



# **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.**

**FACULTAD DE CIENCIAS.**

**ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA.**

*“OBTENCIÓN DE EXTRACTO TÁNICO Y EXTRACTO GÁLICO A  
PARTIR DE LA HARINA DE VAINA DE GUARANGO (Caesalpineia  
Spinosa) (Mol.) O. Kuntz, A ESCALA LABORATORIO.”*

**TESIS DE GRADO**

**Previa la Obtención del Título de:**

**INGENIERO QUÍMICO**

**DIANA SOFÍA CORTEZ YÁNEZ**

**RIOBAMBA – ECUADOR**

**2012**

## **AGRADECIMIENTO.**

*Agradezco en primer lugar a Dios y a la Virgen Dolorosa, por darme la sabiduría para alcanzar esta meta, y por darme la vida para llegar a compartirla con mi familia y amigos.*

*A mis padres, por el esfuerzo que han hecho para que se realicen mis sueños, por ser siempre mi fuente de confianza y de inspiración y por ser el núcleo fundamental de mi vida.*

*A mi hermano, mi sobrina, mi tía y mis abuelitas, que han sido parte de todo mi proceso educativo.*

*A la Fundación Bio-Recolte, por abrirme sus puertas y permitirme cumplir mi sueño; de manera especial a la Ing. Jenny Núñez, quien puso su confianza en mí.*

*Al Dr. Robert Cazar, por apoyarme en todo momento, revisar este documento y ayudarme a darle sentido.*

*A la Escuela de Ingeniería Química, a la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por brindarme las herramientas y conocimientos necesarios para lograr culminar con éxito la carrera. Te llevaré por siempre en mi corazón.*

*Y finalmente, un agradecimiento muy especial a mis amigos y amigas por sus respaldos y alientos en la culminación de esta tesis.*

## **DEDICATORIA.**

*A mi Dios y a mi Virgen Dolorosa por ser ambos mis guías espirituales y permitirme dar este paso tan importante en mi carrera como profesional, porque si no fuera por ellos no estuviera en el lugar que estoy en este momento.*

*A mis padres, por ser siempre mi apoyo y sobre todo mi fuerza de inspiración para seguir adelante, porque gracias a ustedes soy lo que soy ahora.*

*A mi hermano, mi sobrina, mi tía y mis abuelitas, a pesar de estar lejos siempre me han apoyado y me han brindado su amor durante toda la vida.*

*A mi gran amor Diego Fernando por ser esa persona tan paciente, tierna y amorosa que siempre me acompaña en las buenas y en las malas.*

*A todos ustedes muchas gracia.*

**NOMBRE**

**FIRMA**

**FECHA**

Dra. Yolanda Díaz

.....

.....

**DECANO FAC. CIENCIAS**

Ing. Mario Villacrés

.....

.....

**DIRECTOR ESC. ING. QUÍMICA**

Dr. Robert Cazar

.....

.....

**DIRECTOR DE TESIS**

Ing. Jenny Núñez

.....

.....

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

Tec. Carlos Rodríguez

.....

.....

**DIRECTOR CENTRO DOCUMENTACIÓN**

NOTA DEL INFORME

\_\_\_\_\_

*“Yo, **DIANA SOFÍA CORTEZ YÁNEZ**, soy responsable de las ideas, doctrinas, resultados y propuestas expuestas en el presente trabajo de investigación y el patrimonio intelectual de la Memoria de Grado pertenece a la **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**”*

## INDICE DE ABREVIATURAS

A.G=	Ácido Gálico.
A.T=	Ácido Tánico.
°C=	Grados Celsius.
cm=	Centímetros.
EG=	Extracto Gálico.
g =	Gramos.
L =	Litros.
m.s.n.m=	Metros sobre el nivel del mar.
mg/L=	Miligramos por litro.
mg=	Miligramos.
MS=	Muestra Seca.
min=	Minutos.
mL =	Mililitros.
mm =	Milímetro.
N=	Normal.
nm=	Nanómetro.
pH =	Potencial de Hidrógeno.

$\mu\text{m}$ = Micrómetro.

USP= United State Pharmacopoeia.

% = Porcentaje.

ppm= Partes por millón

# ÍNDICE DE CONTENIDO.

Pp:

CARÁTULA

AGRADECIMIENTO

DEDICATORIA

HOJA DE FIRMAS

HOJA DE RESPONSABILIDAD

INDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE ECUACIONES

ÍNDICE DE ANEXOS

RESUMEN..... i

SUMARY ..... ii

INTRODUCCIÓN..... iii

ANTECEDENTES..... vi

JUSTIFICACIÓN..... viii

OBJETIVOS..... x

HIPÓTESIS DE TRABAJO..... xi

## **CAPÍTULO 1**

1. MARCO TEÓRICO.....1

1.1.TANINOS.....1

1.2. FORMACIÓN DEL TANINO Y SU ROL EN LOS VEGETALES.....1

1.3. FUNCIONES ATRIBUIDAS EN LA PLANTA.....2



1.4. PROPIEDADES DE LOS TANINOS EN LAS PLANTAS MEDICINALES.....	3
1.4.1. DETENCIÓN DE LA DIARREA.....	3
1.4.2. ANTIOXIDANTES.....	3
1.4.3. ANTIBACTERIANAS.....	3
1.4.4. ANTÍDOTOS CONTRA LOS VENENOS.....	4
1.4.5. COLESTEROL.....	4
1.4.6. TOXICIDAD DE LOS TANINOS. ....	4
1.5. PROPIEDADES COMUNES DE LOS TANINOS.....	5
1.6. CARACTERÍSTICAS COMUNES DE LOS TANINOS.....	5
1.7. CLASIFICACIÓN DE LOS TANINOS. ....	6
1.7.1. TANINOS HIDROLIZABLES PIROGÁLICOS.....	6
1.7.1.1. CARACTERÍSTICAS DE TANINOS HIDROSOLUBLES O PIROGÁLICOS.....	7
1.7.2. TANINOS NO HIDROSOLUBLES O CONDENSADOS. ....	8
1.7.2.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS TANINOS CONDENSADOS.....	9
1.8. CLASIFICACIÓN DE LOS TANINOS POR SU ORIGEN. ....	10
1.9. COMPUESTOS FENÓLICOS.....	10
1.10. CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENOLÍTICOS.....	11
1.10.1. TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS. ....	11
1.10.2. ENSAYOS ULTRAVIOLETAS. ....	12
1.10.3. TÉCNICAS ESPECTROFOTOMÉTRICAS. ....	12
1.10.3.1.MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE TANINOS POR EL MÉTODO DE FOLIN- CIOCALTEU. ....	13
1.11. DESCRIPCIÓN DE EXTRACTOS CURTIENTES VEGETALES. ....	13
1.12. MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE EXTRACTOS TANINOS. ....	14

1.12.1. MÉTODOS EXTRACTIVOS. ....	14
1.12.1.1. EXTRACCIÓN MECÁNICA.....	15
1.12.1.2.DESTILACIÓN.....	15
1.12.1.3.EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS.....	16
1.12.1.4. EXTRACCIÓN CON SOLVENTES.....	16
1.12.1.5. EXTRACCIÓN CONTINUA O PROGRESIVA.....	17
1.12.1.6. EXTRACCIÓN DISCONTINUA.....	18
1.13. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA EXTRACCIÓN DE TANINOS. ....	21
1.14. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO CURTIENTE.....	22
1.15. EXTRACTOS CURTIENTES COMERCIALES. ....	24
1.16. HIDRÓLISIS DE TANINOS. ....	25
1.17. DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE A ESTUDIAR. ....	26
1.17.1. GUARANGO. ( <i>Caesalpinia spinosa</i> (Mol) O. Kuntz).....	26
1.17.3. ORIGEN GEOGRÁFICO. ....	27
1.17.4. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA. ....	27
1.17.5. CONSTITUYENTES QUÍMICOS: TANINOS DE GUARANGO ( <i>Caesalpinia spinosa</i> (Mol) O. Kuntz).....	27
1.17.6. APROVECHAMIENTO INTEGRAL DEL GUARANGO.....	29
1.17.7. USOS DEL GUARANGO. ....	30
<b>CAPÍTULO 2</b>	
2. PARTE EXPERIMENTAL.....	32
2.1. LOCALIZACIÓN.....	32
a) LOCALIZACIÓN DE MATERIA PRIMA. ....	32
b) LOCALIZACIÓN EXPERIMENTAL. ....	32
2.2. RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA. ....	32
a) SOLVENTE DE EXTRACCIÓN. ....	41

b) % DE RENDIMIENTO (relación materia prima/solvente) .....	42
c) TEMPERATURA, TIEMPO, Y pH DE MACERACIÓN.....	50
d) MÉTODO DE EXTRACCIÓN.....	54
e) TIPO DE HIDRÓLISIS.....	54
2.9.1.2. PROCESO DE OBTENCIÓN DE EXTRACTO TÁNICO.....	54
2.9.1.3. PROCESO DE OBTENCIÓN DE EXTRACTO GÁLICO.....	56
2.9.1.4. ANÁLISIS REALIZADOS.....	58
2.9.1.4.1. ANÁLISIS CUANTITATIVOS.....	58
a) Elaboración del extracto acuoso de la harina de vaina de guarango. ....	58
b) Determinación de la concentración de taninos.....	59
c) Construcción de las curvas de calibración.....	59
2.9.1.4.2. ANÁLISIS CUALITATIVOS.....	62
a) Determinación de densidad. ....	62
b) Determinación del índice de refracción. ....	62
c) Identificación de taninos, pruebas colorimétricas. ....	62
d) Determinación de pH de una solución de extracto tánico.....	63
e) Determinación de la solubilidad de extracto total en agua.....	63
d) Identificación de ácido gálico, reacciones de identificación.....	63
 <b>CAPÍTULO 3</b>	
3. LÍNEA DE INVESTIGACIÓN.....	64
3.1. CÁLCULOS.....	64
3.1.1. Rendimiento porcentual del extracto tánico de la harina de vaina de guarango lixiviada con 55 g de harina y 220 mL de agua destilada, por medio de maceración dinámica. ....	64
3.1.3. ANÁLISIS QUÍMICO. ....	65
3.1.3.1. HUMEDAD.....	65

3.1.3.2. CENIZA. ....	66
3.1.3.4. CARBOHIDRATOS. ....	68
3.1.4. ANÁLISIS CUALITATIVO. ....	68
3.1.4.1. DENSIDAD. ....	68
3.1.4.2. SOLUBILIDAD. ....	69
3.1.5. ANÁLISIS CUANTITATIVOS. ....	69
3.1.5.6. PORCENTAJE DE DISOCIACIÓN DE MOLÉCULAS. ....	73
Hidrólisis ácida-básica. ....	73
Hidrólisis ácida. ....	73
Hidrólisis básica. ....	74
3.2. RESULTADOS. ....	76
3.3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS. ....	86
<b>CAPÍTULO 4</b>	
4.1. CONCLUSIONES. ....	92
4.2. RECOMENDACIONES. ....	94
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

## ÍNDICE DE FIGURAS.

<b>Figura</b>	<b>Pp:</b>
1.7.1.1- 1 Taninos Hidrosolubles o Pirogálicos.....	7
1.7.1.1- 2 Estructura de tanino de Tara.....	8
1.7.2- 1 Estructura de Flavan- 3,4 diol.....	9
1. 12.1- 1 Clasificación de los métodos de obtención de los extractos taninos.....	15
1.16- 2 Hidrólisis de taninos.....	25
1.17.5- 1 Estructura parcial del tanino de tara (a), de los galatos del ácido quínico (b).....	29

## ÍNDICE DE TABLAS.

<b>Tabla</b>	<b>Pp:</b>
2.9.1-1 Estadística de regresión lineal individual en relación con volumen y peso.....	43
2.9.1-2 Datos de variables desconocidas y de respuesta en relación con el % de rendimiento óptimo .....	44
2.9.1-3 Estadística de regresión multilínea en relación con el % de rendimiento óptimo.....	45
2.9.1-4 Resultados de probabilidad, F y su valor crítico en relación con el % de rendimiento óptimo .....	46
2.9.1- 5 Datos de variables desconocidas y de respuesta en relación con la temperatura y pH de maceración.....	50
2.9.1- 6 Estadística de regresión multilínea en relación con la temperatura y pH de maceración.....	51
2.9.1- 7 Resultados de probabilidad, F y su valor crítico en relación con la temperatura y pH de maceración .....	52
3.2- 1 Análisis físico de la vaina de guarango .....	76
3.2- 2 Análisis químico de la harina de vaina de guarango.....	76
3.2- 3 Rendimiento porcentual del extracto tánico de la harina de vaina de guarango lixiviada con acetona, agua destilada y etanol, por medio de maceración dinámica .....	76
3.2- 5 Rendimiento porcentual del extracto tánico de la harina de vaina de guarango lixiviada con agua destilada, con diferente relación de materia prima/solvente, por medio de maceración dinámica .....	78

3.2- 6 Rendimiento porcentual del extracto tánico de la harina de vaina de guarango lixiviada con 55 g de harina y 220 mL de agua destilada, por el método de extracción de una etapa, por maceración dinámica.....	78
3.2- 7 pH de las soluciones a temperatura ambiente .....	79
3.2- 8 pH y temperatura de lixiviados en rangos de cinco minutos con agua destilada .	79
3.2-9 Absorbancias de la harina de vaina de guarango y del extracto tánico.....	80
3.2-10 Cantidad de polifenoles totales equivalentes máxicos expresados en ppm de ácido tánico y ácido gálico .....	81
3.2-11 Análisis cuantitativo de taninos en la harina de vaina de guarango y en los extractos tánicos utilizando el método de Folin-Ciocalteu, expresado en 100 g de muestra seca.....	81
3.2-12 Análisis cualitativo de taninos de los extractos tánicos restituidos con agua para las dos muestras de harina de vaina de guarango .....	82
3.2-13 Pruebas colorimétricas para determinar la presencia de taninos en la harina de vaina de guarango y en el extracto tánico, utilizando agua destilada como solvente.....	82
3.2-14 Absorbancias en las muestras hidrolizadas con HCl, NaOH e HCl- NaOH, por el lapso de 20 horas .....	83
3.2-15 Cantidad de polifenoles totales equivalentes máxicos expresados en ppm de ácido gálico.....	84
3.2-16 Análisis cuantitativo de ácido gálico en las muestras hidrolizadas con HCl, NaOH e HCl- NaOH, por el lapso de 20 horas, utilizando el método de Folin-Ciocalteu. ....	84
3.2- 17 Porcentaje de disociación de moléculas de las diferentes hidrólisis .....	84
3.2- 18 Reacciones de caracterización para determinar la presencia de ácido gálico en el extracto gálico.....	85

## ÍNDICE DE GRÁFICOS.

<b>Gráficos</b>	<b>Pp:</b>
2.9.1.4- 1 Peso (X1) Vs Gráfico de los residuales.....	46
2.9.1.4- 2 Volumen (X2) Vs Gráfico de los residuales. ....	47
2.9.1.4- 3 Peso (X1) Vs Curva de regresión ajustada.....	48
2.9.1.4- 4 Peso (X2) Vs Curva de regresión ajustada.....	48
2.9.1.5- 1 pH de maceración Vs Tiempo de maceración.....	53
2.9.1.4.1- 1 Variación de la absorbancia a $\lambda = 750$ nm para diferentes concentraciones de ácido tánico.....	60
2.9.1.4.1- 2 Variación de la absorbancia a $\lambda = 750$ nm para diferentes concentraciones de ácido gálico.....	60



## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS.

<b>Fotografía</b>	<b>Pp:</b>
2.2- 1 Recolección de las vainas.....	33
2.3- 1 Análisis sensorial de la vaina.....	33
2.4- 1 Secado de los frutos.....	34
2.4- 2 Almacenamiento de las vainas en bodegas.....	34
2.4- 3 Golpeteo de las vaina.....	35
2.4- 4 Recolección manual de las semillas.....	35
2.5- 1 Tamizaje de la harina.....	36
2.5- 2 Harina de vaina de guarango de 1 mm.....	36
2.6- 1 Molino de Impacto.....	37
2.6- 2 Harina de guarango generada durante la molienda en el molino de impacto.....	37
2.7- 1 Tamices.....	38
2.7- 2 Harina de guarango generada durante el tamizaje con tamaño de partícula de 0,106 mm.....	38
2.9.1.3- 1 Extracto tánico en reflujo.....	57
2.9.1.3- 2 Filtración del extracto gálico.....	57
2.9.1.3- 3 Envasado del extracto gálico.....	58

## ÍNDICE DE ECUACIONES.

<b>Ecuación</b>	<b>Pp:</b>
1.10.1.6- 1 Porcentaje de rendimiento de extracción.....	20
2.9.1- 1 Regresión multilínea de porcentaje de rendimiento óptimo.....	49
2.9.1- 2 Regresión multilínea de tiempo de maceración óptimo.....	53
3.1.1- 1 Porcentaje de rendimiento porcentual.....	64
3.1.3.1- 1 Sustancia seca en porcentaje de masa.....	65
3.1.3.1- 2 Humedad.....	66
3.1.3.2- 1 Ceniza.....	66
3.1.3.3- 1 Extracto etéreo o grasa total.....	67
3.1.3.4- 1 Carbohidratos.....	68
3.1.4.1- 1 Densidad.....	68
3.1.4.2- 1 Solubilidad.....	69
3.1.5.1- 1 Ecuación de la recta de ácido tánico.....	69
3.1.5.2- 1 Ecuación de la cantidad de polifenoles totales en relación 100 gramos de muestra seca.....	70
3.1.5.3- 1 Ecuación de la recta de ácido gálico.....	70
3.1.5.4- 1 Ecuación de la cantidad de polifenoles totales en relación 100 gramos de muestra seca.....	71
3.1.5.6- 1 Ecuación del porcentaje de disociación de moléculas a partir de las diferentes hidrólisis.....	73
3.1.5.6-2 Ecuación de concentración de iones hidrógeno en la hidrólisis ácida.....	73
3.1.5.6-3 Ecuación de concentración de iones hidroxilos en la hidrólisis básica.....	74
3.1.5.6-4 Ecuación de concentración de iones hidroxilos en la hidrólisis básica.....	74

3.1.5.6-5 Ecuación de concentración de iones hidrógeno en la hidrólisis básica.....	74
--	----

## ÍNDICE DE ANEXOS.

### ANEXOS

- I Análisis de la caracterización fisicoquímica de la harina de vaina de guarango.
- II Cuadro de caracterización fisicoquímica de los frutos (vainas y semillas) del Perú.
- III Análisis cualitativos de taninos: densidad
- IV Análisis cualitativos de taninos: índice de refracción
- V Análisis cualitativos de taninos: pH
- VI Análisis cualitativos de taninos: solubilidad
- VII Pruebas colorimétricas
- VIII Análisis cuantitativo de taninos
- IX Análisis cuantitativos del extracto gálico
- X Tiempo de hidrólisis
- XI Análisis Cualitativos del extracto gálico

## RESUMEN.

La investigación se fundamentó en obtener extracto tánico y extracto gálico, a escala laboratorio, a partir de la harina de la vaina del Guarango (*Caesalpinia spinosa* (Mol) O. Kuntz), en el centro Bioforesta de la Facultad de Recursos Naturales.

