo de 10.83% y 4.51% respectivamente.

Con base a los resultados obtenidos en la Tabla IV se concluye que el etanol al 50% produce un mayor rendimiento en los extractos que con el agua o el etanol al 70%.

En la tabla IV se encuentra el $\Delta R\%$ que es la diferencia de rendimientos entre cada etapa de extracción, se puede observar que la solución extractora que posee un mayores $\Delta R\%$ es el etanol al 50%, con estos valores se puede observar como se da el efecto sinérgico en la solución extractora, encontrando una relación optima de concentración de solución extractora equitativa 1/1 (etanol/agua) para obtener un mayor rendimiento de extracción.

En la Tabla XXIV, XXVI, XXVIII en la sección de Análisis Estadístico, se determinaron los efectos en el rendimiento en función de la extracción sucesiva y la solución extractora utilizado; por los resultados obtenidos se observa que no hay interacción entre cada etapa de extracción sucesiva.

Con base a los resultados obtenidos en la Tabla IV se concluye que el etanol al 50% produce un mayor rendimiento en los extractos que con el agua o el etanol al 70%.

En el apéndice B se calculó el valor de las constantes dieléctricas de las soluciones extractoras, agua, etanol al 35%, etanol al 50% y etanol al 70% siendo estos valores de 78.5, 69.24, 63.24 y 52.34 respectivamente, el valor de la constante dieléctrica en una medida de las propiedades de un solvente para mantener cargas opuestas, esto indica que las partículas de los sólidos solubles de la corteza del Aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) tienen una mejor solubilidad con un solvente que tenga un valor de constante dieléctrica entre 60-70 y una baja solubilidad con solventes con valores cercanos a la constante dieléctrica del agua y el etanol.

En la tabla V se muestran los promedios de propiedades fisicoquímicas de los extractos colorantes. Para los valores de densidad obtenidos, hay un efecto significativo

de la solución extractora utilizada así como del número de etapa de extracción sucesiva realizada. Se puede observar el $\Delta\rho$ que indica cuantos gramos extrae cada mililitro de solución extractora, lo $\Delta\rho$ mayores se obtuvieron utilizando como solvente extractor etanol al 50% y los $\Delta\rho$ menores utilizando agua y etanol al 70%.

Al realizarse el análisis de varianza en la Tabla XII, XIV y XVI, se estableció que existe diferencia significativa en las densidades obtenidas en cada y según la extracción sucesiva realizada y según la solución extractora utilizada.

Para los valores obtenidos del índice de refracción, hay efectos significativos según la solución extractora utilizada y su etapa de extracción sucesiva realizada. Se observan valores de índice de refracción mayores en los extractos colorantes al utilizar como solvente etanol que agua, índices mayores utilizando etanol al 50%. Y en general los índices mayores obtenidos se obtuvieron en la primera extracción sucesiva.

Al realizarse el Análisis de varianza en la Tabla XVIII, XX, XXII, se estableció que existe diferencia significativa en los índices de refracción obtenidos en cada número de etapa de extracción sucesiva realizada y la solución extractora utilizada.

La presencia de pigmentos colorantes del tipo flavonoides en los extractos del Aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach) se demostró mediante pruebas colorimétricas y cromatográficas. Se realizaron dos pruebas colorimétricas: la reacción de Shinoda (Tabla VI, resultados) y la reacción con ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) (Tabla VII, resultados). En todas las corridas de las dos pruebas se presentaron cambios de colores (Figura 23, apéndice B), con esto se demuestra la presencia de flavonoides, debido a que eran pruebas que demostrarían la presencia de los mismos.

En cuanto a la prueba de shinoda. En todas las corridas se presentó el cambio de color de una solución amarilla a una solución roja. Con ello se demostró la presencia de flavonas y flavonoles.

La prueba de reacción con ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) arrojó como resultado que todas las corridas presentaron un cambio de color de una solución amarilla clara a una solución amarilla fuerte. Con ello se demostró la presencia de flavonas y flavonoles.

Con lo que respecta a la prueba cromatográfica, se puede observar claramente en la figura 25 del apéndice B, que las marcas en la placa cromatográfica demuestran la presencia de flavonoides. En todas las corridas se identificó la presencia de un solo flavonoide (quercetina).

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el presente trabajo se realizó un análisis estadístico de varianza, con la finalidad de comprobar cuál hipótesis estadística es la que mejor se ajusta a la parte experimental del estudio, ya sea, la hipótesis nula o la hipótesis alternativa planteada según sea el caso.

La idea de este método es expresar una medida de la variación total de un conjunto de datos como una suma de términos, que se pueden atribuir a fuentes o causas específicas de variación; en su forma más simple, se aplica a experimentos que se planifican como diseños completamente aleatorios. (Walpole, 1999)

El análisis de varianza tendrá entonces que tomar en cuenta los siguientes factores:

- 5. • La solución extractora
- 5. • El numero de extracciones sucesivas

En la práctica se suele utilizar la tabla de organización de datos y la tabla de análisis de varianza representada por lo siguiente:

Tabla IX. Organización de datos de ANOVA

Tratamientos Repeticiones	1	2	3	
1	Y_{11}	Y_{21}	Y_{31}	
2	Y_{12}	Y_{22}	Y_{32}	
3	Y_{13}	Y_{23}	Y_{33}	
Total	T_{1*}	T_{2*}	T_{3*}	T_{**}

Fuente: Walpole, 1999

Tabla X. ANOVA

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	f calculada	f tabulada
Tratamientos	k-1	SSA	$S_1^2 = \frac{SSA}{k-1}$	$\frac{S_1^2}{S^2}$	
Error	k(n - 1)	SSE	$S^2 = \frac{SSE}{k(n-1)}$		
Total	nk - 1	SST			

Fuente: Walpole, 1999

En donde k representa el número de tratamientos y n el número de experimentos por cada tratamiento.

Las fórmulas empleadas descritas con letras mayúsculas arriba son las siguientes:

$$FC = \frac{T_{**}^2}{k \times n} \quad [\text{ec. 1}]$$

$$SSA = \sum_{i=1}^k \frac{T_i^2}{n_i} - FC \quad [\text{ec. 2}]$$

$$SST = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} Y_{ij}^2 - FC \quad [\text{ec. 3}]$$

$$SSE = SST - SSA \quad [\text{ec. 4}]$$

$$S_1^2 = \frac{SSA}{k-1} \quad [\text{ec. 5}]$$

$$S^2 = \frac{SSE}{k(n-1)} \quad [\text{ec.6}]$$

Y la Regla de decisión:

Si F calculada $>$ F tabulada se rechaza H_0

Si F calculada \leq F tabulada se acepta H_0

f tabulada:

Tabla de f con nivel de confianza del 95 %, $f(v_1, v_2)$

Donde:

$$v_1 = k-1$$

$$v_2 = k(n-1)$$

6.1 Propiedades fisicoquímicas de los extractos tintóreos en función del número de etapas de extracciones sucesivas y la solución extractora utilizada.

6.1.1 Densidad de los extractos tintóreos para la primera etapa de extracción sucesiva

Tabla XI. Organización de datos ANOVA de densidad de los extractos tintóreos para la primera etapa de extracción sucesiva

Tratamientos Repeticiones	Agua	Et 35%	Et 50%	Et 70%	
1	1.029	0.986	0.959	0.897	
2	1.020	0.988	0.964	0.894	
3	1.024	0.983	0.961	0.900	
Total	3.073	2.957	2.884	2.691	11.605

Fuente: Datos Originales

Hipótesis:

H_0 : No existe diferencia significativa en la densidad del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach) en la primera etapa de extracción sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Hi: Existe diferencia significativa en la densidad del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en la primera etapa de extracción sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Tabla XII. ANOVA de densidad de los extractos tintóreos para la primera etapa de extracción sucesiva

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	f Calculada	f Tabulada
Tratamientos	0.025706	3.00	0.008569	853.47	4.07
Error	0.000080	8.00	0.000010		
Total	0.025787	11.00			

Fuente: Análisis estadístico

F calculada > F tabulada se rechaza Ho

6.1.2 Densidad de los extractos tintóreos para la segunda etapa de extracción sucesiva

Tabla XIII. Organización de datos ANOVA de densidad de los extractos tintóreos para la segunda etapa de extracción sucesiva

Tratamientos Repeticiones	Agua	Et 35%	Et 50%	Et 70%	
1	1.008	0.968	0.952	0.886	
2	1.011	0.967	0.949	0.884	
3	1.006	0.963	0.950	0.886	
Total	3.025	2.898	2.851	2.656	11.430

Fuente: Datos Originales

Hipótesis:

Ho: No existe diferencia significativa en la densidad del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en la segunda etapa de extracción sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Hi: Existe diferencia significativa en la densidad del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en la segunda etapa de extracción sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Tabla XIV. ANOVA de densidad de los extractos tintóreos para la segunda etapa de extracción sucesiva

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	f Calculada	f Tabulada
Tratamientos	0.023447	3.00	0.007816	1777.30	4.07
Error	0.000035	8.00	0.000004		
Total	0.023482	11.00			

Fuente: Análisis estadístico

F calculada > F tabulada se rechaza Ho

6.1.3 Densidad de los extractos tintóreos para la tercera etapa de extracción sucesiva

Tabla XV. Organización de datos ANOVA de densidad de los extractos tintóreos para la tercera etapa de extracción sucesiva

Tratamientos Repeticiones	Agua	Et 35%	Et 50%	Et 70%	
1	1.000	0.951	0.921	0.869	
2	0.999	0.952	0.923	0.870	
3	0.998	0.954	0.925	0.871	
Total	2.996	2.856	2.769	2.611	11.231

Fuente: Datos Originales

Hipótesis:

Ho: No existe diferencia significativa en la densidad del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en la tercera etapa de extracción sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Hi: Existe diferencia significativa en la densidad del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en la tercera etapa de extracción sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Tabla XVI. ANOVA de densidad de los extractos tintóreos para la tercera etapa de extracción sucesiva

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	f Calculada	f Tabulada
Tratamientos	0.025980	3.00	0.008660	3389.48	4.07
Error	0.000020	8.00	0.000003		
Total	0.026001	11.00			

Fuente: Análisis estadístico

F calculada > F tabulada se rechaza Ho

6.1.4 Índice de refracción de los extractos tintóreos para la primera etapa de extracción sucesiva

Tabla XVII. Organización de datos ANOVA del índice de refracción de los extractos tintóreos para la primera etapa de extracción sucesiva

Tratamientos / Repeticiones	Agua	Et 35%	Et 50%	Et 70%	
1	1.3421	1.3588	1.3688	1.3683	
2	1.3402	1.3611	1.3689	1.3721	
3	1.3391	1.3590	1.3688	1.3723	
Total	4.0214	4.0789	4.1065	4.1128	16.3195

Fuente: Datos Originales

Hipótesis:

Ho: No existe diferencia significativa en el índice de refracción del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en la primera etapa de extracción sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Hi: Existe diferencia significativa en el índice de refracción del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en la primera etapa de extracción sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Tabla XVIII. ANOVA del índice de refracción de los extractos tintóreos para la primera etapa de extracción sucesiva

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	f Calculada	f Tabulada
Tratamientos	0.001735	3.00	0.000578	252.04	4.07
Error	0.000018	8.00	0.000002		
Total	0.001754	11.00			

Fuente: Análisis estadístico

F calculada > F tabulada se rechaza Ho

6.1.5 Índice de refracción de los extractos tintóreos para la segunda etapa de extracción sucesiva