Se manejaron los métodos inductivo y experimental. El método inductivo permitió determinar las variables del proceso tanto para la lixiviación de la harina de vaina de guarango como para la obtención de extracto gálico; el método permitió conocer la evaluación de porcentaje de extracto tánico y la concentración de ácido gálico, respectivamente. El método experimental permitió establecer las pruebas preliminares.

La técnica utilizada para llevar a cabo el proceso de lixiviación fue maceración dinámica, que consistió en mantener la harina y el solvente con agitación constante en un equipo de agitación. El solvente utilizado fue agua destilada. Se utilizó tamaño de partícula de harina < 1 mm. La relación materia/prima solvente fue 55 g de harina y 220 mL de agua destilada. El tiempo óptimo de lixiviación utilizado fue 60 minutos, a pH 3,05 y a temperatura ambiente, cuyos datos fueron determinados con un potenciómetro. Después del proceso de lixiviación se procedió a filtrar en un embudo Buncher y a secar el extracto tánico en estufa a una temperatura menor de 60°C; para luego determinar el porcentaje de rendimiento.

Se caracterizó el extracto tánico, reconstituido con agua, determinando índice de refracción, densidad, pH, solubilidad y se determinó que la harina y el extracto tánico contienen taninos de tipo pirogalólicos.

Para determinar el porcentaje de taninos en la harina y en el extracto tánico se utilizó el Método de Folin – Ciolcateu, los resultados fueron calculados a partir de la ecuación de la recta, cuyas ecuaciones fueron obtenidas por las curvas de calibración de ácido tánico y ácido gálico, obteniéndose un porcentaje de taninos de 51,7105 y 54,9605 g ácido tánico / 100 g MS en la harina y en el extracto tánico, respectivamente.

En cambio, para la obtención de extracto gálico se utilizó como materia prima el extracto tánico, el cual fue hidrolizado con hidróxido de sodio y ácido clorhídrico ambas con una concentración 2 Normal y llevado a un equipo de reflujo por el lapso de 20 horas.

Para cuantificar la concentración de ácido gálico presente en el extracto gálico se utilizó el método de Folin – Ciolcateu, los resultados fueron obtenidos a partir de la ecuación de la recta de la curva de calibración de ácido gálico obteniéndose una concentración de 559,33 mg ácido gálico/L y para la identificación de ácido gálico en el extracto se realizó reacciones de caracterización con cianuro de potasio, cloruro férrico, nitrato de plata (caliente) y reactivo de Feeling.

Fue factible obtener extracto tánico y gálico, a escala laboratorio; a partir de la harina de vaina de guarango (*Caesalpinia spinosa* (Mol) O. Kuntz); por lo tanto se realizó una técnica de laboratorio que permitió establecer su proceso de obtención.

Se recomienda que ambos extractos no sean almacenados por más de seis meses, ya que esto afectaría sus características físicas.

## SUMARY

The present research was based on obtaining tannic extract and gallic abstract, on scale laboratory, from the flour of the Guarango's case (*Caesalpinia spinosa* (Mol) O. Kuntz), in Center of Bioforesta at Facultad de Recursos Naturales.

The applied methods were inductive and experimental ones. The experimental method allowed to as much determine the variables of the process for the leaching of the flour of guarango's case like for the the obtaining of gallic extract and the gallic acid concentration, respectively. The experimental method allowed to establish the preliminary tests. The used technique to carry out the leaching process was dynamic maceration, that consisted of maintaining the flour and the solvent with constant agitation in an agitation equipment. The solvent used was distilled water. < 1 mm sized flour particle was used. The relation raw material/solvent was 55 g of flour and 220 mL of distilled water. The optimal time for leaching was 60 minutes to pH 3.05 and room temperature, whose data were determined with a potentiometer. After the leaching process it was come to leak in a Buncher funnel and to dry the tannic extract in stove to a smaller temperature of 60 °C; soon to determine the percentage of yield.

The tannic extract was characterized, reconstituted with water, determining refractive index, density, pH, solubility and it was determined that the flour and the tannic extract contain tannins of pyrogallolic type.

In order to determine the percentage of tannins in flour and in the tannic extract, the Method of Folin – Ciolcateu was used; the results were calculated from the equation of the straight line, whose equations were obtained by the calibration charts of tannic acid and gallic acid, having obtained themselves a percentage of 51.7105 and 54.9605 g of acid tannins/ 100 g MS in the flour and in tannic extract, respectively.

On the other hand, for the obtaining of gallic extract, the tannic abstract was used like raw material, which was hydrolysed with sodium hydroxide and hydrochloric acid, both with a 2 Normal concentration and taken to an equipment of ebb tide by the lapse of 20 hour.

In order to quantify the gallic acid concentration present in the gallic extract the Method of Folin – Ciolcateu was used; the results were obtained from the equation of the straight line from the calibration chart of gallic acid obtaining a concentration of 559.33 mg gallic acid/L and for the gallic acid identification in the extract it was made reactions of characterization with potassium cyanide, ferric chloride, silver nitrate (warm up) and reagent of Feeling.

It was feasible to obtain tannic and Gallic extract, on scale laboratory, from the flour of guarango's case (*Caesalpinia spinosa* (Mol) O. Kuntz); therefore a laboratory technique was made that allowed to establish it is process of obtaining.

It is recommended that both extracts are not stored by more than six months, since this would affect his physical characteristics.

## INTRODUCCIÓN.

En el Ecuador, las investigaciones que se realizan al árbol de guarango (*Caesalpinia spinosa* (Mol) O. Kuntz), han crecido de manera significativa, y debido a la serie de productos que se extrae de él entre otros beneficios simultáneos que brinda, ha sido objeto de numerosos estudios a nivel nacional e internacional.

Actualmente, el guarango es un arbusto muy utilizado; ya que sus vainas poseen un elevado porcentaje de taninos esto indica que se puede obtener extracto tánico y a partir de este, extracto gálico; los mismos que son utilizados en diferentes industrias, pero la industria en los que son más aprovechados es en la del cuero, principalmente para el proceso de curtido.

Los taninos antiguamente eran utilizados como colorantes de pieles y alimentos, son el resultado de la combinación de un fenol y un azúcar. Tienen gusto amargo y suelen acumularse en las raíces, cortezas, frutos y en menor medida en las hojas. Pueden tener varios usos: la precipitación de la gelatina a través de los taninos permite clarificar el vino, así como también la capacidad de precipitar proteínas; esto sirve para el curtido de pieles. En ese sentido, los taninos se intercalan entre las fibras de colágeno, estableciendo uniones que permiten crear una gran resistencia frente al agua y el calor, haciendo que la piel se convierta en cuero.

Esta combinación de los taninos con proteínas de la piel, forman precipitados resistentes a la putrefacción, lo cual priva a las bacterias contaminantes de su sustrato nutritivo. Su poder astringente lo hace apto para la cicatrización de heridas, sobretodo administrado en forma de cataplasmas.

El curtido vegetal es tan antiguo como la historia misma del hombre y es el que emplea sustancias curtientes vegetales, llamadas "taninos".

El curtido vegetal surgió a partir de la observación que puso en evidencia que si una piel cruda se ponía en contacto con la corteza, madera, hojas y frutos de ciertas plantas se manchaba y esas zonas que en principio se creían dañadas, finalmente resultaban favorecidas al quedar indemnes a la putrefacción.

Los taninos son muy numerosos y están muy repartidos en la naturaleza (más de 400 variedades). Se encuentran en cortezas de troncos y ramas, frutos, vainas, hojas, raíces, jugos y madera de ciertos vegetales. La mayor riqueza en cuanto a sustancias curtientes se encuentra en la corteza que cubre las ramas; raramente se puede hallar en las hojas siendo una excepción por ejemplo el zumaque.

También la madera es rica en sustancias curtientes pero sólo en un corto número de árboles; en cambio, hay una serie de frutos que contienen gran cantidad de dichas sustancias. En general, el tanino se encuentra localizado en una sola parte, pero en algunos casos se encuentra simultáneamente en varias partes de la planta.

El presente proyecto de investigación describe la forma de extraer taninos e hidrolizar los mismos para obtener extracto tánico y gálico respectivamente, a partir de la harina de vaina de guarango. Para la extracción de taninos, se aplicó el método de maceración dinámica utilizando agua destilada como solvente, ya que según el estudio realizado, este solvente es económico, fácil de manipular y eficiente para obtener un elevado porcentaje de rendimiento de extracto tánico y de taninos. Posteriormente, para la hidrólisis de taninos; el extracto tánico obtenido fue hidrolizado con NaOH – HCl al ser esta una hidrólisis fuerte ocasiona una disolución completa por parte de sus iones obteniéndose como tal una elevada concentración de ácido gálico.

Se realizó, el análisis físico de los frutos (vainas y semilla) y la caracterización físico - química de la harina de vaina de guarango. Además, se realizó el análisis cualitativo al



extracto obtenido, es decir; se utilizaron las propiedades físico-químicas y reacciones colorimétricas para la identificación de taninos. Estas pruebas resultaron positivas para el extracto. Y finalmente, se realizó el análisis cuantitativo de la harina de vaina de guarango y del extracto utilizando el método de Folin- Ciocalteu obteniéndose un porcentaje de taninos de 51,7105 y 54,9605 g ácido tánico / 100 g MS, respectivamente.

El mismo método de Folin – Ciocalteu fue utilizado para cuantificar ácido gálico en el extracto gálico obteniéndose una concentración de 559,83 mg ácido gálico/L; igualmente se le aplicó reacciones de identificación; cuyas pruebas resultaron positivas para el extracto.

El presente es un estudio que cubre una parte de la línea de investigación que actualmente fomenta la fundación Biorecolte con relación a la temática de extracto curtiembre y gálico a partir del guarango, la misma que se ha realizado atendiendo las necesidades de la Asociación de productores del Guarango del Cantón Guano; para brindar asesoría y apoyo, con el objetivo de darle el mejor uso y manejo al árbol de guarango para obtener un mejor aprovechamiento de los productos del mismo.

## ANTECEDENTES.

La tara, también conocida como "guarango", es una planta nativa de los Andes, utilizada desde la época pre- hispánica en la medicina folklórica o popular y en los años recientes, como materia prima en el mercado mundial de hidrocoloides alimenticios; de nombre científico *CAESALPINIA SPINOSA* o *CAESALPINIA TINCTORIA*. (1).

Ésta especie constituye un árbol multipropósitos, utilizados desde la época pre incaica no solo por su madera para fines de leña y elaboración de instrumentos de labranza o de pesca (remos), sino también para la nutrición (vainas denominadas "huaranga") y para la construcción de sus viviendas.

A nivel geográfico, la planta de guarango se da en tres países andinos: Perú, Bolivia y Ecuador, por considerarse importantes zonas con población natural de árboles de guarango y con mucho potencial para la siembra y explotación de la especie.

Al ser el guarango originaria de Perú y encontrarse también poblaciones de árboles en Ecuador y Bolivia en los valles interandinos y en la vertiente occidental del Pacífico, es una alternativa de desarrollo para los productores ya que tiene dos ventajas: por un lado, genera ingresos económicos por la comercialización de sus frutos a partir del cuarto año de ser plantado y, por otro, al ser una especie forestal ofrece muchas ventajas a nivel ecológico y de conservación de suelos.

En Ecuador se comercializan 84 TM por año, de las cuáles el 75% es comprado por Cobad Export con fines de transformación a polvo de guarango y exportado a España, además de la venta de 1 tonelada mensual a curtiembres industriales de Ambato y Salcedo; el 25% es demandado por curtiembres artesanales y talabarterías de Imbabura y Cotacachi, es usado para curtir cuero y luego producir artesanías y monturas. (2).

En Ecuador, la cadena de producción es incipiente ya que para el acopio existen pocas familias que se involucran, y a nivel de transformación existen pocos actores; hay un transformador y exportador y es más importante el uso del producto a nivel de curtiembres artesanales.

El Guarango proporciona múltiples beneficios directos e indirectos, ya que es una especie excelente para el control de las dunas contrarrestando así al fenómeno de desertificación, permite la fertilización de suelos ya que es un buen fijador del nitrógeno atmosférico y la adición de materia orgánica al suelo por las hojas y vainas que caen, así también por la reducción de la erosión y degradación. (3).

Se estima que para el año 2015 existirá una demanda mundial insatisfecha de harina de vaina de guarango, equivalente a 115,830 t, cultivadas en 35,100 ha. Perú, que es el principal exportador de polvo de guarango a nivel mundial, cubre tan solo el 26% de esta demanda, reflejándose una oportunidad para abastecer este mercado insatisfecho. Esto demuestra el gran potencial que existe para cultivar en nuestro país esta especie. (4)

La cadena en el Ecuador está en su fase inicial de organización a través del Consorcio Nacional de Productores de Guarango (CONAPROG), organización que se compone de cuatro regionales asumidas cada una por una institución facilitadora y promotora: en el norte trabajan con un productor independiente, en Pichincha con la Fundación Desde El Surco, en Riobamba con la Fundación Biorecolte y en Loja con el Consejo Provincial.

## JUSTIFICACIÓN.

La determinación de un procedimiento a escala de laboratorio para la obtención de extracto tánico y extracto gálico a partir de la harina de la vaina de guarango *Caesalpinia spinosa* (Mol) O. Kuntz, se justifica por:

La importancia que tienen el extracto tánico y extracto gálico en la industria de cueros.

- El *Extracto Tánico* por su alto contenido de taninos posee la propiedad de precipitar a las proteínas por lo tanto la piel de los animales se convierte en cuero; así mismo este compuesto le confiere al cuero tratado resistencia, elasticidad e impermeabilidad además que lo preserva debido a sus propiedades antisépticas. (5).
- En el caso del *Extracto Gálico* este actúa como un agente curtidor, es decir; este es un elemento blanqueante o decolorante. (6).

Considerando estos antecedentes, los ácidos que se obtengan serán utilizados en la curtiembre para promover un ambiente sano disminuyendo la utilización del cromo.

Mencionar la necesidad de reconocer que el árbol *Caesalpinia spinosa* (Mol) O. Kuntz, protege el suelo de la erosión y recupera la fertilidad del mismo mediante la fijación de Nitrógeno del aire; por lo tanto fortalece permanentemente el suelo y ofrece la protección de cuencas, en forma simultánea. Éste a su vez se caracteriza por la producción de vainas que poseen un alto contenido de taninos los mismos que pueden ser utilizados por las industrias: alimenticias, de pinturas y de curtiembres.

Los productores al plantar el Guarango tienen dos principales ventajas: por un lado, genera ingresos económicos por la comercialización de sus frutos a partir del cuarto año

y, por otro, al ser una especie arbórea ofrece muchas ventajas a nivel ecológico y de conservación de suelos.

Con los conocimientos y habilidades adquiridos en la Escuela de Ingeniería Química de la Escuela Superior Politécnica De Chimborazo será factible obtener extracto tánico y extracto gálico a escala laboratorio, productos importantes para la curtiembre, lo que permitirá dar el valor agregado a la harina de Guarango, y a la vez promover un ambiente más sano dinamizando su economía.

## OBJETIVOS.

### GENERAL.

Obtener extracto tánico y extracto gálico a escala laboratorio, a partir de la harina de la vaina del Guarango *Caesalpinia spinosa* (Mol) O. Kuntz.

### ESPECÍFICOS.

1. Realizar la respectiva caracterización físico - químico de la harina de vaina de Guarango *Caesalpinia spinosa* (Mol) O. Kuntz, del cantón Guano de la Provincia de Chimborazo.
2. Identificar las variables que intervienen en el proceso de extracción de taninos y extracto gálico.
3. Determinar cualitativamente y cuantitativamente la cantidad de taninos presente en la harina de vaina de Guarango y en el extracto tánico, mediante una *Carta Colorimétrica Para Identificación De Taninos* y por el *Método Folin - Ciocalteo*, respectivamente.
4. Determinar cuantitativamente y cualitativamente mediante el *Método Folin - Ciolcateu* y *reacciones de identificación* la presencia de ácido gálico en el extracto gálico.
5. Normalizar la técnica de laboratorio para la obtención de los diferentes extractos.

## **HIPÓTESIS DE TRABAJO.**

Es posible obtener extracto tánico a partir de la harina de vaina de vaina de guarango

*Caesalpinia spinosa (mol) o. Kuntz.*

## **1. MARCO TEÓRICO.**

### **1.1. TANINOS.**

No existe una definición exacta de tanino, ya que este término abarca las sustancias que poseen ciertas características comunes entre sí. Pero etimológicamente se puede decir que tanino se refiere al poder de curtir pieles de animales y convertirlas en cuero. Fitoquímicamente, taninos son sustancias con propiedades similares a aquellas de los agentes tánicos comerciales, compuestos fenólicos cuyos pesos moleculares se encuentran entre 500 y 3000. Haslam (1966) dice que los taninos de las plantas son polímeros fenólicos complejos que contienen grupos alifáticos e hidroxifenólicos y, en algunos casos, grupos carboxílicos.