Tabla XIX. Organización de datos ANOVA del índice de refracción de los extractos tintóreos para la segunda etapa de extracción sucesiva

Tratamientos Repeticiones	Agua	Et 35%	Et 50%	Et 70%	
1	1.3381	1.3569	1.3668	1.3671	
2	1.3382	1.3566	1.3663	1.3675	
3	1.3379	1.3567	1.3653	1.3679	
Total	4.0142	4.0701	4.0984	4.1025	16.2852

Fuente: Datos Originales

Hipótesis:

Ho: No existe diferencia significativa en el índice de refracción del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en la segunda etapa de extracción sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Hi: Existe diferencia significativa en el índice de refracción del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en la segunda etapa de extracción sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Tabla XX. ANOVA del índice de refracción de los extractos tintóreos para la segunda etapa de extracción sucesiva

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	f Calculada	f Tabulada
Tratamientos	0.001655	3.00	0.000552	3089.64	4.07
Error	0.000001	8.00	0.000000		
Total	0.001656	11.00			

Fuente: Análisis estadístico

F calculada > F tabulada se rechaza Ho

6.1.6 Índice de refracción de los extractos tintóreos tercera etapa de extracción sucesiva

Tabla XXI. Organización de datos ANOVA del índice de refracción de los extractos tintóreos para la tercera etapa de extracción sucesiva

Tratamientos Repeticiones	Agua	Et 35%	Et 50%	Et 70%	
1	1.3362	1.3548	1.3635	1.3654	
2	1.3360	1.3550	1.3629	1.3657	
3	1.3358	1.3542	1.3627	1.3659	
Total	4.0079	4.0640	4.0891	4.0970	16.2579

Fuente: Datos Originales

Hipótesis:

Ho: No existe diferencia significativa en el índice de refracción del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en la tercera etapa de extracción sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Hi: Existe diferencia significativa en el índice de refracción del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en la tercera etapa de extracción sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Tabla XXII. ANOVA del índice de refracción de los extractos tintóreos para la tercera etapa de extracción sucesiva

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	f Calculada	f Tabulada
Tratamientos	0.001619	3.00	0.000540	5689.54	4.07
Error	0.000001	8.00	0.000000		
Total	0.001620	11.00			

Fuente: Análisis estadístico

F calculada > F tabulada se rechaza Ho

6.2 Rendimientos de los extractos tintóreos en función del número de etapa de extracción sucesiva y la solución extractora utiliza.

6.2.1 Rendimiento de los extractos tintóreos para la primera etapa de extracción sucesiva

Tabla XXIII. Organización de datos ANOVA del rendimiento de los extractos tintóreos para la primera etapa de extracción sucesiva

Tratamientos Repeticiones	Agua	Et 35%	Et 50%	Et 70%	
1	14.77	22.83	23.56	17.47	
2	14.30	23.40	24.26	17.17	
3	13.40	22.23	23.92	18.27	
Total	42.47	68.47	71.74	52.90	235.57

Fuente: Datos Originales

Hipótesis:

Ho: No existe diferencia significativa en el rendimiento del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en la primera etapa de extracciones sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Hi: Existe diferencia significativa en el rendimiento del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en la primera etapa de extracciones sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Tabla XXIV. ANOVA del rendimiento de los extractos tintóreos para la primera etapa de extracción sucesiva

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	f Calculada	f Tabulada
Tratamientos	187.48	3.00	62.49	197.01	4.07
Error	2.54	8.00	0.32		
Total	190.02	11.00			

Fuente: Análisis estadístico

F calculada > F tabulada se rechaza Ho

6.2.2 Rendimiento de los extractos tintóreos para la segunda etapa de extracción sucesiva

Tabla XXV. Organización de datos ANOVA del rendimiento de los extractos tintóreos para la segunda etapa de extracción sucesiva

Tratamientos Repeticiones	Agua	Et 35%	Et 50%	Et 70%	
1	6.63	10.43	11.23	7.93	
2	7.33	9.83	10.41	7.00	
3	6.20	9.33	10.84	7.07	
Total	20.17	29.60	32.48	22.00	104.25

Fuente: Datos Originales

Hipótesis:

Ho: No existe diferencia significativa en el rendimiento del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en la segunda etapa de extracciones sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Hi: Existe diferencia significativa en el rendimiento del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en la segunda etapa de extracciones sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Tabla XXVI. ANOVA del rendimiento de los extractos tintóreos para la segunda etapa de extracción sucesiva

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F Calculada	f Tabulada
Tratamientos	34.99	3.00	11.66	43.61	4.07
Error	2.14	8.00	0.27		
Total	37.13	11.00			

Fuente: Análisis estadístico

F calculada > F tabulada se rechaza Ho

6.2.3 Rendimiento de los extractos tintóreos para la tercera etapa de extracción sucesiva

Tabla XXVII. Organización de datos ANOVA del rendimiento de los extractos tintóreos para la tercera etapa de extracción sucesiva

Tratamientos Repeticiones	Agua	Et 35%	Et 50%	Et 70%	
1	2.67	3.87	4.14	3.20	
2	2.17	4.27	4.47	3.63	
3	1.57	4.83	4.87	3.77	
Total	6.40	12.97	13.48	10.60	43.45

Fuente: Datos Originales

Hipótesis:

Ho: No existe diferencia significativa en el rendimiento del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en la tercera etapa de extracciones sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Hi: Existe diferencia significativa en el rendimiento del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) en la tercera etapa de extracciones sucesiva y según la solución extractora utilizada.