El nombre *tanino* se deriva del francés *tanin* y este del germánico *tan*, o *tanna*, que es el nombre con el cual los franceses designaban las cortezas de varios quercus empleadas para el curtido de pieles, según el farmacéutico Andrés Izaguirre (1908). No es fácil emitir una precisa definición de tanino, ya que este término engloba sustancias que están agrupadas químicamente. En todo caso, se define como cualquiera de los principios inmediatos vegetales, terciarios ( $C_{76}, H_{52}, O_{46}$ ). Es una clase de compuestos fenólicos incoloros o amarillo-café. (7)

### **1.2. FORMACIÓN DEL TANINO Y SU ROL EN LOS VEGETALES.**

La formación del tanino en el vegetal estaría ligada a la función clorofiliana: fenómenos de fotosíntesis dependientes de la luz solar, la clorofila y el dióxido de carbono. Se constata en efecto que las partes del vegetal expuestas al sol son las más ricas en tanino. Se admite que los taninos se formarían por una transformación de los sacáridos que



producirían derivados cíclicos, los que sufrirían enseguida condensaciones y oxidaciones variables, pero cuyos detalles no son aún bien conocidos. (8)

### **1.3. FUNCIONES ATRIBUIDAS EN LA PLANTA.**

Dentro de las funciones que desempeñan en la planta, se les atribuye, entre otras, las que a continuación se mencionan:

- Contribuyen a la formación del súber.
- Son imprescindibles en la formación de sustancias vegetales, como aceites esenciales, resinas, lignina, etc.
- Juegan un papel protector, evitando el ataque de insectos y hongos, de allí que se le atribuya propiedades fungicidas y bacteriostáticas.
- Cumplen un papel moderador de los procesos de oxidación y de acciones antifermentos.
- Se le considera sustancias de reserva, y por otro lado, materiales de desecho; en este último caso, luego de proteger a la planta en ciertas etapas del crecimiento, finalmente se destruyen o depositan como producto del metabolismo en ciertos tejidos muertos de la planta madura, como el súber externo, el leño y las agallas.
- Los tubérculos y los troncos ricos en tanino resisten largo tiempo a los fenómenos de putrefacción. En los fenómenos de germinación el tanino parece ser una sustancia de reserva. Parece verdadero que el rol de un mismo tanino puede ser diferente según las condiciones en las cuales se encuentra la célula que lo contiene. (8)

#### **1.4. PROPIEDADES DE LOS TANINOS EN LAS PLANTAS MEDICINALES.**

*Curación de heridas y cuidado de la piel:* Los taninos cumplen una función cicatrizante al acelerar la curación de las heridas y hemostática, al detener el sangrado. La cicatrización se produce por la formación de las costras al unirse las proteínas con los taninos y crear un medio “seco” que impide el desarrollo de las bacterias. Al constreñir los vasos sanguíneos ayudan a la coagulación de la sangre y, por tanto, contribuyen a la curación de las heridas. La milenrama o el llantén, por ejemplo, son dos plantas que se utilizan con esta finalidad. (8)

Entre las numerosas aplicaciones podríamos mencionar:

##### **1.4.1. DETENCIÓN DE LA DIARREA.**

Por su acción astringente, (que contrae los tejidos seca las secreciones) resultan eficaces en el tratamiento de la diarrea, contribuyendo a que el organismo pueda realizar deposiciones más secas. Plantas que se utilizan para esta finalidad muy ricas en taninos son, por ejemplo, el algarrobo, la gayuba, el lentisco o los escaramujos de la rosa canina. (8)

##### **1.4.2. ANTIOXIDANTES.**

Los taninos se consideran antioxidantes por su capacidad para eliminar los radicales libres, previniendo la aparición de numerosas enfermedades degenerativas, entre ellas el cáncer.

Entre las plantas con propiedades antioxidantes muy ricas en taninos tenemos el té verde, el orégano. (8)

##### **1.4.3. ANTIBACTERIANAS.**

La función antibacteriana de los taninos se produce fundamentalmente al privar a los microorganismos del medio apropiado para que puedan desarrollarse. El hipérico

durante mucho tiempo fue llamado hierba militar por su capacidad para curar las heridas y prevenir sus infecciones. Podríamos considerar a esta planta como la penicilina del pasado de ahí que se la ha bautizado con el nombre de hierba de las heridas. La salvia o el aloe, etc. Sería más ejemplos de plantas que se utilizan por su contenido en taninos para que las heridas no se infecten. (8)

#### **1.4.4. ANTÍDOTOS CONTRA LOS VENENOS.**

La capacidad que tienen estos principios de inhibir la absorción de los alimentos en el tubo digestivo es aprovechada, en caso de ingestión de productos venenosos, para impedir que los venenos entren en la corriente sanguínea. El ácido tánico se utiliza como contraveneno para precipitar las sustancias venenosas de los alcaloides y ciertas sales metálicas. Aunque la utilización de este componente por vía interna pueda producir síntomas gastrointestinales desagradables, su acción positiva en la neutralización de los venenos justifica su uso. (8)

#### **1.4.5. COLESTEROL.**

Los taninos reducen el colesterol al inhibir su absorción y expulsarlo a través de las heces. Se ha comprobado una reducción de los niveles de colesterol “malo” (LDL) y triglicéridos y un aumento de “colesterol bueno” (HDL); al ingerir plantas ricas en este componente como la uva o el aceite de oliva. (8)

#### **1.4.6. TOXICIDAD DE LOS TANINOS.**

Las plantas medicinales que contienen taninos, utilizadas medicinalmente en las dosis adecuadas, proporcionan remedios adecuados para el tratamiento de muchas enfermedades. Sin embargo un uso inadecuado de plantas que contienen proporciones inadecuadas de estos componentes resulta tóxica. (8)

### **1.5. PROPIEDADES COMUNES DE LOS TANINOS.**

A pesar de su constitución química muy variable, los taninos presentan un cierto número de propiedades comunes:

- La mayor parte son compuestos incristalizables, de naturaleza coloidal y dotados de propiedades astringentes.
- Son solubles en el agua y el alcohol; sus soluciones acuosas tienen carácter ligeramente ácido.
- Forman con las proteínas combinaciones insolubles e imputrescibles, particularidad que es usada en la industria de curtidos.
- Producen, en contacto con sales de hierro, combinaciones fuertemente coloreadas en azul o verde oscuros y más o menos solubles en agua.
- Sus soluciones son precipitados por muchas sales metálicas (hierro, cobre, plomo, estaño, mercurio, etc.) y forman compuestos pardos con soluciones de bicromato de potasio y ácido crómico.
- Sus soluciones son precipitados por diversas sustancias básicas tales como: colorantes orgánicos básicos, el agua de cal, el agua de barita, los alcaloides, etc.
- Las soluciones de tanino expuestas al aire absorben el oxígeno oxidándose, tomando rápidamente tintes oscuros y perdiendo parcialmente sus cualidades curtientes. La tendencia a la oxidación de los taninos se manifiesta cuando el pH sube por encima de 6. (8)

### **1.6. CARACTERÍSTICAS COMUNES DE LOS TANINOS.**

- Compuestos químicos no cristalizables cuyas soluciones acuosas son coloidales, de reacción ácida y sabor astringente.

- Precipitan con gelatina, albúmina y alcaloides en solución.
- Con sales férricas dan coloraciones negro azuladas o verdosas.
- Producen un color rojo intenso con ferricianuro de potasio y amoniaco.
- Precipitan a las proteínas en solución y se combinan con ellas, haciéndolas resistentes a las enzimas proteolíticas. Esta propiedad, denominada astringencia, fue mencionada anteriormente. (8)

## **1.7. CLASIFICACIÓN DE LOS TANINOS.**

Dado que estos compuestos se han investigado durante más de 100 años, se diseñaron diferentes clasificaciones de acuerdo con el nivel del conocimiento que de éstos se tenía en los diferentes periodos de tiempo. La clasificación de Freudenberg, que actualmente es empleada, tiene su fundamento en el tipo de estructura base del tanino. Es así que los agrupa en dos grandes clases: taninos hidrolizables y taninos condensados. Al igual se describirá la clasificación de los taninos según su origen. (8)

### **1.7.1. TANINOS HIDROLIZABLES PIROGÁLICOS.**

Los extractos tánicos hidrolizables o pirogálicos son aquellos que por hidrólisis en medio ácido y a ebullición forman productos solubles en agua.

Su constitución está caracterizada por el hecho de que el núcleo bencénico está unido al segundo compuesto por intermedio de átomos de oxígeno (OH). (8)

Depositán, habitualmente, ácido elágico (compuesto amarillento, cristalizado y poco soluble en agua) finamente dividido que forma en el fondo de las cubas y eflorescencias en el cuero. Con sales de hierro dan coloración negro-azulada.

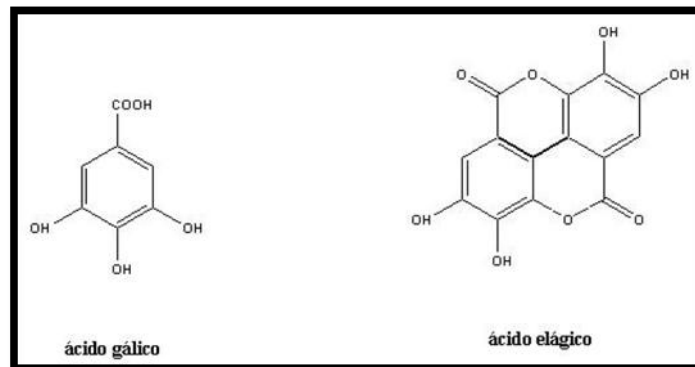
Los extractos tánicos hidrolizables se pueden clasificar en dos grandes grupos:

- Aquellos que forman ácido gálico y glucosa a través de hidrólisis llamados extractos gálicos.
- Aquellos otros que dan ácido elágico y glucosa llamados extractos elágicos. (8)

### 1.7.1.1. CARACTERÍSTICAS DE TANINOS HIDROSOLUBLES O PIROGÁLICOS.

Se hidrolizan con facilidad por la acción de los ácidos, bases o enzimas, en un azúcar, un polialcohol y un ácido fenolcarboxílico. Dependiendo del tipo de ácido que produce por la reacción se subdividen en: galotaninos (ácido gálico) y elagitaninos (ácido elágico o dilactona estable del ácido hexahidroxidifénico)

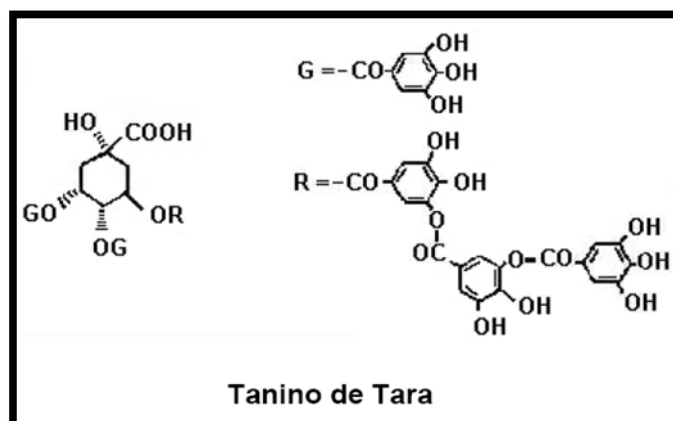
- Los 24 núcleos bencénicos están unidos por medio de átomos de oxígeno
- Dan coloración azul con  $\text{FeCl}_3$ .
- No precipitan con soluciones de Bromo.



**Fig. 1.7.1.1- 1** Taninos Hidrosolubles o Pirogálicos

Como ejemplos de taninos hidrolizables, del subgrupo de galotaninos podemos mencionar al que se obtiene de los frutos de *Caesalpinia spinosa* (nombre común: tara). Este tanino es fácilmente hidrolizable por la acción de la enzima tanasa. Esto permitió asignar la estructura de un éster poligaloílico del ácido químico a dicho tanino, con un

peso molecular aproximado de 800. Es común, también en las agallas del encino y en la raíz del zumaque. Dentro de los elagitaninos, podemos poner como ejemplo al corilagin, primer tanino aislado de este tipo, de *Caesalpinia coriarea* (nombre común: divi-divi) y *Terminalia chebula* (nombre común: mirabolano). (8)



**Fig. 1.7.1.1- 2** Estructura de tanino de Tara.

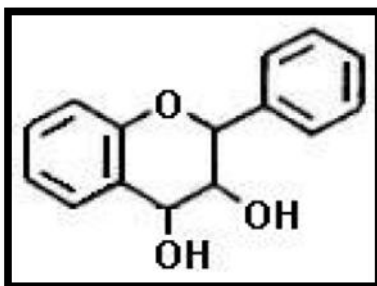
### 1.7.2. TANINOS NO HIDROSOLUBLES O CONDENSADOS.

Los extractos condensados o catequínicos que en las mismas condiciones forman precipitados. Sus núcleos constituyentes están reunidos entre sí con intervención de átomos de carbono. Se les llama catequínicos porque sometidos a destilación seca, casi todos, dan pirocatequina. Los taninos condensados son polímeros de flavan-3,4-dioles.

Los taninos condensados presentes en leguminosas tropicales se encuentran en tres formas principales: (a) extractables (reactivos con proteína), (b) ligados a proteína, y (c) ligados a fibra. Existen leguminosas donde todos los taninos son extractables (e.g. *Acacia boliviana*) y en otras donde todos son ligados (e.g. *Gliricidia sepium*).

Por otra parte, se ha demostrado que el secado de una muestra puede afectar la distribución de taninos en el tejido de una planta. Por ejemplo, se ha observado que en

varias leguminosas secadas al horno (60 °C) hubo una reducción de taninos extractables y un aumento de taninos ligados en comparación con muestras liofilizadas. (8)



**Fig. 1.7.2- 1** Estructura de Flavan- 3,4-diol

### **1.7.2.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS TANINOS CONDENSADOS.**

- Son derivados de unidades de flavan-3,4-dioles (leucoantocianidinas o proantocianidinas monómeras), conocidos actualmente también como proantocianidinas condensadas.
- Al ser tratados con ácidos en caliente, se origina una polimerización progresiva hasta dar taninos amorfos, llamados flobafenos o taninos rojos.
- En ellos, los núcleos bencénicos están unidos por átomos de carbono (por ejemplo C-4 a C-8, C-4 a C-6).
- Dan coloración verde con  $\text{FeCl}_3$ .
- Precipitan con soluciones de bromo.

Ejemplo de este tipo de taninos los encontramos en la corteza de mimosa (*Acacia mollissima Willd*), en la madera de quebracho (*Schinopsis lorenzii, Engl.*), en la corteza de mangle (*Rhizophora mangle*), en las hojas de lentisco (*Pistacia lentiscus*), en la madera del castaño (*Castanca sativa*), entre otros. (8)



## **1.8. CLASIFICACIÓN DE LOS TANINOS POR SU ORIGEN.**

Según Wagner, por el origen se dividen en:

- **Taninos fisiológicos.**

Son el resultado de las funciones metabólicas de la planta, es decir, que se encuentran normalmente en las plantas.

- **Taninos patológicos.**

Son una respuesta al ataque de insectos, ya sea por ovoposición o por picadura. (7)

## **1.9. COMPUESTOS FENÓLICOS.**

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, considerados metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y actividad, englobando más de 8.000 compuestos distintos.

Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias químicas que poseen un anillo aromático, un anillo benceno, con uno o más grupos hidróxidos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.). La naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos.

Se presentan en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque en algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático. Por ello la forma más común de encontrarlos en la naturaleza es en forma de glicósidos, siendo solubles en agua y solventes orgánicos. Los azúcares asociados a los polifenoles pueden ser monosacáridos, disacáridos o incluso oligosacáridos.

Los compuestos a los que se encuentran unidos con más frecuencia son: glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, y ácidos glucurónico y galacturónico. También pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y a otros compuestos fenólicos. (9)

## **1.10. CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENOLÍTICOS.**

La cuantificación e identificación de los componentes difenólicos de la dieta ha despertado un gran interés por su importancia nutricional, lo que ha hecho que cada día sean más los datos que se pueden encontrar en la bibliografía científica sobre el perfil fenólico de los alimentos. Además, la gran diversidad de compuestos fenólicos dispersos en los tejidos vegetales, así como sus fenólicos en materiales vegetales, así como sus diferentes estructuras químicas, ha traído consigo la necesidad de desarrollar un gran número de técnicas analíticas para su identificación y cuantificación.

Las primeras técnicas desarrolladas fueron técnicas espectrofotométricas, que si bien tienen interés desde el punto de vista del control de calidad, no aportan la suficiente información desde un punto de vista nutricional, por lo que ha sido necesario recurrir a técnicas más precisas, como las cromatografías, que permitan la identificación individualizada de cada uno de los polifenoles de interés nutricional. (9).

### **1.10.1. TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS.**

Las técnicas cromatográficas han permitido la separación, aislamiento, purificación e identificación de compuestos fenólicos, así como el estudio de la interacción entre los polifenoles y otros componentes de los alimentos. Las técnicas de cromatografía en papel y en capa fina, son empleadas para la purificación y aislamiento de compuestos fenólicos en los alimentos, sobre todo para la determinación de ácidos fenólicos. (9)

### **1.10.2. ENSAYOS ULTRAVIOLETAS.**

Numerosos estudios se han realizado para desarrollar técnicas rápidas de cuantificación de compuestos fenólicos mediante ensayos ultravioletas. Cada grupo de compuestos fenólicos se caracteriza por tener una o varias absorbancias máximas a distintas longitudes de onda dentro del espectro ultravioleta. Así, los fenoles simples tienen una absorbancia máxima entre 220 y 280 nm, mientras que los compuestos fenólicos relacionados presentan una amplia variación en la longitud de onda a la cual presentan una absorbancia máxima. Una de las técnicas más empleadas dentro de este grupo es la determinación del ácido clorogénico, el cual es cuantificado tras su extracción con alcohol etílico y posterior lectura de la absorbancia máxima a una longitud de onda de 325-328 nm. (9).

### **1.10.3. TÉCNICAS ESPECTROFOTOMÉTRICAS.**

Numerosos métodos espectrofotométricos han sido desarrollados para la determinación del contenido de compuestos fenólicos en materiales vegetales.

Estos métodos pueden cuantificar todos los compuestos fenólicos extraíbles como grupo 16-18 o pueden determinar una sustancia fenólica específica como la sinapina 19 o el ácido sinápico, o una clase determinada de compuestos fenólicos como los ácidos fenólicos. Entre este tipo de técnicas, los métodos usados comúnmente para determinar polifenoles en alimentos destacan el ensayo de la vainillina para la determinación de compuestos flavan-3-ol, dihidrocalconas y proantocianidinas que tienen una unión simple en la posición 2,3 y poseen grupos metahidroxilares libres en el anillo B Y los ensayos de Folin-Denis y Folin-Ciocalteu para la cuantificación de polifenoles totales en alimentos vegetales y en bebidas. (9).

### **1.10.3.1. MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE TANINOS POR EL MÉTODO DE FOLIN- CIOCALTEU.**

El método usado comúnmente para determinar y cuantificar fenoles totales en alimentos y vegetales es el ensayo de Folin-Ciocalteu.

El método de Folin-Ciocalteu se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico – fosfotúngstico. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico – fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno ( $W_8O_{23}$ ) y molibdeno ( $Mo_8O_{23}$ ), siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula. (10).

El contenido de fenoles es expresado en mg/g de peso seco de la muestra a ser analizada, la absorbancia se determina a 760 nm y se compara con una curva de calibración realizada con ácido gálico, de ahí que se utiliza el término “Unidades de ácido gálico equivalentes por gramo de extracto o materia vegetal desecada”.

### **1.11. DESCRIPCIÓN DE EXTRACTOS CURTIENTES VEGETALES.**

Los extractos curtientes vegetales (líquidos, sólidos, polvo) se extraen con agua y posteriormente son concentrados. Es muy importante considerar la naturaleza del agua empleada, pues el contenido de sales puede influir en su calidad y propiedades. Sus características se pueden determinar mediante el análisis tánico que nos permitirá obtener los porcentajes de humedad, sustancias insolubles, no taninos, taninos y los valores de pH, acidez y sales.

Las soluciones de extractos curtientes en general tienen un porcentaje más o menos elevado de sustancias insolubles en agua que se pueden encontrar en forma de

suspensión o precipitado, que pueden proceder de la materia vegetal misma, formarse en su proceso de extracción o durante la fabricación del cuero. Cuando provienen de la materia vegetal extraída son taninos de un grado de polimerización elevado y no pueden mantenerse en suspensión por el efecto peptizante de los otros componentes del extracto.

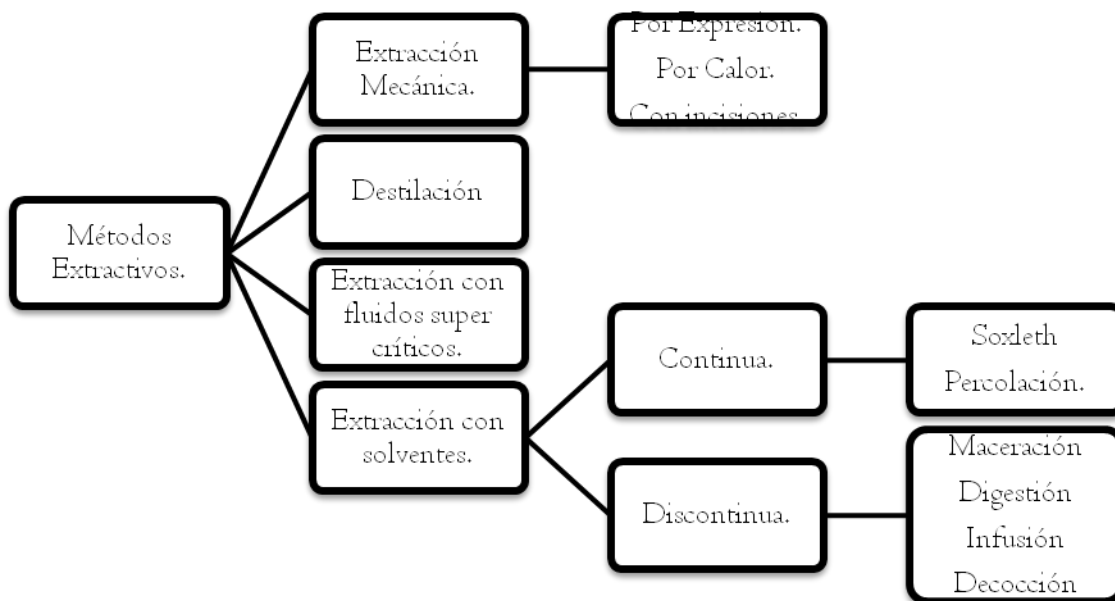
El componente fundamental de los extractos curtientes es el tanino que es capaz de transformar las pieles en cuero. Los taninos son compuestos polifenólicos de gran complejidad que pueden tener composiciones y estructuras muy diferentes dependiendo de su procedencia.

En los extractos tánicos, junto a los taninos, se encuentran sustancias no curtientes las que se han separado de los vegetales durante el proceso de extracción. Estas materias, llamadas no taninos, están constituidas por hidratos de carbono de diverso tipo, ácidos orgánicos, fenoles simples que no alcanzaron la magnitud molecular de los taninos, sales contenidas en el tejido vegetal y las provenientes del agua que se utiliza para su extracción, proteínas y compuestos de lignina. Entre estos no taninos hay sustancias que no son absorbidas por la piel, pero que durante el proceso de curtición pueden evolucionar y transformarse por polimerización en verdaderos taninos. Los no taninos intervienen activamente en el curtido porque los azúcares por fermentación de los ácidos y su aumento modifican la relación de ácido a sal. (8).

## **1.12. MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE EXTRACTOS TANINOS.**

### **1.12.1. MÉTODOS EXTRACTIVOS.**

En el esquema de la figura 1.12.1-1 se muestra la clasificación de los métodos extractivos conocidos, de los cuales, la extracción por Soxhlet y la maceración son los más utilizados en la industria química y farmacéutica.



**Fig. 1. 12.1- 1** Clasificación de los métodos de obtención de los extractos taninos.

### 1.12.1.1. EXTRACCIÓN MECÁNICA.

Esta técnica permite obtener los principios activos disueltos en los fluidos propios del material vegetal, los cuales una vez extraídos se denominan jugo. La extracción mecánica se puede realizar: por expresión, la cual consiste en ejercer una presión sobre el material vegetal exprimiéndolo; por calor y mediante incisiones por las que fluyen los exudados de la planta. (10)

### 1.12.1.2. DESTILACIÓN.

Esta técnica se basa en la diferente volatilidad de los principios activos de la planta, lo cual permite la separación de los componentes volátiles, como son los aceites esenciales, por ejemplo, de otros que son menos o nada volátiles.

Se suelen hacer destilaciones por arrastre de vapor o hidrodestilaciones. Generalmente, se utiliza la destilación por arrastre de vapor que consiste en colocar la muestra en un

alambique y someterla a una corriente de vapor saturado o sobrecalentado. La esencia, así arrastrada, es posteriormente condensada, recolectada y separada por diferencia de densidad de la fracción acuosa. (10)

#### **1.12.1.3. EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS.**

Un fluido supercrítico es una sustancia, mezcla o elemento que, mediante operaciones mecánicas, se sitúa por encima de su punto crítico. En estas condiciones presenta un gran poder disolvente y una enorme capacidad de penetración en sólidos, lo que permite el agotamiento rápido, y prácticamente, total del material crudo. Los gases más utilizados son el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y el butano (C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>).

El proceso consiste en colocar el material molido en una cámara de acero inoxidable y hacer circular, a través de la muestra, un fluido en estado supercrítico. Los principios activos son así solubilizados y arrastrados por el mismo, luego es separado modificando la presión o la temperatura.

Finalmente, se obtiene un extracto y un solvente que puede ser reciclado. Aunque esta técnica presenta muchas ventajas como alta selectividad, altos rendimientos, baja contaminación y fácil y sencilla eliminación del gas extractor, el equipo requerido es costoso. Comercialmente, se la utiliza en la descafeinización del café y del té y en la extracción y/o refinamiento de distintos productos naturales. (10)

#### **1.12.1.4. EXTRACCIÓN CON SOLVENTES.**

Consiste en la separación de los principios activos de la planta al ponerla en contacto con un solvente o la mezcla de ellos, capaz de solubilizar dichos principios. Estos deben pasar de la planta al disolvente de manera que se obtenga un extracto líquido y un residuo.

La extracción con solventes es una de las técnicas que se emplea con mas frecuencia para la obtención de principios activos. Para que se lleve a cabo correctamente se deben considerar los siguientes factores: Las características del material vegetal (secado y tamaño de la partícula), la naturaleza del solvente, la temperatura de agitación, la relación sólido- líquido, el tiempo de extracción y el control de la difusión celular (renovación del solvente).

Los métodos de extracción con solventes se dividen en dos grupos:

- Las Extracciones Continuas.
- Las Extracciones Discontinuas. (10)

#### **1.12.1.5. EXTRACCIÓN CONTINUA O PROGRESIVA.**

En la extracción continua, el solvente se va renovando o recirculando y actúa sobre la planta en una sola dirección. Son métodos que consisten en mantener en todo momento el desequilibrio entre la concentración de principio activo en la planta y en el solvente para que se produzca la difusión celular. Mediante estos procedimientos se puede llegar a la extracción prácticamente completa de los principios activos de las plantas. La percolación, la repercolación y el soxhlet, son los métodos que pertenecen a este grupo y se describe a continuación.

##### *a) Percolación*

La percolación comprende una etapa preliminar de humedecimiento, seguida por la extracción exhaustiva de los principios activos de la planta, que consiste en colocar el material vegetal en una columna, con un flujo permanente de solvente, que ingresa por la parte superior y atraviesa la zona donde se encuentra la planta y se mantiene un gradiente de concentración que permite extraer sus principios activos.



La calidad del extracto, obtenido por percolación, depende del grado de finura del material vegetal, de la velocidad de difusión de las sustancias activas desde la planta al disolvente y de la velocidad de flujo del disolvente, que puede ser lenta (1 mL/min), moderada (1-3 mL/min) o rápida (3-5 mL/min).

*b) Repercolación.*

La percolación simple presenta, como desventaja, el alto consumo de solvente. Por esta razón, en condiciones industriales, es preferible usar la repercolación que consiste en hacer recircular el mismo solvente a través del material vegetal. Este procedimiento aumenta la eficiencia del proceso.

*c) Soxhlet.*

Se realiza en un aparato Soxhlet, que consta de un refrigerante, un cuerpo extractor y un balón. En el balón se lleva a ebullición el solvente, sus vapores ascienden hasta el refrigerante, donde condensan. El condensado cae sobre la muestra, generalmente contenido en un cartucho y colocada previamente en el cuerpo extractor, y la macera hasta que el cuerpo extractor se llena y el extracto sifonea por el tubo material, para desembocar en el balón evaporador. Esta operación se repite sucesivamente, con lo que el solvente se va reciclando y los principios activos se van concentrando en el balón inferior. (10)

#### **1.12.1.6. EXTRACCIÓN DISCONTINUA.**

En la extracción discontinua, la totalidad del material vegetal se sumerge en el solvente y contacta con este, por lo que la difusión de los principios activos se producirá en todas las direcciones hasta alcanzar el equilibrio entre la concentración del solvente y el residuo. La maceración, la digestión, la infusión y la decocción son los métodos que pertenecen a este grupo y se describe a continuación.

a) Maceración.

La maceración simple o estática consiste en poner el material crudo, con el grado de finura prescrito, en contacto con el solvente, en recipientes o equipos cerrado, protegidos de la luz solar, a temperatura ambiente y por un tiempo que puede variar entre horas o varios días entre maceración. Se realizan agitaciones ocasionales. La principal desventaja es la lentitud del proceso.

Posteriormente, el extracto es filtrado y la torta lavada con el mismo solvente para luego ser prensada o centrifugada, con el objeto de recuperar la parte del extracto retenido en la misma.

Los solventes más utilizados en la maceración son: agua, glicerina o mezclas hidroalcohólicas.

Para disminuir el tiempo de operación, el material vegetal y el solvente deben mantenerse en movimiento constante. Este procedimiento es conocido como maceración dinámica.

Los equipos para la maceración estática ya no se usan a escala industrial y han sido sustituidos por los equipos con agitación, la misma que se realiza con un agitador interno o por el giro completo del recipiente.

La maceración depende de factores relacionados con el material vegetal, como por ejemplo, su naturaleza y la de sus principios activos, el tamaño de partícula, su contenido de humedad y cantidad, y factores que están relacionados con el solvente, como por ejemplo, la selectividad y la cantidad.

Una desventaja del proceso de maceración corresponde al hecho de que no es posible alcanzar la extracción completa del material crudo. Para mejorar el rendimiento de extracción es habitual realizar otra maceración con la torta de filtración.

El porcentaje de rendimiento de extracción se calcula así:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{gramos secos de extracto obtenidos de lixiviación}}{\text{gramos de harina a lixiviar}} \times 100$$

Ec. 1.10.1.6- 1

*b) Digestión*

Es una forma de maceración, pero en esta se trabaja a temperaturas más elevadas, lo que aumenta el poder disolvente. Si el solvente empieza a volatilizarse, se adapta un condensador al balón donde se efectúa la digestión para que el solvente pueda usarse continuamente.

*c) Infusión.*

Este método se aplica a las partes blandas de la planta (hojas, flores). Consiste en sumergir el material vegetal molido en agua a una temperatura próxima a la de ebullición o menor, durante 1 o 2 minutos, hasta un tiempo máximo de 30 minutos después de lo cual se filtra. El extracto debe emplearse en un lapso no mayor a un día.

*d) Decocción.*

El material vegetal se pone en contacto con agua, y el conjunto se lleva a ebullición, la misma que se mantiene durante 5 a 30 minutos, hasta un máximo de 30 minutos. Generalmente, se aplica este método a partes leñosas de la planta y el tiempo de decocción depende de las características de dichas partes. (10)

### **1.13. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA EXTRACCIÓN DE TANINOS.**

Hay cuatro factores importantes a considerar:

- ***Tamaño de partícula.***

El tamaño de las partículas afecta a la extracción de diversas maneras. Cuanto más pequeño es el tamaño, mayor es el área de contacto entre sólido y el líquido y, por tanto, más elevada es la velocidad de transferencia de material. Además, menor es la distancia que debe recorrer el soluto por el interior del sólido. Por otra parte, la superficie puede no ser utilizada de una forma totalmente eficaz con un material muy fino, si se dificulta la circulación del líquido, siendo más difíciles la separación de las partículas del líquido y el escurrido del residuo sólido. Generalmente es aconsejable que la gama de partícula sea pequeña, de forma que cada partícula requiera aproximadamente el mismo tiempo para la extracción, y, en particular, debe evitarse la producción de gran cantidad de material fino, ya que éste puede alojarse en los intersticios de las partículas mayores impidiendo así el flujo del disolvente.

- ***Solvente.***

El líquido escogido debe ser un buen solvente selectivo, con una viscosidad suficientemente baja para que pueda circular con facilidad. En general se utilizará inicialmente un solvente relativamente puro, pero a medida que la extracción vaya teniendo lugar la concentración de soluto aumentará y la velocidad de extracción disminuirá progresivamente, en primer lugar debido a la disminución del gradiente de concentración, y en segundo lugar porque la disolución aumentará generalmente su viscosidad. El solvente utilizado debe ser eficaz y económico, generando mayores rendimientos a un bajo costo.

- ***Temperatura.***

En la mayor parte de los casos, la solubilidad del material que se está extrayendo aumentará con la temperatura ocasionando una mayor velocidad de extracción. Además, es de esperar que el coeficiente de difusión aumente al elevarse la temperatura mejorándose también así dicha velocidad. En algunos casos, el límite superior de temperatura está determinado por consideraciones secundarias, como por ejemplo en el caso de la extracción de taninos una elevada temperatura ocasionaría la pérdida de taninos y por lo tanto la precipitación de sustancias no tánicas en la extracción.

- ***Agitación del fluido.***

La agitación del solvente es importante ya que aumenta la difusión de remolino, incrementando por lo tanto la transferencia de material desde la superficie de las partículas hacia la masa de la disolución. Además, la agitación de las suspensiones de pequeñas partículas evita la sedimentación, y hace que se utilice de una forma más eficaz la superficie de contacto. (11)

#### **1.14. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO CURTIENTE.**

Para la obtención de un extracto curtiente se requieren numerosas operaciones:

**Reducción del tamaño de su partícula.** Se tritura para aumentar su superficie y que la extracción sea más eficaz.

**Extracción:** En las fábricas de extractos se utilizan tinajas para la extracción, las cuales son en general de madera, modernamente de acero inoxidable y de una forma tronco-cónica para facilitar la salida del material extraído. Para facilitar la extracción se utiliza agua de condensación templada o caliente dependiendo del tanino que se trate y un principio a contracorriente. La extracción puede realizarse en cubas abiertas o en

autoclave donde se trabaja con una temperatura superior a los 100°C. En el primero de los casos se obtendrá un extracto de mejor calidad, color más claro e índice de pureza relación tanino/no tanino mayor pero con un rendimiento inferior al otro sistema que al trabajar con elevadas temperaturas disuelve no sólo los taninos sino otros elementos no curtientes que no se disuelven a temperaturas menores oscureciendo su color.

**Clarificación:** Saliendo de la extracción las soluciones tienen de 2° a 4° Bé y una temperatura de aproximadamente 80-90°C. Son soluciones límpidas pero durante el enfriamiento se enturbian y dejan decantar sustancias insolubles en frío. Si fueran enviadas directamente a la concentración, darían extractos ricos en materias insolubles y de color intenso, llamados extractos brutos.

**Concentración:** Las soluciones obtenidas en la extracción tienen alrededor de 10-15% de sólidos y es necesario concentrarlo en un 50%.

**Tratamientos químicos:** Modificándose el equilibrio entre la acidez y el contenido salido de un extracto vegetal curtiente se pueden obtener curtientes con propiedades diferentes. Por ejemplo, el extracto de castaño se dulcifica con sulfito sódico que tiene una acción reductora, amoníaco concentrado para modificar el pH del tanino y mejorar su poder de penetración y bisulfito sódico para disminuir el color del extracto. La dulcificación permite obtener un cuero mucho más claro que antes. La sulfitación del extracto de quebracho da soluciones solubles en agua fría, transparentes a temperatura ambiente y que son relativamente poco astringentes.