Tabla XXVIII. ANOVA del rendimiento de los extractos tintóreos para la tercera etapa de extracción sucesiva

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F Calculada	F Tabulada
Tratamientos	10.42	3.00	3.47	18.27	4.07
Error	1.52	8.00	0.19		
Total	11.94	11.00			

Fuente: Análisis estadístico

F calculada > F tabulada se rechaza Ho

CONCLUSIONES

1. Existe diferencia significativa en el rendimiento del extracto tintóreo, el cual quedan plasmadas en un modelo matemático polinomial de orden 3 con un máximo al 50% de contenido acua-etanolico.
2. Existe un efecto sinérgico que se da en la solución acua-etanolica en donde se obtiene un valor máximo de rendimiento de extractos tintóreos cuando se utiliza un porcentaje de etanol al 50%.
3. Se observó que el efecto sinérgico es desarrollado por la acción que tiene la solución extractora en una constante dieléctrica intermedia entre la del agua y la del etanol.
4. Pruebas colorimétricas como la reacción de Shinoda y la reacción con ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4), demostraron la presencia de flavonas e isoflavonas.
5. La presencia de flavonoides no se ve afectada por el tipo de solución extractora o el número de etapa de extracción sucesiva.
6. Al utilizar como solución extractora etanol al 50% se obtuvieron ΔIR y $\Delta \rho$ mayores.
5. Existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas del extracto tintóreo obtenido de la corteza del aliso (*Alnus arguta (Schltl.) Spach*) en función de cada extracciones sucesiva y según la solución extractora utilizada.

RECOMENDACIONES

1. Realizar la extracción de extractos tintóreos del aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) a nivel planta piloto y aplicarlo a diferentes fibras naturales y sintéticas.
2. Para obtener la mayor cantidad del extracto tintéreo de la corteza del Aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) utilizar etanol al 50% y como máximo realizar una cuarta etapa de extracción sucesiva.
3. Realizar estudios que contemplen una 4ta y 5ta etapa de extracción sucesiva de la corteza de Aliso (*Alnus arguta (Schltdl.) Spach*) u otra corteza para determinar su porcentaje de rendimiento total agotando la materia prima utilizada.
4. Optimizar el proceso de lixiviación, determinando la relación óptima de solvente y materia prima que se debe utilizar así como el periodo óptimo de extracción para la obtención de extractos tintóreos.
5. Optimizar el proceso de lixiviación, utilizando diferentes solventes, como medios ácidos o alcalinos y solventes polares y apolares, para observar la tendencia de los rendimientos, si éstos aumentan o disminuyen.
6. Hacer estudios de extracciones de colorantes utilizando otras soluciones extractoras a diferentes concentraciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Domínguez M., Augusto Alberto. Extracción de los pigmentos colorantes del tipo xantofilas contenidos en la flor Tagetes Erecta (Marigold). Tesis Ing. Química. Guatemala, USAC, Facultad de Ingeniería, 1987. 50 pp.
2. Geankoplis, Christie J. Procesos de transporte y operaciones unitarias. Tercera edición, Compañía Editorial Continental, México 2004. 800 – 822 pp.
3. Larson, Roland E. Cálculo y geometría analítica. Sexta Edición, McGraw Hill, México 2002. 178-238 pp.
4. Lock O. Citado por Cecilia Valencia, Colorantes naturales. (Perú: 1997)
5. OFI/CATIE, Árboles de Centro América.
http://herbaria.plants.ox.ac.uk/adc/downloads/capitulos_especies_y_anexos/lysiloma_auritum.pdf
6. Treybal, Robert E. Operaciones de Transferencia de Masa. Segunda Edición, Editorial McGraw-Hill, México 1994, 792 - 822 pp.
7. Walpole, Ronald, Probabilidad y estadística para ingenieros. Sexta edición, Editorial Pearson Educación, México 1999, 463-468 pp,
8. Wall, Joaquín Gabriel, Obtención de colorantes, Editorial Universidad Nacional de Quielmes, Argentina 2003.

BIBLIOGRAFÍA

1. Domínguez M., Augusto Alberto. **Extracción de los pigmentos colorantes del tipo xantofilas contenidos en la flor Tagetes Erecta (Marigold)**. Tesis Ing. Química. Guatemala, USAC, Facultad de Ingeniería, 1987. 50 pp.
2. Cervantes, Lugo. **Tecnología alimentaria, la paleta de la naturaleza**. Centro de Investigación y asistencia en Tecnología y diseño. http://www.enfasis.com/bo/fotos/Pdf_24.pdf, Colombia 2005.
3. Domínguez, Xorge. **Métodos de investigación fitoquímica**. México: Editorial Limusa, 1973. 250 pp.
4. Geankoplis, Christie J. **Procesos de transporte y operaciones unitarias**. Tercera edición, Compañía Editorial Continental, México 2004. 800 – 822 pp.
5. Kirk, Raymond y Donald Othmer. **Enciclopedia de tecnología química**. (Volumen 1). México: Editorial Hispanoamericana. 1962. 625 pp.
6. Lock O. Citado por Cecilia Valencia, **Colorantes naturales**. (Perú: 1997)
7. McCabe, Warren L. **Operaciones unitarias en Ingeniería Química**, Cuarta Edición, Editorial McGraw-Hill, México 1991. 242 – 288, 618- 648 pp.
8. OFI/CATIE, **Árboles de Centro América**. http://herbaria.plants.ox.ac.uk/adc/downloads/capitulos_especies_y_anexos/lysiloma_auritum.pdf
9. Treybal, Robert E. **Operaciones de Transferencia de Masa**. Segunda Edición, Editorial McGraw-Hill, México 1994, 792 - 822 pp.
10. Walpole, Ronald, **Probabilidad y estadística para ingenieros**. Sexta edición, Editorial Pearson Educación, México 1999, 463-468 pp,
11. Wall, Joaquín Gabriel, **Obtención de colorantes**, Editorial Universidad Nacional de Quielmes, Argentina 2003.
12. Zorilla A. Santiago y Torres X. Miguel. **“Guía para elaborar la Tesis”**. 2da Edición. Editorial McGraw Hill. Pág. 4-87. México 1992. Reimpresión 2005.