**Secado:** Después de los tratamientos químicos los licores tánicos pasan a concentradores de vacío dejándolos en una humedad del 15-20%. Otro sistema es a través de la atomización que nos permite lograr un extracto con una humedad de alrededor de 4-6%. (8)

### **1.15. EXTRACTOS CURTIENTES COMERCIALES.**

**Extracto de pino (*Pinus pinea* L.),** de gran astringencia, da al cuero un color rojizo.

**Extracto de encina (*Quercus ilex*),** da cueros firmes de color pardo amarillento.

**Extracto de zumaque (*Rhus typhina*),** es un extracto suave que penetra rápidamente en la piel, da cuero de tacto suave y flexible y de color muy claro.

**Extracto de valonia (*Valonia utricularis*),** de gran astringencia da cueros de color amarillento bastante impermeables.

**Extracto de castaño (*Castanea sativa* Miller),** de astringencia elevada, da cueros firmes de color avellana. Este extracto es el más sólido a la luz.

**Extracto de mimosa (*Acacia dealbata*),** fácilmente soluble en agua, da cueros flexibles de color beige amarillento.

**Extracto de quebracho (*Aspidosperma quebracho blanco*),** natural da cueros firmes, solubles en frío por bisulfitación da cueros más flexibles y suaves.

**Extractos de lignina.** En el tratamiento de maderas con sulfitos y bisulfitos para la obtención de la pasta del papel se logran grandes cantidades de compuestos lignosulfónicos solubles que luego son purificadas con tratamientos químicos y desecadas por atomización. Los ácidos lignosulfónicos se fijan bien sobre el colágeno pero no tienen propiedades curtientes, se aplican como auxiliares retardando la fijación del tanino, facilitando la dispersión de los sedimentos y mejorando su difusión en los taninos. (8)

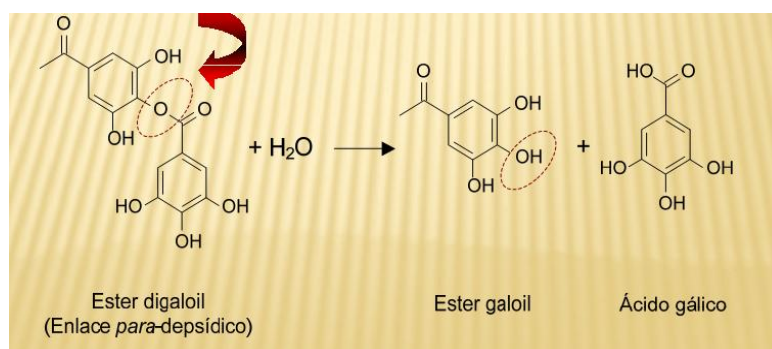
## 1.16. HIDRÓLISIS DE TANINOS.

La *Caesalpinia spinosa* (Mol) O. Kuntz, en su estructura posee dos tipos de enlaces: *depsídicos* y *estéricos*.

La hidrólisis de taninos termina por fragmentar estos enlaces convirtiendo los galotaninos en glucosa y ácido gálico, este resultado se conoce como extracto gálico.

Existen tres tipos de hidrólisis para taninos:

- Hidrólisis ácida: Se basa en la ebullición prolongada del extracto tánico con soluciones ácidas generalmente fuertes, la más utilizada es HCl.
- Hidrólisis básica: Se basa en la ebullición prolongada del extracto tánico con soluciones básicas generalmente fuertes, la más utilizada es NaOH.
- Hidrólisis ácida - básica: Al igual que los casos anteriores, se basa en la ebullición prolongada del extracto tánico en combinación con soluciones ácidas-básicas generalmente fuertes, las más utilizadas son NaOH y HCl. En este caso, los átomos se disocian por completo, es decir, la totalidad de los iones  $H^+$  u  $OH^-$  están en forma libre, y su concentración dependerá de la concentración del ácido o de la base de donde provienen. Este tipo de hidrólisis, destruye completamente los dos enlaces. (12)



**Fig. 1.16- 1** Hidrólisis de taninos



## **1.17. DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE A ESTUDIAR.**

### **1.17.1. GUARANGO. (*Caesalpinia spinosa* (Mol) O. Kuntz).**

Es una planta arbórea, nativa de los Andes, perenne y perteneciente a la familia de las *Caesalpinaceas*, (dentro del grupo de las Leguminosas). Es conocida también como Tara o Taya en Perú, Campeche, vinillo o guarango en Ecuador. (13)

El guarango es una especie arbórea con amplia adaptación en los valles secos de la Sierra, alcanza una altura de hasta 12 metros en su estado adulto y su diámetro supera los 40 cm. a la altura del pecho.

Su tronco es de una madera dura y está provisto de una corteza gris espinosa y agrietada, con ramillas densamente pobladas cuando no se poda. La copa es irregular, aparasolada, densa y con ramas repartidas irregularmente. (13)

Las hojas son compuestas y acopladas en un eje del tipo paripinada; las flores son irregulares de color amarillo-rojizo dispuestas en racimos de 8-15 cm. de largo; el fruto es una vaina de color variado desde el verde a un tono marrón rojizo de acuerdo al estado de madurez; las semillas son ovoides y ligeramente aplanadas de color café oscuro, los frutos y las semillas constituyen la parte aprovechable del árbol. (13)

### **1.17.2. NOMENCLATURA BOTÁNICA.**

**Especie botánica:** *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze.

**División:** Magnoliophyta (Angiospermae).

**Clase:** Magnoliópsida (Dicotiledoneae).

**Sub-clase:** V Rosidae.

**Familia:** Cesalpinaceae.

**Género:** Caesalpinia.

**Especie:** *Caesalpinia spinosa* o *C. tinctoria*.

Etimología: Caesalpinia, en honor a de Andrea Caesalpini (1524-1603), botánico y filósofo italiano; spinosa, del latín spinosus-a-um, con espinas. (14)

### **1.17.3. ORIGEN GEOGRÁFICO.**

Se distribuye entre los 4° y 32° Sur, abarcando diversas zonas áridas, en Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia hasta el norte de Chile. (15)

Perú es de todos, quien presenta mayor presencia de *Caesalpinia spinosa* (guarango), siendo en su mayoría silvestre. (16)

### **1.17.4. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.**

En Ecuador el guarango se encuentra distribuido en un rango altitudinal de entre 1500 a 2800 m.s.n.m., pero su mejor adaptación está entre los 1800 y 2500 m.s.n.m. Se desarrolla muy bien en lugares con una precipitación anual de 400 a 800 mm. (13)

Es una especie poco exigente en cuanto a suelos, se adapta fácilmente a suelos pedregosos y degradados, siendo los mejores para su desarrollo los suelos francos arenosos. La temperatura ambiental requerida para el desarrollo del cultivo es de 16 a 20°C y no tolera humedades relativas superiores al 80%. (13)

### **1.17.5. CONSTITUYENTES QUÍMICOS: TANINOS DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa* (Mol) O. Kuntz).**

Las vainas de guarango (*Caesalpinia spinosa* (Mol) O. Kuntz) contienen entre 50 a 60 % de taninos hidrolizables del tipo galotaninos y en muy baja proporción los elagitaninos.

Para muchos galotaninos, el poliol central es la glucosa, en otros puede ser el glucitol, hamamelosa (derivada de la ribosa) ácido sikimico, quínico y quercitol.

Los taninos de las vainas de guarango (*Caesalpinia Spinosa* (Mol) O. Kuntz) se componen esencialmente de los ésteres polidigaloílicos de ácido quínico.

Los taninos del guarango (*Caesalpinia Spinosa* (Mol) O. Kuntz) pueden ser divididos en tres grupos:

- Ácidos mono-, di-, tri-, y tetragaloilquínico, los que no tienen enlaces depsídicos;
- Despidos relacionados a la estructura 3,4,5-trigaloil, considerados como los mayores componentes de los taninos de guarango (*Caesalpinia Spinosa* (Mol) O. Kuntz) y
- Despidos relacionados al ácido 1,3,4,5-tetragaloilquínico.

La estructura de galotaninos de guarango (*Caesalpinia spinosa* (Mol) O. Kuntz) fue detallada por Clifford y Bouchet (2007),

- Ácido 4-galoil-5-(digaloil)quínico,
- Ácido 5-galoil-4-(digaloil)quínico,
- ácido 3-(digaloil)-4,5-digaloilquínico,
- Ácido 4-(digaloil)-3,5-digaloilquínico,
- Ácido 5-(digaloil)-3,4-digaloilquínico, y
- Ácido 1,3,4-trigaloilquínico.

Los galotaninos de guarango (*Caesalpinia Spinosa* (Mol) O. Kuntz) ácido 1,3-digaloilquínico y ácido 1,3,4- trigaloilquínico son de naturaleza hidrófila. (14)

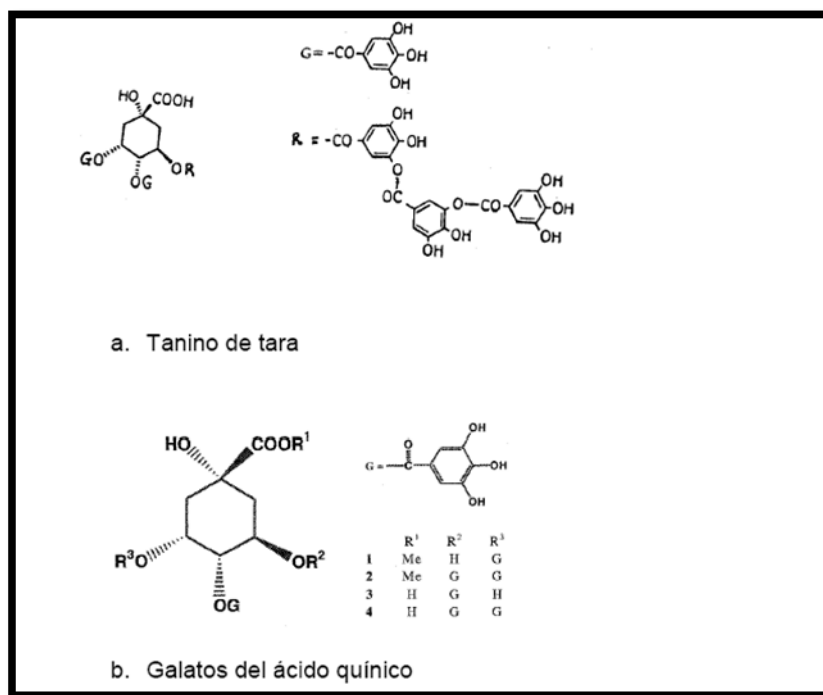


Fig. 1.17.5- 1 Estructura parcial del tanino de tara (a), de los galatos del ácido quínico (b)

### 1.17.6. APROVECHAMIENTO INTEGRAL DEL GUARANGO.

El guarango se encuentra al estado silvestre y poseen un inmenso potencial médico, alimenticio e industrial, siendo de gran utilidad para la producción de hidrocoloides o gomas, taninos y ácido gálico, entre otros.

Además, es utilizada en la protección de suelos, especialmente cuando no se dispone de agua de riego, a fin de dar buena protección a muchas tierras que hoy están en proceso de erosión y con fines comerciales.

Se usa frecuentemente en asociación con cultivos como el maíz, papa, habas, alfalfa o pastos. No ejerce mucha competencia con los cultivos, por su raíz pivotante y profunda y por ser una especie fijadora de nitrógeno; así como tampoco por su copa, que no es muy densa y deja pasar la luz.

El aprovechamiento de los frutos permite obtener numerosos productos de interés. La vaina representa el 62% del peso de los frutos y es la que precisamente posee la mayor

concentración de taninos, que oscila entre 40 y 60%. Estos taninos se utilizan en la industria para la fabricación de diversos productos, o en forma directa en el curtido de cueros, fabricación de plásticos y adhesivos, galvanizado y galvanoplásticos, conservación de aparejos de pesca de condición bactericida y fungicida, como clarificador de vinos, como sustituto de la malta para dar cuerpo a la cerveza, en la industria farmacéutica por tener un amplio uso terapéutico, para la protección de metales, cosmetología, perforación petrolífera, industria del caucho, mantenimiento de pozos de petróleo y como parte de las pinturas dándole una acción anticorrosivo.

Otro elemento que se obtiene de los taninos del guarango, es el ácido gálico, que es utilizado como antioxidante en la industria del aceite, en la industria cervecera como un elemento blanqueante o decolorante, en fotografía, tintes, como agente curtiembre, manufactura del papel, en productos de farmacia y otros relacionados al grabado y litografía. (3)

#### **1.17.7. USOS DEL GUARANGO.**

El Guarango posee potencial médico, alimenticio e industrial.

- Medicinal: Actúa contra la amigdalitis al hacer gárgaras con la infusión de las vainas maduras y como cicatrizante cuando se lavan heridas con dicha infusión.
- Tinte: Las vainas del Guarango contienen tanino, usado para teñir.
- Curtiente: Se le emplea en el curtido de cueros.
- Cosmético: La cocción de las hojas evita la caída del cabello.
- Agroforestería: Se usa como cerco vivo y para el manejo de rebrotes.
- Plaguicida: El agua de la cocción de las vainas usado contra insectos.

- Licores: El guarango precipita sustancias albuminoides por lo que se usa para clarificar la cerveza y vinos. (3)

## **2. PARTE EXPERIMENTAL.**

### **2.1. LOCALIZACIÓN.**

#### **a) LOCALIZACIÓN DE MATERIA PRIMA.**

La harina de vaina de guarango fue proporcionada por el Centro Bioforesta de La Facultad de Recursos Naturales de La ESPOCH.

#### **b) LOCALIZACIÓN EXPERIMENTAL.**

La parte experimental de la investigación se realizó en las siguientes instalaciones:

- 1.** Laboratorio de Química Industrial y laboratorio de Química Instrumental de la Escuela de Ingeniería Química de la Facultad de Ciencias.
- 2.** Centro Bioforesta de La Facultad de Recursos Naturales.

Ambas dependencias ubicadas en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

### **2.2. RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA.**

La muestra se obtuvo de diferentes árboles de guarango, provenientes del cantón Guano.

La obtención de taninos provenientes de los frutos (vainas y semillas) de guarango se inicia con la recolección de los frutos en los mismos lugares en que estos se desarrollan.

Cada productor recolecta el fruto golpeando suavemente, provocando la caída de la vaina madura, en la parte inferior del árbol se coloca un sarán el cual ayuda en la recolección, además si la vaina no ha sufrido deterioro se recolecta del suelo.

La recolección se efectúa con cuidado ya que deben fijarse que el material recogido presente una fase de madurez justa, es decir, cuando la riqueza en tanino llega al máximo.



Fotografía 2.2- 1 Recolección de las vainas.

### **2.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE LAS VAINAS.**

Se realizó la caracterización física de las vainas recolectadas, con el fin de conocer el peso, diámetro, largo, espesor y color. La vaina se preparó como se describe a continuación:

Del material recolectado, se tomaron 20 muestras, se limpiaron y se procedió a pesar en la balanza y a tomar medidas con la ayuda de un calibrador. Posteriormente, se realizó el análisis sensorial para determinar el color general de la vaina.



Fotografía 2.3- 1 Análisis sensorial de la vaina



## 2.4. PREPARACIÓN DE LAS VAINAS.

Una vez recolectadas las vainas se procede a almacenar en bodegas evitando el contacto directo con el suelo y exposición a las lluvias pero quedando expuestas al aire. Para impedir la formación de mohos y la fermentación, los productores colocan los frutos en un patio en donde se procede a secar al sol.



Fotografía 2.4- 1 Secado de los frutos.



Fotografía 2.4- 2 Almacenamiento de las vainas en bodegas.

A continuación, se procede a golpear con palo las vainas para poder romper y separar las semillas las cuales se recolectan de forma manual. (La harina esta formada únicamente por las vainas del guarango).



Fotografía 2.4- 1 Golpeteo de las vainas



Fotografía 2.4- 2 Recolección manual de las semillas.

Las vainas semi-trituradas son molidas manualmente con el fin de poder reducir el tamaño de la partícula.

## 2.5. TAMAÑO DE PARTÍCULA.

La harina de vaina de guarango entregada por el centro Bioforesta presenta un tamaño de partícula de 1 mm, el cual es un tamaño de partícula muy grueso de acuerdo a USP, y al ser un tamaño muy grueso dificulta la extracción del tanino.



Fotografía 2.5- 1 Tamizaje de la harina.



Fotografía 2.5- 2 Harina de vaina de guarango de 1 mm.

Por lo tanto, se procedió a realizar una nueva molienda y tamizaje con la ayuda de un molino de impacto y tamiz vibratorio, respectivamente.

## 2.6. MOLIENDA DE LA HARINA.

Se coloca la materia prima en el molino de impacto con un tamiz de tamaño de partícula de 1 mm.



Fotografía 2.6- 1 Molino de Impacto.



Fotografía 2.6- 2 Harina de guarango generada durante la molienda en el molino de impacto.

## 2.7. TAMIZAJE DE LA HARINA.

Se coloca la materia prima molida que pase de un tamiz de tamaño de 150  $\mu\text{m}$  para ser retenida en un tamiz de tamaño de 106  $\mu\text{m}$ . Obteniendo un tamaño de partícula de 0,106 mm.



Fotografía 2.7- 1 Tamices.



Fotografía 2.7- 2 Harina de guarango generada durante el tamizaje con tamaño de partícula de 0,106 mm.

## **2.8. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LA HARINA DE VAINA DE GUARANGO.**

Se realizó la caracterización físico-química de la harina, determinándose el contenido de humedad, ceniza, proteína, fibra bruta, extracto etéreo y carbohidratos. Dichos análisis se realizaron en colaboración con el Laboratorio de Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos Saqmic, ubicado en la ciudad de Riobamba.

## **2.9. OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE TANINOS Y DE EXTRACTO GÁLICO.**

### **2.9.1. DISEÑO EXPERIMENTAL.**

Se evaluó el porcentaje de extracto tánico en el guarango (*Caesalpinea Spinosa*) (*Mol.*) *O. Kuntz*, dicho extracto se obtuvo de la vaina del mismo, utilizando para ello el método de extracción con maceración dinámica utilizando tres tipos de solventes: agua destilada, acetona y etanol. Se trabajó con agua destilada ya que es un solvente de bajo costo y fácil de adquirir; se requirió de 16 muestras diferentes, cuyas muestras consistían en x cantidad de harina y en x cantidad de solvente para cada intervalo.

Se aplicó análisis estadístico (regresión multilínea) con el objeto de conocer y corroborar cuál es la relación materia prima/ solvente, que se debe macerar para obtener un elevado porcentaje de rendimiento de extracto tánico.

Una vez conocida, la relación materia prima/solvente, se procedió a determinar la temperatura, pH y tiempo de maceración óptimos. Se tomó experimentalmente la temperatura y pH durante la maceración en rangos de cinco minutos. Igual que el caso anterior se aplicó análisis estadístico (regresión multilínea) con el objeto de conocer y corroborar cuál es la temperatura y pH, a la que se debe macerar para obtener un tiempo

óptimo. Posteriormente, se estableció el método de extracción, utilizando para ello la técnica de extracciones de varias etapas y la técnica de extracción de una sola etapa, obteniéndose un mejor resultado con la técnica de una sola etapa.

Establecidos todos los parámetros, se procedió a la extracción de los taninos del guarango, realizándose 2 repeticiones para lograr confiabilidad en los resultados.

Los extractos tánicos obtenidos fueron analizados cualitativa y cuantitativamente; aplicando las propiedades físico – químicas correspondientes a los taninos y utilizando el método de Folin-Ciocalteu, respectivamente. Realizándose 2 repeticiones para el análisis cualitativo y 3 para el cuantitativo.

Para determinar la certeza de los resultados de porcentajes de tanino en las muestras de extracto tánico obtenidos por el método de Folin – Ciocalteu que se detalla más adelante, se comparó con los datos de la tesis titulada *“Determinación de los micronichos que albergan guarango en la sierra ecuatoriana y evaluación como fungicida”*, dicho dato se utilizó como estándar, ya que el dato de porcentaje de tanino ya era conocido, y así poder comparar los resultados obtenidos con los métodos cuantitativos y los datos que ya se tenían del tanino de guarango.

Para el extracto gálico, se evaluó la concentración de ácido gálico; utilizando para ello tres tipos de hidrólisis: ácida con HCl, básica con NaOH y ácida-básica con HCl e NaOH. Se escogió una hidrólisis ácida – básica, debido a que se obtiene una mayor concentración de ácido gálico.

El tiempo de hidrólisis y la concentración de las soluciones, se tomó del estudio de investigación titulado *“Obtención y caracterización de taninos hidrolizables de la tara (Caesalpinia spinosa) y evaluación de su eficacia antioxidantes en carnes y aceites vegetales”*.

Una vez establecidas, las variables se procedió a realizar la extracción gálica a partir del extracto tánico, realizándose 2 repeticiones para lograr confiabilidad en los resultados.

Los extractos gálicos obtenidos fueron analizados cualitativa y cuantitativamente mediante reacciones de identificación y por método de Folin – Ciolcateu, respectivamente.

#### **2.9.1.1. VARIABLES EXPERIMENTALES.**

Las variables de proceso de experimento fueron seleccionadas con base en trabajos de investigación de taninos del guarango, de varios autores y en pruebas preliminares.

*En la maceración las variables fueron:* el solvente de extracción (acetona, agua destilada y etanol), % de rendimiento (relación materia prima/solvente), tiempo de maceración (min), temperatura, pH y método de extracción.

*En la hidrólisis la variable principal fue:* el tipo de hidrólisis (ácida, básica e ácida – básica).

##### **a) SOLVENTE DE EXTRACCIÓN.**

De acuerdo al estudio de investigación titulado “*Obtención y caracterización de taninos hidrolizables de la tara (Caesalpinia spinosa) y evaluación de su eficacia antioxidantes en carnes y aceites vegetales*” detalla que para la extracción de taninos del guarango, se utilizaron tres tipos de solventes: acetona, agua destilada y etanol.

Con estos antecedentes se procedió a realizar la extracción de taninos con los solventes anteriormente mencionados de los cuales; el solvente que presentó un mejor porcentaje de rendimiento y de extracción de taninos fue la acetona, seguida de agua destilada y finalmente el etanol.



Se escogió como solvente de extracción agua destilada ya que es de bajo costo, fácil de manipular y de adquirir.

#### **b) % DE RENDIMIENTO (relación materia prima/solvente)**

Puesto que se escogió como medio de solvente de extracción agua destilada se procedió a conocer cuál es el porcentaje de rendimiento óptimo, para lo cual se requirió 15 muestras diferentes, tomando dichas muestras de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80 g de harina y tomando 20, 30, 50, 70, 90, 100, 120, 150, 170, 200, 220, 250, 270, 300, 320, 350 ml de agua destilada para cada intervalo. La cantidad de solvente que se tomó como criterio para cada una de las muestras, es que la cantidad debe ser necesaria, es decir; debe cubrir en su totalidad a la materia prima. Si se coloca cantidad insuficiente de solvente ocasionaría una mezcla incompleta ya que la materia prima no se mezclaría con el solvente y viceversa; por el contrario una relación de solvente mayor resultaría una solución muy diluida.

#### **- Análisis Estadístico.**

El análisis estadístico, permitió conocer y comprobar cual es el % de rendimiento óptimo e ideal de extracto tánico que se debe obtener, tomando en cuenta como variables conocidas, la relación de materia prima/solvente.

#### **- Variable de respuesta.**

La variable medida en el desarrollo de este procedimiento es la siguiente:

Porcentaje de rendimiento de extracto tánico obtenido de cada muestra.

#### **- Análisis estadístico. (Regresión lineal y multilínea).**

A los datos obtenidos experimentalmente, se les aplicó una regresión (tendencia) lineal con dos variables conocidas pues por medio de esta regresión y analizando los cuadros obtenidos en la misma se logró obtener el modelo necesario que permite optimizar el % de rendimiento, partiendo de 16 muestras diferentes.

- ***Regresión (tendencia) lineal.***

En un inicio del estudio estadístico se comenzó a utilizar regresión lineal, pero a medida que se desarrollaba el análisis, se presentaron diversos inconvenientes; se observó que tanto el coeficiente de determinación, como el de correlación múltiple y el de determinación ajustado, arrojaban valores distantes de la cota, cuyo valor es de 1. Estos valores se vieron afectados debido a que se tomaron las variables conocidas por separado.

Los resultados de las variables conocidas por separado se indican a continuación:

**Tabla 2.9.1- 1**

**Estadística de regresión lineal individual en relación con volumen y peso.**

<b>Estadísticas de la regresión</b>	<b>Volumen</b>	<b>Peso</b>
Coeficiente de correlación múltiple	0,83607492	0,87576667
Coeficiente de determinación R <sup>2</sup>	0,69902127	0,76696726
R <sup>2</sup> ajustado	0,67752279	0,75032207
Error típico	4,88494487	4,29833471

- **Regresión (tendencia) lineal con dos variables conocidas(multilineal):**

Por lo demostrado anteriormente, se procedió a realizar el análisis estadístico por tendencia lineal tomando las dos variables conocidas en conjunto, de la tabla 2.9.1-2:

**Tabla 2.9.1- 2**

**Datos de variables desconocidas y de respuesta en relación con el % de rendimiento óptimo.**

<b>Peso (X<sub>1</sub>)</b>	<b>Volumen (X<sub>2</sub>)</b>	<b>% Rendimiento (Y)</b>
5	20	29,580
10	30	36,034
15	50	40,000
20	70	46,840
25	90	48,240
30	100	48,046
35	120	52,594
40	150	54,058
45	170	54,336
50	200	56,166
55	220	58,924
60	250	54,437
65	270	56,923
70	300	56,140

75	320	58,901
80	350	56,358

**Tabla 2.9.1- 3**

**Estadística de regresión multilínea en relación con el % de rendimiento óptimo.**

<b>Estadísticas de la regresión</b>	
Coeficiente de correlación múltiple	0,971436932
Coeficiente de determinación R <sup>2</sup>	0,943689712
R <sup>2</sup> ajustado	0,935026591
Error típico	2,19269374

Como se puede observar los datos obtenidos tienden mas rápidamente al valor de 1, por lo que se concluye que el modelo obtenido es estable y por lo tanto favorece el ajuste.

También se puede manifestar que los parámetros indicados del modelo y el modelo global resultan significativos al 95% tomados en los datos iniciales, esto podemos afirmar ya que los valores probabilísticas son menores que 0,05 y también el valor de F es mayor que su valor crítico.

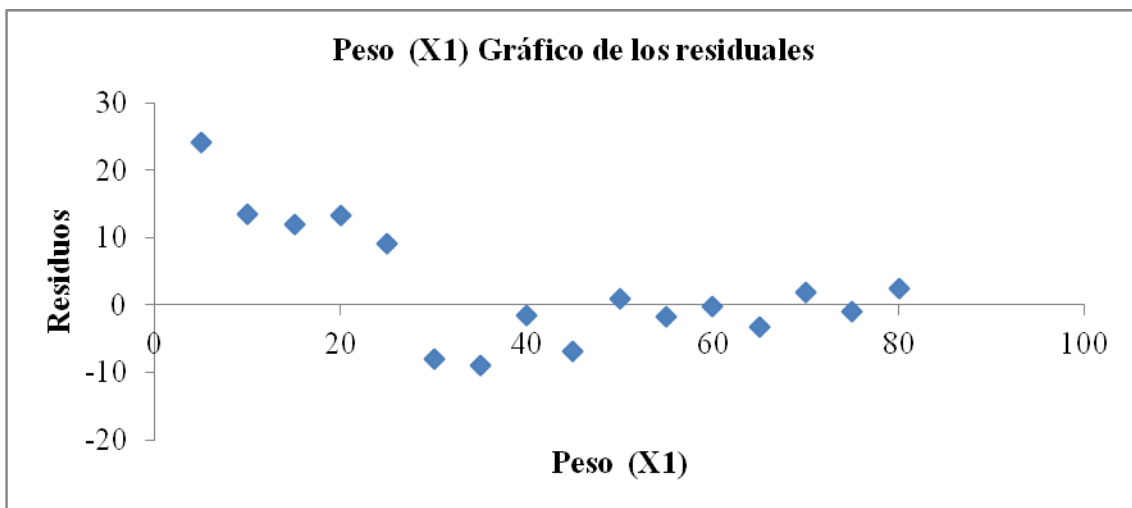
**Tabla 2.9.1- 4**

**Resultados de probabilidad, F y su valor crítico en relación con el % de rendimiento óptimo.**

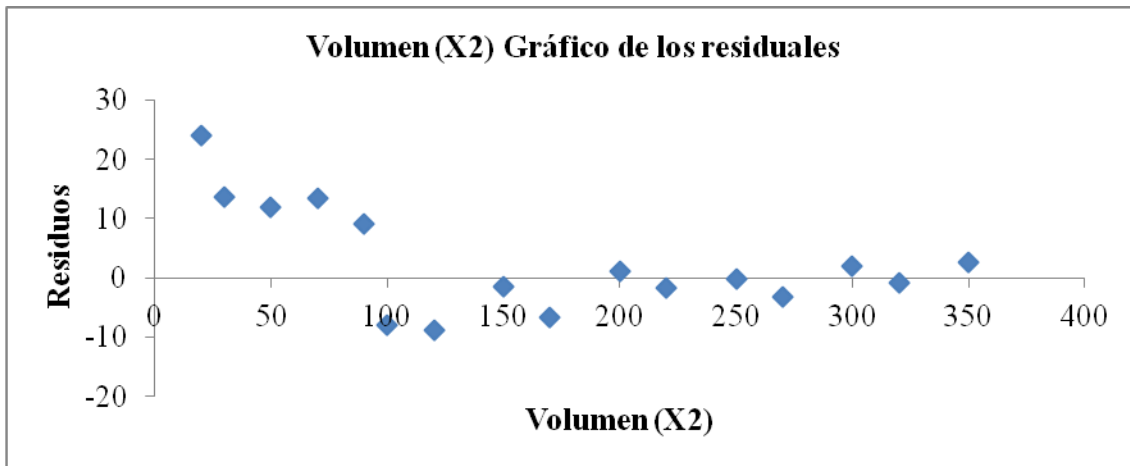
<b>Probabilidad</b>	<b>F</b>	<b>Valor crítico de F</b>
3,9669E-10	108,931838	7,5652E-09
4,4003E-06		
2,3904E-05		

*En lo referente a los gráficos:*

Se observan que los gráficos variable  $X_1$  vs residuos y la variable  $X_2$  vs residuos, presentan no aleatoriedad lo que implica que existe autocorrelación es decir que existe una serie de datos progresivos, también estadísticamente tenemos heteroscedasticidad es decir se observan datos dispersos.



**Gráfico 2.9.1.4- 1 Peso (X1) Vs Gráfico de los residuales.**

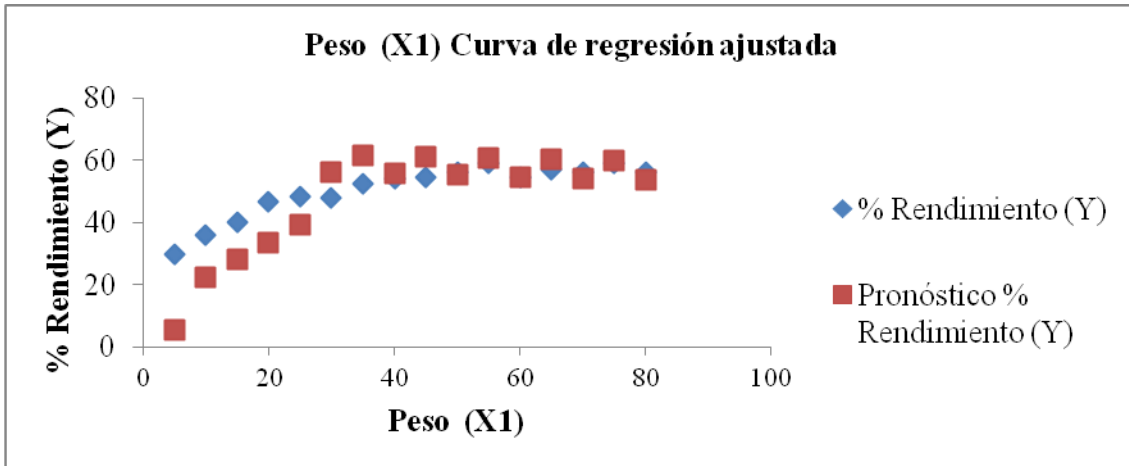


**Gráfico 2.9.1.4- 2 Volumen (X2) Vs Gráfico de los residuales.**

Para los gráficos de ajuste con las variables independientes  $X_1$  y  $X_2$ , estadísticamente se observa que coinciden; por lo tanto son correctos.

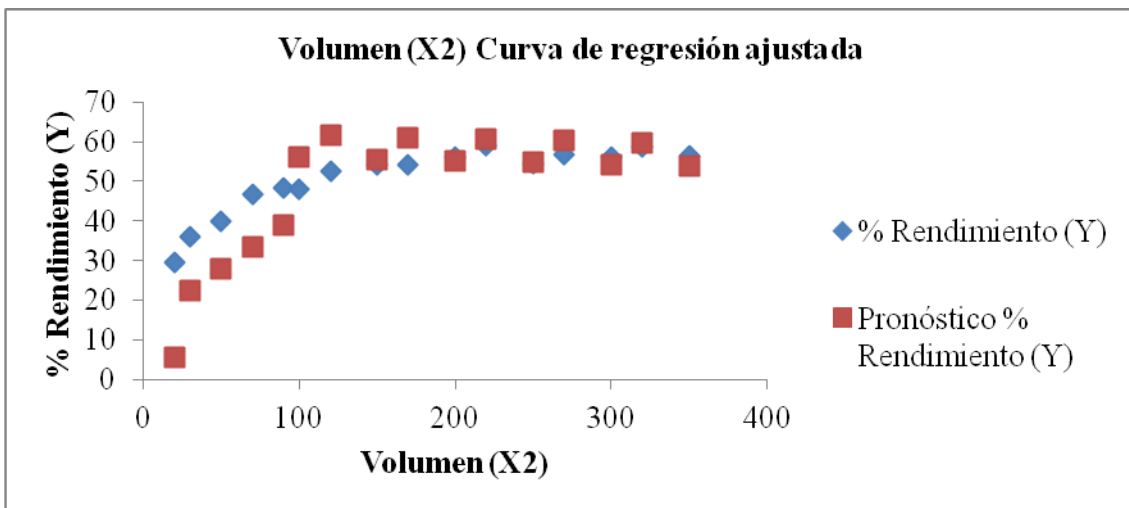
También se puede observar que a medida que la cantidad de peso y volumen aumenta, el porcentaje de rendimiento también lo hace, pero de manera paulatina. Ambas gráficas no son lineales pero se observan que las curvas son crecientes.

- En el gráfico 2.9.1.4-3 se observa que desde el punto 5 y 25 hay un ascenso constante del % de rendimiento, en el punto 30 se muestra un pequeño declive sin embargo en los puntos subsiguientes hasta el punto 55 presenta un ascenso considerable pero a partir del punto 60 existe ya un descenso paulatino del % de rendimiento.



**Gráfico 2.9.1.4- 3 Peso (X1) Vs Curva de regresión ajustada.**

- En el gráfico 2.9.1.4-4 se observa que desde el punto 20 y 90 hay un ascenso constante del % de rendimiento, en el punto 100 se muestra un pequeño declive sin embargo en los puntos subsiguientes hasta el punto 220 presenta un ascenso considerable pero a partir del punto 250 existe ya un descenso paulatino del % de rendimiento.



**Gráfico 2.9.1.4- 4 Peso (X2) Vs Curva de regresión ajustada.**

En conclusión, los puntos 55 y 220 de las gráficas 2.9.1.4-3 y 2.9.1.4-4, respectivamente; son puntos cruciales ya que a partir de estos se logra obtener un

porcentaje de rendimiento elevado. También se concluye que en ambos gráficos presentan una curva constante hasta el punto 55 y 220, en este caso estos dos puntos indican que son puntos máximos y que a partir de estos se observa un descenso paulatino del % de rendimiento., es decir el % de rendimiento en cierto punto alcanza un valor elevado; sin embargo después de haber alcanzado el valor elevado, el % de rendimiento disminuye considerablemente.