APÉNDICE A

Datos originales

Tabla XXIX. Porcentaje de rendimiento del extracto tintóreo del Aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach)

Solvente		No. Extracción Sucesiva	Corrida No. 1	Corrida No. 2	Corrida No. 3	% Rendimiento Promedio	σ
Agua		1	14.77	14.30	13.40	14.16	0.69
		2	6.63	7.33	6.20	6.72	0.57
		3	2.67	2.17	1.57	2.13	0.55
		%Rendimiento Acumulado	24.07	23.80	21.17	23.01	1.60
Etanol	Et 35%	1	22.83	23.40	22.23	22.82	0.58
		2	10.43	9.83	9.33	9.87	0.55
		3	3.87	4.27	4.83	4.32	0.49
		%Rendimiento Acumulado	37.13	37.50	36.40	37.01	0.56
	Et 50%	1	23.56	24.26	23.92	23.91	0.35
		2	11.23	10.41	10.84	10.83	0.41
		3	4.19	4.47	4.87	4.51	0.34
		%Rendimiento Acumulado	38.98	39.14	39.63	39.25	0.34
	Et 70%	1	17.47	17.17	18.27	17.63	0.57
		2	7.93	7.00	7.07	7.33	0.52
		3	3.20	3.63	3.77	3.53	0.30
		%Rendimiento Acumulado	28.60	27.80	29.10	28.50	0.66

Fuente: Datos Experimentales

Tabla XXX. Porcentaje de rendimiento a agotamiento del extracto tintóreo del Aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach) utilizando equipo de extracción Soxhlet

Muestra	Extracto	%Rendimiento	%Rendimiento Promedio	σ
1	3.99	39.87	40.02	0.16
2	4.02	40.19		
3	4.00	40.01		

Fuente: Datos experimentales

Tabla XXXI. Densidad de los extractos tintóreos del Aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach) a 20 °C.

Solvente		No. Etapa de Extracción	Corridas			Densidad promedio [g/mL]	σ
			1	2	3		
Agua		1	1.0290	1.0200	1.0240	1.0243	0.0045
		2	1.0080	1.0110	1.0060	1.0083	0.0025
		3	0.9998	0.9987	0.9975	0.9987	0.0012
Etanol	Et 35%	1	0.9860	0.9880	0.9830	0.9857	0.0025
		2	0.9680	0.9670	0.9630	0.9660	0.0026
		3	0.9507	0.9515	0.9535	0.9519	0.0014
	Et 50%	1	0.9593	0.9635	0.9609	0.9612	0.0021
		2	0.9523	0.9492	0.9495	0.9503	0.0017
		3	0.9206	0.9226	0.9254	0.9229	0.0024
	Et 70%	1	0.8970	0.8940	0.9000	0.8970	0.0030
		2	0.8860	0.8840	0.8860	0.8853	0.0012
		3	0.8694	0.8703	0.8714	0.8704	0.0010

Fuente: Datos experimentales

Tabla XXXII. Índice de refracción de los extractos tintóreos del Aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach).

Solvente		No. Etapa de Extracción	Corridas			Índice de Refracción promedio	σ
			1	2	3		
Agua		1	1.34212	1.34018	1.33913	1.3405	0.0015
		2	1.33811	1.33822	1.33788	1.3381	0.0002
		3	1.33615	1.33597	1.33581	1.3360	0.0002
Etanol	Et 35%	1	1.35877	1.36114	1.35897	1.3596	0.0013
		2	1.35685	1.35656	1.35673	1.3567	0.0001
		3	1.35478	1.35497	1.35421	1.3547	0.0004
	Et 50%	1	1.36876	1.36889	1.36883	1.3688	0.0001
		2	1.36675	1.36627	1.36534	1.3661	0.0007
		3	1.36345	1.36289	1.36272	1.3630	0.0004
	Et 70%	1	1.36830	1.37212	1.37233	1.3709	0.0023
		2	1.36712	1.36746	1.36789	1.3675	0.0004
		3	1.36543	1.36567	1.36587	1.3657	0.0002

Fuente: Datos experimentales

Tabla XXXIII. Análisis granumétrico de la corteza molida del Aliso (*Alnus arguta* (Schltdl.) Spach)

No. Mesh	Tamaño de partícula [μm]	Peso [g]	% Peso
20	838.2	7484.27	51.17
20-40	419.1-838.2	3111.64	21.27
40-50	297.18-419.1	1106.77	7.57
50-60	248.92-297.18	438.10	3.00
60	248.92	2485.69	16.99
Totales		14626.5	100

Fuente: Datos experimentales

APÉNDICE B

Constante Dieléctrica

La solubilidad depende de las propiedades de un solvente que le permitan interactuar 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.

1. Determinación de la constante dieléctrica de la solución extractora de Etanol al 35 %.

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

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

$$\text{Volumen total} = 300 \text{ mL}$$

$$\rho_{\text{et35\%}} @ 20^{\circ}\text{C} = 0.94494 \text{ g/mL}$$

$$\text{Masa total} = (300 \text{ mL}) (0.94494 \text{ g/mL}) = 283.48 \text{ g}$$

$$\text{Masa}_{\text{etanol}} = (283.48 \text{ g}) (0.35) = 99.22 \text{ g}$$

$$\text{Masa}_{\text{agua}} = (283.48 \text{ g}) (0.65) = 184.26 \text{ g}$$

$$\text{PM}_{\text{etanol}} = 46 \text{ g/mol}$$

$$\text{PM}_{\text{agua}} = 18 \text{ g/mol}$$

Fracciones molares:

$$\text{Fracción mol (x)} = \frac{\text{moles a}}{\text{moles a} + \text{moles b}}$$

$$x_{\text{agua}} = \frac{184.26 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 18 \text{ g}}{184.26 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 18 \text{ g} + 99.22 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 46 \text{ g}} = 0.83$$

$$x_{\text{etanol}} = \frac{99.22 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 46 \text{ g}}{184.26 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 18 \text{ g} + 99.22 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 46 \text{ g}} = 0.17$$