Posteriormente, se da a conocer la ecuación obtenida en la regresión multilínea la cual es:

$$Y = 28,7432403 + 2,06420883 X_1 - 0,38965945 X_2$$

Ec. 2.9.1- 1

**Donde:**

**Y** = % Rendimiento.

**X<sub>1</sub>** = Peso. (g)

**X<sub>2</sub>** = Volumen. (mL)

Esta ecuación nos permite predecir cual es el rendimiento óptimo con las variables  $X_1$  y  $X_2$  conocidas.

Por lo tanto, la cantidad de peso que se debe tomar es 55 g de harina de vaina de guarango y el volumen con el que se debe macerar es de 220 ml de agua destilada, pues como se observó anteriormente se obtiene un % de rendimiento óptimo; lo cual se corrobora si se aplica formalmente la ecuación del modelo obtenido.

Vale indicar que el estudio estadístico no está aplicado para conocer el porcentaje elevado de taninos ya que de acuerdo al estudio de investigación titulado “*Obtención y*



*caracterización de taninos hidrolizables de la tara (Caesalpinia spinosa) y evaluación de su eficacia antioxidantes en carnes y aceites vegetales*”, manifiesta que la cantidad de taninos extraídos va ha ser igual para cada intervalo de relación materia prima/solvente, es decir; que cualquier cantidad de harina y de solvente que sea llevado a maceración no afecta de manera significativa en el porcentaje de taninos.

**c) TEMPERATURA, TIEMPO, Y pH DE MACERACIÓN.**

Para conocer la temperatura, tiempo y pH de maceración óptimo para la extracción de taninos, se tomó experimentalmente la temperatura y pH durante la maceración en rangos de cinco minutos.

Al igual que en el caso anterior se aplicó *análisis estadístico*, a los datos obtenidos experimentalmente, se les aplicó una regresión (tendencia) lineal con dos variables conocidas por lo que se logró obtener el modelo necesario que permite optimizar la temperatura de maceración, tomando las dos variables conocidas en conjunto, de la tabla 2.9.1-5:

**Tabla 2.9.1- 5**

**Datos de variables desconocidas y de respuesta en relación con la temperatura y pH de maceración.**

<b>Temperatura (X<sub>1</sub>)</b>	<b>pH (X<sub>2</sub>)</b>	<b>Tiempo</b>
18	3,21	0
18	3,18	5
18	3,13	10
18	3,1	15
18	3,07	20

18	3,03	25
18	3	30
19	2,99	35
19	2,97	40
19	2,96	45
20	2,99	50
20	2,99	55
20	3,05	60
20	3,02	65
20	3,02	70
20	3,02	75
20	3,02	80
20	3,02	85
20	3,02	90
20	3,02	95

**Tabla 2.9.1- 6**

**Estadística de regresión multilínea en relación con la temperatura y pH de maceración.**

<b>Estadísticas de la regresión</b>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,976126144
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup>	0,952822249

R <sup>2</sup> ajustado	0,894645707
Error típico	12,72186688

Como se puede observar los datos obtenidos tienden mas rápidamente al valor de 1, por lo que se concluye que el modelo obtenido es estable y por lo tanto favorece el ajuste.

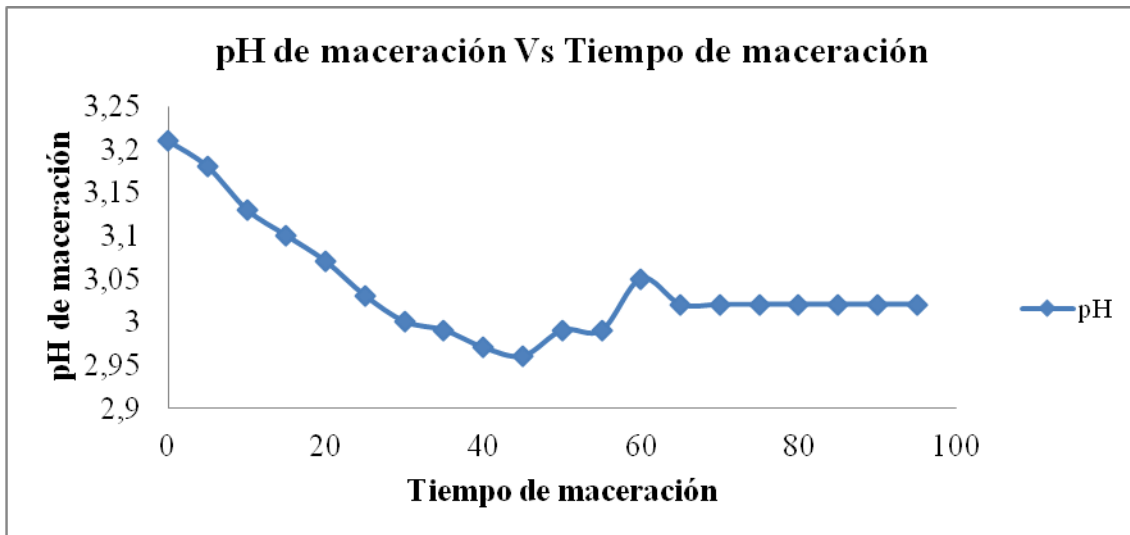
También se puede manifestar que los parámetros indicados del modelo y el modelo global resultan significativos al 95% tomados en los datos iniciales, esto podemos afirmar ya que los valores probabilísticas son menores que 0,05 y también el valor de F es mayor que su valor crítico.

**Tabla 2.9.1- 7**

**Resultados de probabilidad, F y su valor crítico en relación con la temperatura y pH de maceración.**

<b>Probabilidad</b>	<b>F</b>	<b>Valor crítico de F</b>
2,1296E-08	181,767888	3,3532E-12
1,2156E-07		

En la gráfica 2.9.1.5-1, se observa que hasta el punto que corresponde a un tiempo de 60 minutos presenta un pH constante; esto quiere decir que el tiempo de maceración que se debe realizar para obtener un extracto tánico óptimo es de 60 minutos a maceración constante, con pH de 3,05.



**Gráfica 2.9.1.5- 1 pH de maceración Vs Tiempo de maceración**

A lo que se refiere a la temperatura, no se presentó ningún inconveniente ya que el equipo que se dispuso para la extracción de taninos no posee una plancha de calentamiento, sencillamente es un equipo que macera a temperatura ambiente; sin embargo se tomó la temperatura. Reportando una temperatura de 20 °C.

Posteriormente, se da a conocer la ecuación obtenida en la regresión multilínea la cual es:

$$Y = 22,5695754 \cdot X_1 - 126,511332 \cdot X_2$$

Ec. 2.9.1- 2

**Donde:**

**Y** = Tiempo (min).

**X<sub>1</sub>** = Temperatura. (°C)

**X<sub>2</sub>** = pH

Esta ecuación nos permite predecir cuál es el tiempo de maceración óptimo con las variables  $X_1$  y  $X_2$  conocidas.

Por lo tanto, de acuerdo a la gráfica y al análisis estadístico se concluye; que para llevar a cabo una extracción óptima de taninos se debe macerar constantemente por el periodo de 60 min, con pH de 3,05; a una temperatura de 20°C.

#### **d) MÉTODO DE EXTRACCIÓN.**

Para conocer que método de extracción fue eficaz se realizó el análisis experimental comparando el porcentaje de rendimiento entre el método de extracción de varias etapas y el de una etapa. Obteniéndose un mayor porcentaje de rendimiento a partir de la extracción de una etapa.

Por lo tanto, para la extracción de tanino se escogió un método de extracción de una etapa.

#### **e) TIPO DE HIDRÓLISIS.**

Para la obtención de extracto gálico se empleó tres tipos de hidrólisis: ácida con HCl, básica con NaOH y una mezcla ácido – base con HCl e NaOH, las tres hidrólisis son factibles sin embargo se escogió la que presentó una mayor concentración de ácido gálico. En este caso se escogió una hidrólisis ácida – básica.

#### **2.9.1.2. PROCESO DE OBTENCIÓN DE EXTRACTO TÁNICO.**

El método de extracción fue una maceración dinámica, que consistió en mantener la harina y el solvente en agitación constante.

**a)** Pesar 55 g de harina de vaina de guarango y medir 220 mL de agua destilada.



Fotografía 2.9.1.2- 1 Pesado de harina de guarango.

**b)** Colocar ambas muestras en un erlenmeyer de 500 mL y llevar a maceración constante, durante 60 minutos; a temperatura ambiente.



Fotografía 2.9.1.2- 2 Maceración constante de la muestra.

**c)** Filtrar el extracto obtenido con una manta y al vacío. Llevar el material soluble a una bandeja de porcelana y evaporar en un secador eléctrico. El extracto debe ser evaporado a una temperatura menor de 70 °C.



Fotografía 2.9.1.2- 3 Evaporación del extracto.

d) El extracto sólido obtenido es almacenado en frascos de color ámbar, para posteriormente proceder a realizar el análisis cualitativo y cuantitativo de taninos.



Fotografía 2.9.1.2- 4 Extracto tánico sólido.

### **2.9.1.3. PROCESO DE OBTENCIÓN DE EXTRACTO GÁLICO.**

Para la obtención de extracto gálico se realizó una hidrólisis ácida – básica.

a) Colocar 50 g de extracto tánico en un balón aforado de 250 mL. Adicionar sobre el extracto 100 mL de NaOH 2N. Llevar a reflujo por 1 hora. Dejar enfriar el equipo.



Fotografía 2.9.1.3- 1 Extracto tánico en reflujo.

**b)** Adicionar sobre el refrigerante 100 mL de HCl 2N. Llevar nuevamente a reflujo por veinte horas.

**c)** Transcurrido las horas el extracto gálico se filtra y es almacenado en frascos de vidrio de color ámbar, para posteriormente proceder a realizar el análisis cualitativo y cuantitativo.



Fotografía 2.9.1.3- 2 Filtración del extracto gálico.





Fotografía 2.9.1.3- 3 Envasado del extracto gálico.

#### **2.9.1.4. ANÁLISIS REALIZADOS.**

##### **2.9.1.4.1. ANÁLISIS CUANTITATIVOS.**

Está se realizó en el Laboratorio de Química Instrumental de la Escuela de Ingeniería Química de la Facultad de Ciencias, según el método de Pérez – Jiménez y Sauracalixto, 2005. Este procedimiento se basa en la reducción del complejo fosfowolframato – fosfomolibdato en productos azules por compuestos fenólicos. El proceso realizado se divide en tres fases principales que se describen a continuación:

##### **a) Elaboración del extracto acuoso de la harina de vaina de guarango.**

- Pesar 0,4 g de harina de vaina de guarango.
- Añadir 70 mL de agua destilada.
- La solución es sometida a calentamiento a 60 °C durante 10 minutos, para extraer las sustancias tánicas, una temperatura mayor provocaría la extracción de sustancias no tánicas.
- El extracto es filtrado en algodón para eliminar las partículas más gruesas, la solución resultante se afora a 100 mL con agua destilada.

- Por último, se pasó la solución resultante por papel filtro para retener los sólidos suspendidos.

#### **b) Determinación de la concentración de taninos.**

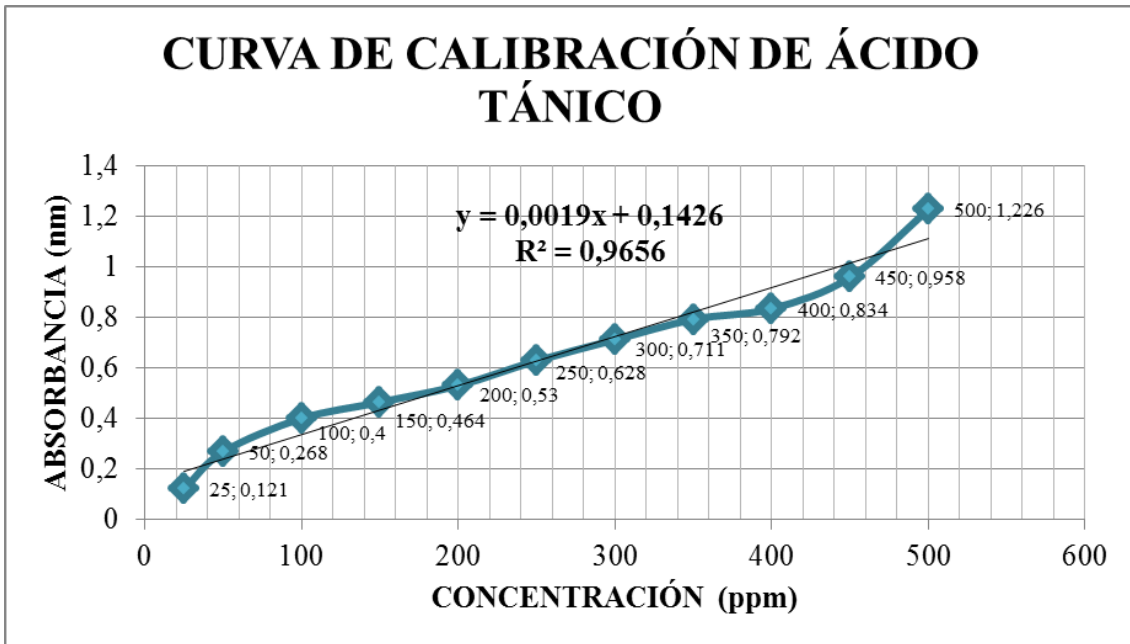
- Con el extracto acuoso de harina de guarango obtenido, se preparó una solución, con un factor de dilución 1:10 en agua destilada.
- De esta solución se tomaron 0,5 mL, se añadió 0,5 mL de Folin Phenol Ciolcateu.
- Después de 3 minutos de espera, se añadieron 10 ml de carbonato de sodio a una concentración de 75 g/L.
- La mezcla final se aforo a 25 mL con agua destilada y para que desarrollara color se esperó durante 60 min.
- Adicionalmente, se preparó un blanco con agua destilada y todas las muestras fueron preparadas por triplicado.
- El espectrofotómetro UV- visible fue calibrado a 750 nm. La solución coloreada se colocó en las celdas de cuarzo y se procedió a la lectura de absorbancia.

#### **c) Construcción de las curvas de calibración.**

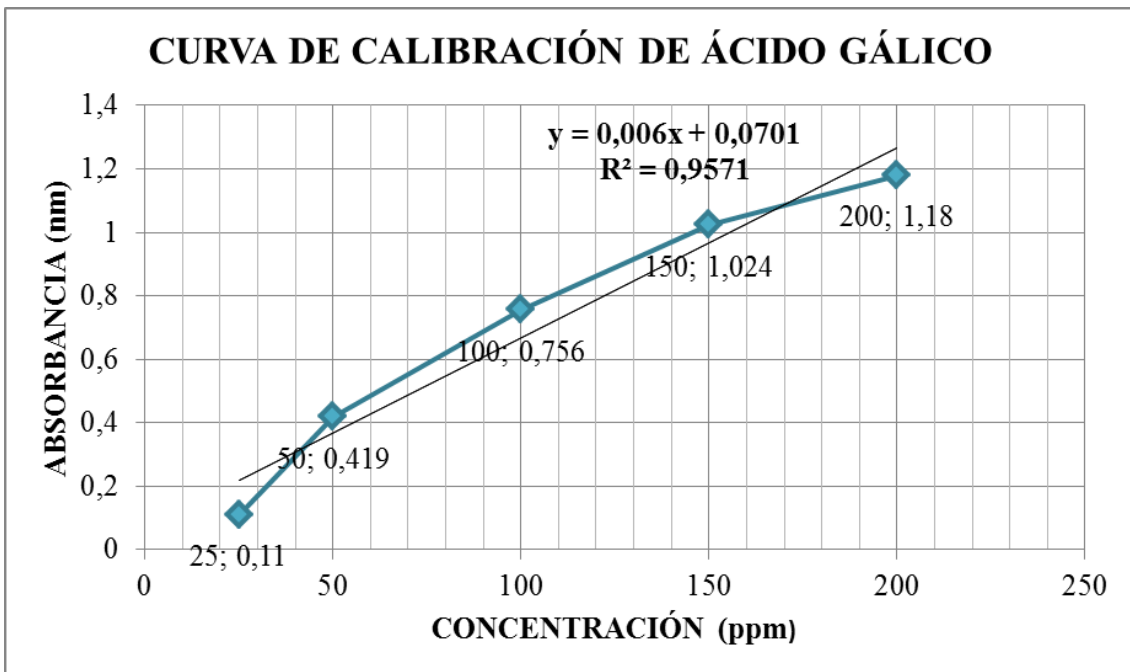
Para la construcción de las curvas de calibración se utilizaron dos estándares: ácido gálico y ácido tánico.

Para construir la curva de calibración, correspondiente al ácido tánico se prepararon soluciones de diferentes concentraciones: 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 ppm, partiendo de una solución patrón de ácido tánico de 3000 ppm.

Para el caso del ácido gálico se prepararon soluciones de las siguientes concentraciones: 25, 50, 100, 150, 200 ppm, partiendo de una solución patrón de ácido gálico de 5000 ppm.



**Gráfica 2.9.1.4.1- 1 Variación de la absorción a  $\lambda = 750$  nm para diferentes concentraciones de ácido tánico.**



**Gráfica 2.9.1.4.1- 2 Variación de la absorción a  $\lambda = 750$  nm para diferentes concentraciones de ácido gálico.**

Las absorbancias registradas de las muestras fueron comparadas con las curvas, para determinar los equivalentes de ácido tánico y ácido gálico respectivamente por cada 100 g de muestra seca.

El cálculo de los equivalentes de ácido gálico o ácido tánico de la harina de vaina de guarango se calcula de la siguiente forma:

- Se reemplaza el valor medio de las absorbancias, de cada muestra, en la ecuación resultante de las curvas de calibración.
- El valor resultante se expresa en unidades de partes por millón (ppm o mg/L), se multiplica por 10 debido al factor de dilución aplicado.
- Para la representación de los valores de equivalentes de ácido tánico en las unidades requeridas, se tomó en cuenta las diluciones realizadas y el cambio de unidades necesarias.

Para la cuantificación de ácido gálico presente en el extracto gálico, se utilizó el mismo método debido a que en el extracto va a existir liberación de ácido gálico y como el ácido gálico es un compuesto fenólico simple, este método es factible ya que el mismo cuantifica polifenoles.

Cabe mencionar que, para los cálculos de extracto tánico se utilizó las dos ecuaciones de las rectas de las curvas de calibración en cambio para el extracto gálico solo se utilizó la ecuación de la recta de la curva de calibración de ácido gálico.