Constante Dieléctrica: $\xi_{solucion} = \xi_{etanol} \times x_{etanol} + \xi_{agua} \times x_{agua}$

$$\xi_{et35\%} = 24 \times 0.17 + 78.5 \times 0.83 = 69.24$$

2. Determinación de la constante dieléctrica de la solución extractora de Etanol al 50 %.

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

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

Volumen total = 300 mL

$$\rho_{et50\%} @ 20^{\circ}\text{C} = 0.91384 \text{ g/mL}$$

$$\text{Masa total} = (300 \text{ mL}) (0.91384 \text{ g/mL}) = 274.152 \text{ g}$$

$$\text{Masa}_{etanol} = (274.152 \text{ g}) (0.5) = 137.076 \text{ g}$$

$$\text{Masa}_{agua} = (274.152 \text{ g}) (0.5) = 137.76 \text{ g}$$

$$\text{PM}_{etanol} = 46 \text{ g/mol}$$

$$\text{PM}_{agua} = 18 \text{ g/mol}$$

Fracciones molares:

$$x_{agua} = \frac{137.076 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 18 \text{ g}}{137.076 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 18 \text{ g} + 137.076 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 46 \text{ g}} = 0.72$$

$$x_{etanol} = \frac{137.076 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 46 \text{ g}}{137.076 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 18 \text{ g} + 137.076 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 46 \text{ g}} = 0.28$$

Constante Dieléctrica: $\xi_{solucion} = \xi_{etanol} \times x_{etanol} + \xi_{agua} \times x_{agua}$

$$\xi_{et50\%} = 24 \times 0.28 + 78.5 \times 0.72 = 63.24$$

3. Determinación de la constante dieléctrica de la solución extractora de Etanol al 70 %.

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

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

$$\text{Volumen total} = 300 \text{ mL}$$

$$\rho_{\text{et70\%}} @ 20^{\circ}\text{C} = 0.86766 \text{ g/mL}$$

$$\text{Masa total} = (300 \text{ mL}) (0.86766 \text{ g/mL}) = 260.3 \text{ g}$$

$$\text{Masa}_{\text{etanol}} = (260.3 \text{ g}) (0.70) = 182.21 \text{ g}$$

$$\text{Masa}_{\text{agua}} = (260.3 \text{ g}) (0.30) = 78.09 \text{ g}$$

$$\text{PM}_{\text{etanol}} = 46 \text{ g/mol}$$

$$\text{PM}_{\text{agua}} = 18 \text{ g/mol}$$

Fracciones molares:

$$x_{\text{agua}} = \frac{78.09 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 18 \text{ g}}{78.09 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 18 \text{ g} + 182.21 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 46 \text{ g}} = 0.52$$

$$x_{\text{etanol}} = \frac{182.21 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 46 \text{ g}}{78.09 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 18 \text{ g} + 182.21 \text{ g} \times 1 \text{ mol} / 46 \text{ g}} = 0.48$$

$$\text{Constante Dieléctrica: } \xi_{\text{solucion}} = \xi_{\text{etanol}} \times x_{\text{etanol}} + \xi_{\text{agua}} \times x_{\text{agua}}$$

$$\xi_{\text{et70\%}} = 24 \times 0.48 + 78.5 \times 0.52 = 52.34$$

APÉNDICE C

Figura 18. Corteza Molida de *Alnus arguta* ((*Schltl.*) *Spach*)



Fuente: Laboratorio de Química Industrial

Figura 19. Sistema de maceración dinámica con reflujo



Fuente: Laboratorio de Química Industrial

Figura 20. Filtración de los extractos tintóreos



Fuente: Laboratorio de Química Industrial

Figura 21. Extracto tintóreo líquido de *Alnus arguta* ((Schltdl.) Spach



Fuente: Laboratorio de Química Industrial

Figura 22. Rotaevaporación de los extractos tintóreos



Fuente: Laboratorio de Química Industrial

Figura 23. Extracto tintóreo de *Alnus arguta* ((Schltdl.) Spach) rotaevaporado para tamizaje fitoquímico.



Fuente: Laboratorio de Química Industrial

Figura 24. Secado de los extractos tintóreos



Fuente: Laboratorio de Química Industrial

Figura 25. Extracto tintóreo en polvo de *Alnus arguta* ((Schltdl.) Spach)



Fuente: Laboratorio de Química Industrial

Figura 26. Rendimientos obtenidos para los distintos Tamices y Solventes



Fuente: Laboratorio de Química Industrial

Figura 27. Análisis Fitoquímico, de izquierda a derecha: solución estándar, Prueba de Shinoda, Prueba con Cloruro Ferrico, Prueba de Acido sulfúrico



Fuente: Laboratorio de Investigación de Productos Naturales LIPRONAT

Figura 28. Desarrollo de la placa cromatográfica



Fuente: Laboratorio de Investigación de Productos Naturales LIPRONAT

Figura 29. Cromatografía en capa fina para la determinación de flavonoides



Fuente: Laboratorio de Investigación de Productos Naturales LIPRONAT

Figura 30. Determinación de la densidad del extracto tintóreo



Fuente: Laboratorio de Química Industrial

Figura 31. Determinación del índice de refracción del extracto tintóreo

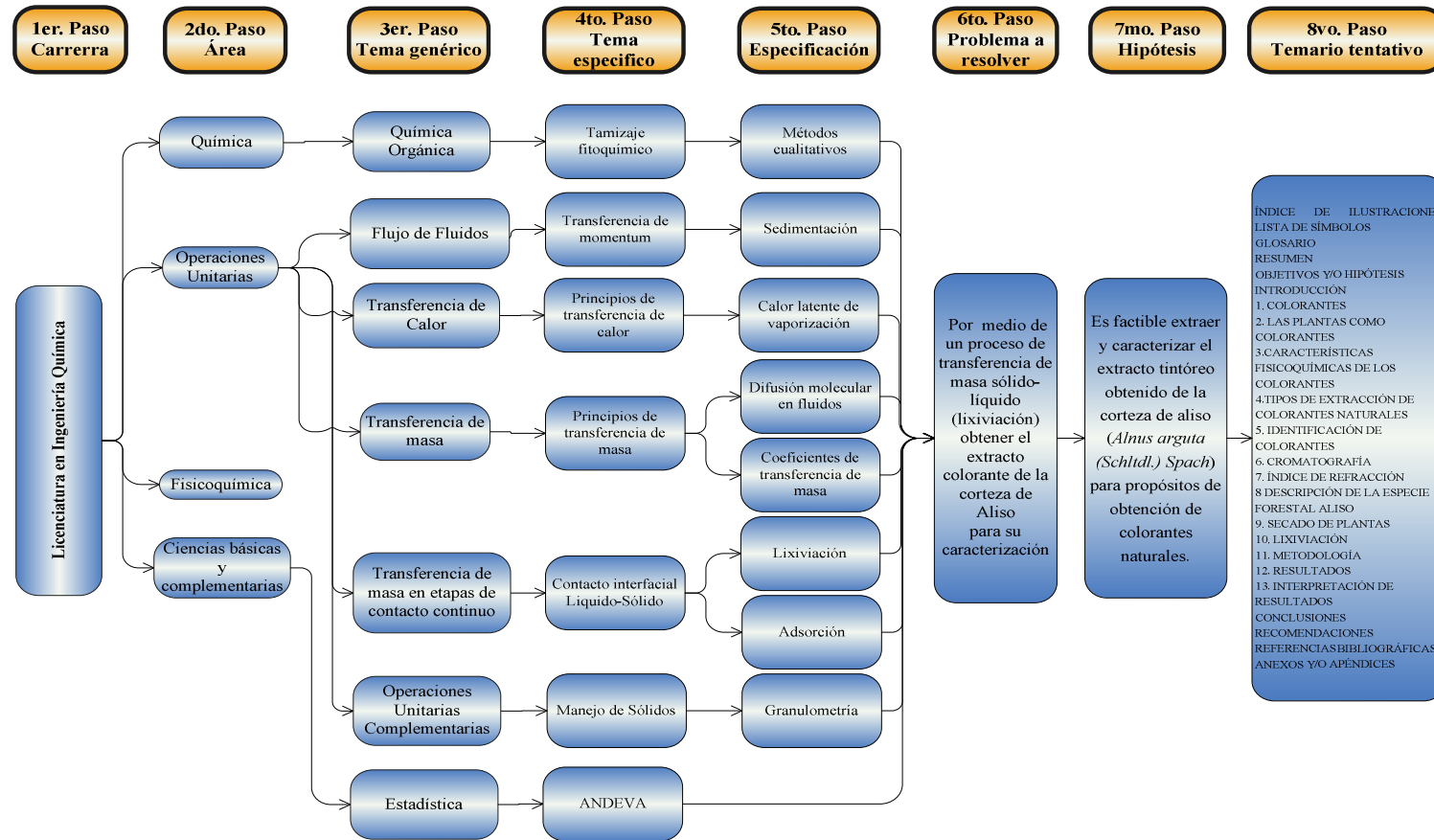


Fuente: Laboratorio de Química Industrial

APÉNDICE D

Figura 32. Requerimientos académicos para la elaboración de trabajos de graduación de Ingeniería Química de extracción de colorantes naturales

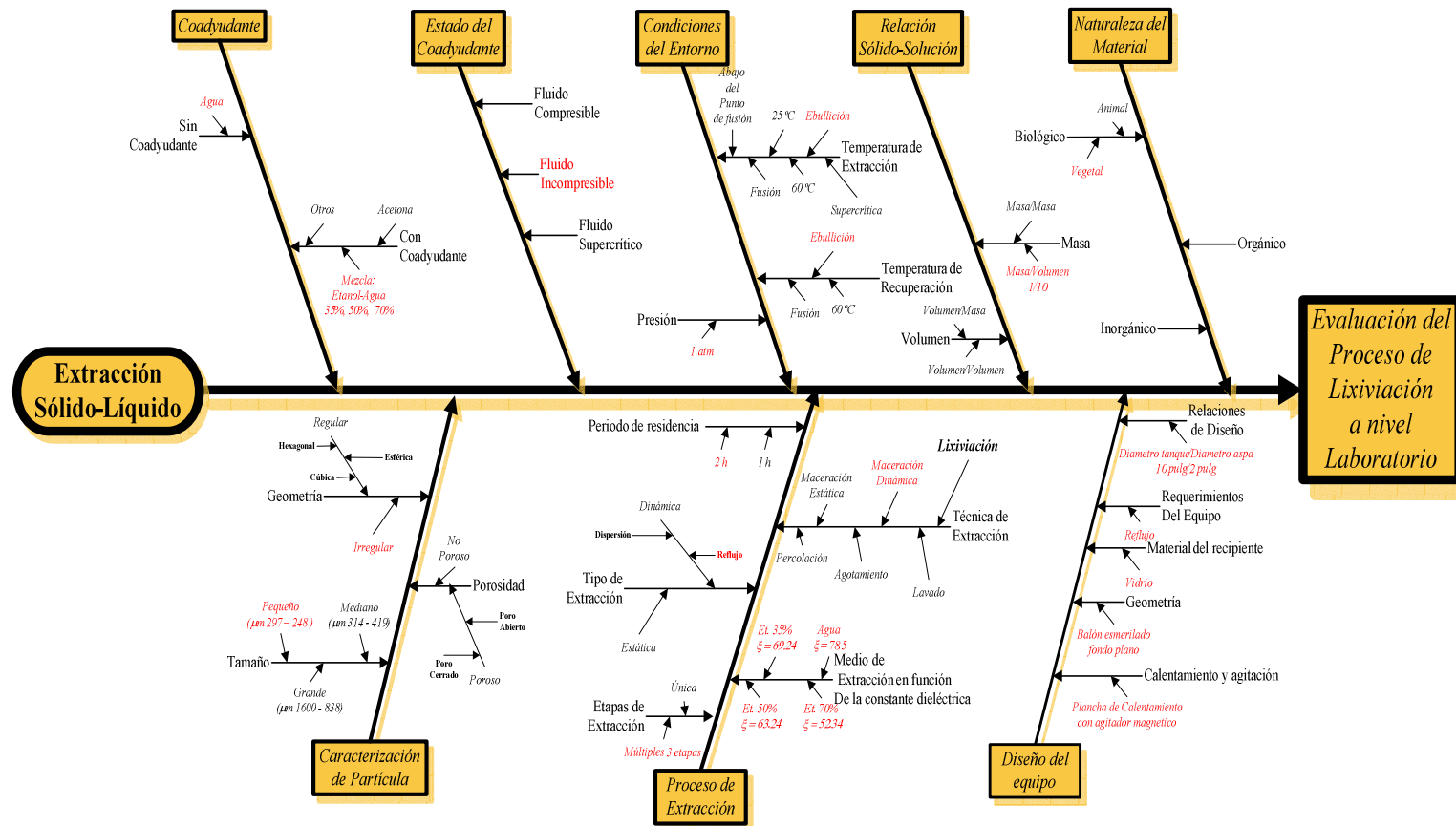
76



Fuente: Análisis Experimental

APÉNDICE E

Figura 33. Diagrama Ishikawa para el proceso de extracción de colorante del Aliso, mediante lixiviación



Fuente: Análisis Experimental

APÉNDICE F

Valor Máximo del Modelo Polinomial por el Método de extremos en un Intervalo

Para encontrar los máximos o mínimos en un función $f(x)$ se deben de encontrar sus números críticos estos se encuentran igualando la primera derivada $df(x)/dx$ a cero y resolviéndola para x . (Larson, 2002).

Valor máximo del polinomio de grado 3 para el modelo matemático de la Primera etapa de extracción:

Encontrar el Máximo de la ecuación:

$$\% R = -0.0001(\% Et)^3 + 0.0057(\% Et)^2 + 0.1812(\% Et) + 14.156$$

Intervalo admisible: [0%-70%]

1er Paso: Encontrar la primera derivada de la ecuación con respecto a la variable %Et

$$\frac{d\% R}{d\% Et} = -0.0003(\% Et)^2 + 0.0114(\% Et) + 0.1812$$

2do. Paso: Igualar la ecuación de la primera derivada a cero y resolverla para %Et

$$\begin{aligned} -0.0003(\% Et)^2 + 0.0114(\% Et) + 0.1812 &= 0 \\ \% Et &= 50\% \qquad \qquad \% R_{Max} = 24.967 \end{aligned}$$

El valor encontrado de %Et es el valor al cual la función tiene un valor máximo, este valor se encuentra evaluando %Et en la %R

Valor máximo del polinomio de grado 3 para el modelo matemático de la Segunda etapa de extracción:

Encontrar el Máximo de la ecuación:

$$\% R = -9 \times 10^{-5} (\% Et)^3 + 0.0071 (\% Et)^2 - 0.0496 (\% Et) + 6.722$$

Intervalo admisible: [0%-70%]

1er Paso: Encontrar la primera derivada de la ecuación con respecto a la variable %Et

$$\frac{d\% R}{d\% Et} = -2.7 \times 10^{-4} (\% Et)^2 + 0.0142 (\% Et) - 0.0496$$

2do. Paso: Igualar la ecuación de la primera derivada a cero y resolverla para %Et

$$\begin{aligned} -2.7 \times 10^{-4} (\% Et)^2 + 0.0142 (\% Et) - 0.0496 &= 0 \\ \% Et &= 48.830\% \qquad \% R_{Max} = 10.751\% \end{aligned}$$

Valor máximo del polinomio de grado 3 para el modelo matemático de la Tercera etapa de extracción:

Encontrar el Máximo de la ecuación:

$$\% R = -1 \times 10^{-5} (\% Et)^3 - 9 \times 10^{-5} (\% Et)^2 + 0.0787 (\% Et) + 2.133$$

Intervalo admisible: [0%-70%]

1er Paso: Encontrar la primera derivada de la ecuación con respecto a la variable %Et

$$\frac{d\% R}{d\% Et} = -3 \times 10^{-4} (\% Et)^2 - 1.8 \times 10^{-4} (\% Et) + 0.0787$$

2do. Paso: Igualar la ecuación de la primera derivada a cero y resolverla para %Et

$$-3 \times 10^{-4} (\% Et)^2 - 1.8 \times 10^{-4} (\% Et) + 0.0787 = 0$$

$$\% Et = 48.306\%$$

$$\% R_{Max} = 4.598\%$$

Valor máximo del polinomio de grado 3 para el modelo matemático del porcentaje de rendimiento acumulado a tres etapas de extracción:

Encontrar el Máximo de la ecuación:

$$\% R = -0.0002(\% Et)^3 + 0.0127(\% Et)^2 + 0.2103(\% Et) + 23.011$$

Intervalo admisible: [0%-70%]

1er Paso: Encontrar la primera derivada de la ecuación con respecto a la variable %Et

$$\frac{d\% R}{d\% Et} = -0.0006(\% Et)^2 + 0.0254(\% Et) + 0.2103$$

2do. Paso: Igualar la ecuación de la primera derivada a cero y resolverla para %Et

$$-0.0006(\% Et)^2 + 0.0254(\% Et) + 0.2103 = 0$$

$$\% Et = 49.424\%$$

$$\% R_{Max} = 40\%$$