#### **2.9.1.4.2. ANÁLISIS CUALITATIVOS.**

Se utilizaron cinco métodos para la determinación de las propiedades fisicoquímicas del extracto tánico.

##### **a) Determinación de densidad.**

La determinación de densidad del extracto tánico seco se realizó con un picnómetro de 10 mL a temperatura de 20 °C.

##### **b) Determinación del índice de refracción.**

Se utilizó un refractómetro Abbe. Se limpia con Xilol y se vertió una gota del extracto tánico seco previamente disuelto en agua en el prisma, tomando nota de la lectura del aparato.

##### **c) Identificación de taninos, pruebas colorimétricas.**

1. Utilizar 1 gramo de extracto tánico seco y colocarlo en un vaso de precipitación.
2. Añadir 25 mL de agua caliente al extracto, agitar con varilla y dejar enfriar.
3. Agregar 1 mL de solución de cloruro de sodio al 10% y filtrar.
4. Adicionar 3 mL del filtrado a 4 tubos de ensayo.
5. Tubo 1: testigo.
6. Tubo 2: Agregar 4 a 5 gotas de solución de gelatina al 1% (p/v).
7. Tubo 3: Agregar de 4 a 5 gotas de gelatina-sal (1 % de gelatina y cloruro de sodio al 10%).
8. Tubo 4: Agregar 3 a 4 gotas de solución de cloruro férrico al 10% (p/v).

9. Observar la formación de precipitado y/o cambio de coloración. Con cloruro férrico: grisáceo-negro: catecol; negro – azulado: pirogalol.

**d) Determinación de pH de una solución de extracto tánico.**

1. Una solución de extracto sólido se prepara disolviendo una cantidad de extracto en agua caliente (ebullición) y luego se lleva a una temperatura de 10-20°C usando agua fría.

2. Se introduce el potenciómetro dentro de una muestra de solución preparada y se toma la lectura de pH.

**e) Determinación de la solubilidad de extracto total en agua.**

1. Se disuelve 1 g de extracto total en 300 mL de agua a una temperatura de 30° C.

2. Se coloca la solución en un balón de 250 mL con condensador a reflujo por un tiempo de 48 horas.

3. Se filtra la solución con crisol gooch.

4. Luego se procede a realizar el cálculo porcentual de solubilidad.

**d) Identificación de ácido gálico, reacciones de identificación.**

1. Utilizar 1 g de extracto gálico.

2. Adicionar 2 mL del filtrado a 3 tubos de ensayo.

3. Tubo 1: testigo.

4. Tubo 2: Agregar 2 gotas de cloruro de férrico.

5. Tubo 3: Agregar 2 gotas de cianuro de potasio.

6. Tubo 4: Agregar 2 gotas de nitrato de plata caliente.

7. Tubo 5: Agregar 2 gotas de reactivo de Feeling.

8. Observar la formación de precipitado y/o cambio de coloración.

### 3. LÍNEA DE INVESTIGACIÓN.

#### 3.1. CÁLCULOS.

3.1.1. Rendimiento porcentual del extracto tánico de la harina de vaina de guarango lixiviada con 55 g de harina y 220 mL de agua destilada, por medio de maceración dinámica.

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{gramos secos de extracto obtenidos de lixiviación}}{\text{gramos de harina a lixiviar}} \times 100$$

Ec. 3.1.1- 1

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{32,4083}{55} \times 100$$

$$\% \text{ Rendimiento} = 58,9241$$

#### 3.1.2. ANÁLISIS FÍSICO.

Tabla 3.1.2- 1

Datos de análisis físico de la vaina de guarango.

#	Peso (g)	Largo (cm)	Diámetro (cm)	Espesor (cm)	Color
1	3,8938	8,9	2	0,8	Naranja Rojizo
2	4,4656	8,6	2,3	0,7	Naranja Rojizo
3	3,6105	8,3	2,4	0,8	Naranja Rojizo

4	4,5656	9,5	2,2	0,8	Naranja Rojizo
5	3,073	7,4	2	0,8	Naranja Rojizo
6	4,7848	9,3	2,2	0,8	Naranja Rojizo
7	3,3141	8,6	2,1	0,6	Naranja Rojizo
8	4,735	8,9	2,5	0,6	Naranja Rojizo
9	4,091	7,9	2,1	0,7	Naranja Rojizo
10	3,0801	8	2	0,6	Naranja Rojizo
11	3,7387	8	2,1	0,6	Naranja Rojizo
12	4,0188	8,7	2,1	0,8	Naranja Rojizo
13	4,0082	8,9	2,2	0,7	Naranja Rojizo
14	3,0373	7,7	2,1	0,6	Naranja Rojizo
15	4,2644	8	2,2	0,9	Naranja Rojizo
16	4,4685	9,1	2,1	0,7	Naranja Rojizo
17	2,9698	7,8	2	0,6	Naranja Rojizo
18	4,5322	8,5	2,1	0,8	Naranja Rojizo
19	3,7877	8,7	2,1	0,7	Naranja Rojizo
20	4,1268	8,5	2,2	0,9	Naranja Rojizo

Fuente: Tesista

**Valores Promedio de 20 frutos.**

### 3.1.3. ANÁLISIS QUÍMICO.

#### 3.1.3.1. HUMEDAD.

$$\% \text{ SS} = \frac{C_2 - C_1}{P_m} \times 100 \%$$

Ec.3.1.3.1- 1



$$\% \text{ SS} = \frac{68,1334 - 51,7647 \text{ g}}{6,9572\text{g}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ SS} = 91,54$$

$$\% H = 100 - \% \text{ SS}$$

Ec.3.1.3.1- 2

$$\% H = 100 - 91,54$$

$$\% H = 8,46$$

**Donde:**

**% SS** = Sustancia seca en porcentaje de masa.

**%H** = Contenido de humedad en porcentaje de masa.

**C<sub>1</sub>** = Peso de la cápsula vacía, en gramos.

**C<sub>2</sub>** = Peso de la cápsula más la muestra seca, en gramos.

**P<sub>m</sub>** = Peso de la muestra, en gramos.

**3.1.3.2. CENIZA.**

$$\% \text{ C} = \frac{P_2 - P_1}{P_m} \times 100$$

Ec. 3.1.3.2- 1

$$\% \text{ C} = \frac{23,1861 - 22,1584 \text{ g}}{5,0013\text{g}} \times 100$$

$$\% C = 20,54$$

**Donde:**

**%C** = Contenido de ceniza en porcentaje de masa.

**P<sub>1</sub>** = Peso del crisol vacío, en gramos.

**P<sub>2</sub>** = Peso del crisol con las cenizas después de la incineración, en gramos.

**P<sub>m</sub>** = Peso de la muestra, en gramos.

### 3.1.3.3. EXTRACTO ETÉREO O GRASA TOTAL.

$$\% G = \frac{P_z - P_1}{P_m} \times 100$$

Ec. 3.1.3.3- 1

$$\% G = \frac{(40,9494 - 40,9315) \text{ g}}{4,9306 \text{ g}} \times 100$$

$$\% G = 0,36$$

**Donde:**

**% G** = Contenido de grasa total.

**P<sub>1</sub>** = Peso vaso vacío, en gramos.

**P<sub>2</sub>** = Peso vaso con grasa extraída, en gramos.

**P<sub>m</sub>** = Peso muestra, en gramos.

### 3.1.3.4. CARBOHIDRATOS.

$$\% \text{ CT} = 100 - (\% \text{ Humedad} + \% \text{ Proteína} + \% \text{ Fibra} + \% \text{ Grasa} + \% \text{ Ceniza})$$

Ec. 3.1.3.4- 1

$$\% \text{ CT} = 100 - (8,46 + 5,9 + 1,87 + 0,36 + 20,5)$$

$$\% \text{ CT} = 69,91$$

### 3.1.4. ANÁLISIS CUALITATIVO.

#### 3.1.4.1. DENSIDAD.

$$\rho = \frac{P_2 - P_1}{10}$$

Ec. 3.1.4.1- 1

$$\rho = \frac{20,1188\text{g} - 20,1410\text{g}}{10 \text{ mL}}$$

$$\rho = 0,99778 \frac{\text{g}}{\text{mL}}$$

**Donde:**

$\rho$  = Densidad, g / mL.

$P_1$  = Peso del picnómetro vacío, gramos.

$P_2$  = Peso del picnómetro lleno, gramos.

### 3.1.4.2. SOLUBILIDAD.

$$\% \text{ solubilidad} = \left[ \frac{W_1 - W_2}{W_1} \right] \times 100 \quad \text{Ec. 3.1.4.2- 1}$$

$$\% \text{ solubilidad} = \left[ \frac{-9,4 \times 10^{-3} \text{ g}}{2 \text{ g}} \right] \times 100$$

$$\% \text{ solubilidad} = 99,532$$

**Donde:**

$W_1$  = Peso inicial de extracto a solubilizar, en este caso 2 gramo.

$W_2$  = Peso del extracto retenido después de la filtración.

### 3.1.5. ANÁLISIS CUANTITATIVOS.

**Análisis para la harina de vaina de guarango.**

#### 3.1.5.1. Ecuación de la recta de ácido tánico.

$$y = 0,0019x + 0,1426 \quad \text{Ec. 3.1.5.1- 1}$$

**Donde:**

$x$  = Valor de polifenoles totales expresado en equivalentes de Ácido Tánico (en mg/L).

$y$  = valor de la absorbancia de las muestras.

$$x = \frac{y - 0,1426}{0,0019}$$

$$x = \frac{0,5356 - 0,1426}{0,0019}$$

$$x = 206,8421 \frac{\text{mg Ácido tánico}}{\text{L}}$$

**3.1.5.2. Ecuación de la cantidad de polifenoles totales en relación 100 g de muestra seca.**

$$A \frac{\text{g ácido tánico}}{100 \text{ g MS}} = 10 \left| X \frac{\text{mg ácido tánico}}{\text{L solución}} \right| \left| \frac{1 \text{ L solución}}{1000 \text{ ml}} \right| \left| \frac{100 \text{ mL}}{0,4 \text{ g MS}} \right| \left| \frac{1 \text{ g ácido tánico}}{1000 \text{ mg ácido tánico}} \right| \left| \frac{100 \text{ g MS}}{100 \text{ g MS}} \right|$$

Ec. 3.1.5.2- 1

$$A \frac{\text{g ácido tánico}}{100 \text{ g MS}} = 10 \left| 206,8421 \frac{\text{mg ácido tánico}}{\text{L solución}} \right| \left| \frac{1 \text{ L solución}}{1000 \text{ ml}} \right| \left| \frac{100 \text{ mL}}{0,4 \text{ g MS}} \right| \left| \frac{1 \text{ g ácido tánico}}{1000 \text{ mg ácido tánico}} \right| \left| \frac{100 \text{ g MS}}{100 \text{ g MS}} \right|$$

$$A = 51,7105 \frac{\text{g ácido tánico}}{100 \text{ g MS}}$$

**Donde:**

**A** = Equivalentes de ácido tánico de la harina de guarango.

**X** = Partes por millón (ppm) de equivalentes de ácido tánico en la harina de guarango, obtenidas de la curva de calibración.

**3.1.5.3. Ecuación de la recta de ácido gálico.**

$$y = 0,006x + 0,0701$$

Ec. 3.1.5.3- 1

**Donde:**

**x** = Valor de polifenoles totales expresado en equivalentes de Ácido Gálico (en mg/L).

**y** = valor de la absorbancia de las muestras.

$$x = \frac{y - 0,00701}{0,006}$$

$$x = \frac{0,5356 - 0,00701}{0,006}$$

$$x = 88,098 \frac{\text{mg Ácido gálico}}{\text{L}}$$

**3.1.5.4. Ecuación de la cantidad de polifenoles totales en relación 100 g de muestra seca.**

$$A \frac{\text{g ácido gálico}}{100 \text{ g MS}} = 10 \left| X \frac{\text{mg ácido gálico}}{\text{L solución}} \right| \left| \frac{1 \text{ L solución}}{1000 \text{ ml}} \right| \left| \frac{100 \text{ mL}}{0,4 \text{ g MS}} \right| \left| \frac{1 \text{ g ácido gálico}}{1000 \text{ mg ácido gálico}} \right| \left| \frac{100 \text{ g MS}}{100 \text{ g MS}} \right|$$

Ec. 3.1.5.4- 1

$$A \frac{\text{g ácido gálico}}{100 \text{ g MS}} = 10 \left| 88,098 \frac{\text{mg ácido gálico}}{\text{L solución}} \right| \left| \frac{1 \text{ L solución}}{1000 \text{ ml}} \right| \left| \frac{100 \text{ mL}}{0,4 \text{ g MS}} \right| \left| \frac{1 \text{ g ácido gálico}}{1000 \text{ mg ácido gálico}} \right| \left| \frac{100 \text{ g MS}}{100 \text{ g MS}} \right|$$

$$A = 22,024 \frac{\text{g ácido gálico}}{100 \text{ g MS}}$$

**Donde:**

**A** = Equivalentes de ácido gálico de la harina de guarango.

**X** = Partes por millón (ppm) de equivalentes de ácido gálico en la harina de guarango, obtenidas de la curva de calibración.

### **Análisis para el extracto gálico con hidrólisis ácida.**

#### **Ecuación de la recta de ácido gálico.**

$$y = 0,006x + 0,0701$$

#### **Donde:**

**x** = Valor de polifenoles totales expresado en equivalentes de Ácido Gálico (en mg/L).

**y** = valor de la absorbancia de las muestras.

$$x = \frac{y - 0,0701}{0,006}$$

$$x = \frac{0,147 - 0,0701}{0,006}$$

$$x = 12,8166 \frac{\text{mg Ácido gálico}}{\text{L}}$$

#### **Se multiplica por el factor de dilución.**

$$A \frac{\text{mg ácido gálico}}{\text{L}} = 10 \left| X \frac{\text{mg ácido gálico}}{\text{L solución}} \right|$$

$$A \frac{\text{g ácido gálico}}{100 \text{ g MS}} = 10 \left| 12,8166 \frac{\text{mg ácido gálico}}{\text{L solución}} \right|$$

$$A = 128,16 \frac{\text{mg ácido gálico}}{\text{L}}$$

#### **Donde:**

**A** = Equivalentes de ácido gálico del extracto gálico.

**X** = Partes por millón (ppm) de equivalentes de ácido gálico en el extracto gálico, obtenida de la curva de calibración.

### 3.1.5.6. PORCENTAJE DE DISOCIACIÓN DE MOLÉCULAS.

#### Hidrólisis ácido-básica.

$$[H^+] = [OH^-] = 2N$$

$$\% \text{ de disociación} = \frac{\text{cantidad de ácido disociado}}{\text{cantidad de ácido presente al principio}} \times 100 \quad \text{Ec. 3.1.5.6- 1}$$

$$\% \text{ de disociación} = \frac{2N}{2N} \times 100$$

$$\% \text{ de disociación} = 100$$

#### Hidrólisis ácida.

$$[H^+] = \frac{-K + \sqrt{K^2 + 4Kc}}{2} \quad \text{Ec. 3.1.5.6- 2}$$

**Donde:**

$[H^+] =$  Concentración de iones hidrógeno.

$c =$  Concentración de la solución.

$K =$  Constante de disociación de HCl.

$$[H^+] = \frac{-1 \times 10^{-7} + \sqrt{(1 \times 10^{-7})^2 + 4(1 \times 10^{-7})(2M)}}{2}$$

$$[H^+] = 2M$$



$$[OH^-] = \frac{1 \times 10^{-14}}{2}$$

Ec. 3.1.5.6- 3

$$[OH^-] = 5 \times 10^{-15} M$$

$$\% \text{ de disociación} = \frac{2M}{2M} \times 100$$

$$\% \text{ de disociación} = 100$$

### Hidrólisis básica.

$$[H^+] \times [OH^-] = 1 \times 10^{-14}$$

$$[OH^-] = \frac{-K + \sqrt{K^2 + 4Kc}}{2}$$

Ec. 3.1.5.6 - 4

### Donde:

$[OH^-]$  = Concentración de iones hidroxilo.

$c$  = Concentración de la solución.

$K$  = Constante de disociación de NaOH.

$$[OH^-] = \frac{-4 + \sqrt{4^2 + 4(1)(1.4641)}}{2}$$

$$[OH^-] = 1,4641 M$$

$$[H^+] = \frac{1 \times 10^{-14}}{1,4641}$$

Ec. 3.1.5.6 - 5

$$[H^+] = 6,83013 \times 10^{-15} M$$

$$\% \text{ de disociación} = \frac{6,83013 \times 10^{-15}}{2M} \times 100$$

$$\% \text{ de disociación} = 3,4115 \times 10^{-13}$$

### 3.2. RESULTADOS.

**Tabla 3.2- 1**

**Análisis físico de la vaina de guarango.**

<b>Peso (g)</b>	<b>Diámetro (cm)</b>	<b>Largo (cm)</b>	<b>Espesor (cm)</b>	<b>Color</b>
3,928295	2,15	8,465	0,725	Naranja Rojizo

Fuente: Tabla 3.1.2-1

**Tabla 3.2- 2**

**Análisis químico de la harina vaina de guarango.**

<b>Humedad</b>	<b>Ceniza</b>	<b>Proteína</b>	<b>Fibra Bruta</b>	<b>Extracto Etéreo</b>	<b>Carbohidratos</b>
8,46	20,5	5,9	1,87	0,36	62,9

Fuente: Tesista

**Tabla 3.2- 3**

**Rendimiento porcentual del extracto tánico de la harina de vaina de guarango  
lixiviada con acetona, agua destilada y etanol, por medio de maceración dinámica.**

<b>Solvente</b>	<b>Peso obtenido de extracto (g)</b>	<b>%</b>
Acetona	26,1112	52,2224
Agua Destilada	21,7347	43,4694
Etanol	6,5870	13,174

Fuente: Tesista.

**Tabla 3.2- 4**

**Rendimiento porcentual del extracto tánico de la harina de vaina de guarango  
lixiviada con agua destilada, con diferente relación de materia prima/solvente, por  
medio de maceración dinámica.**

<b>Muestra</b>	<b>Peso (g)</b>	<b>Volumen (ml)</b>	<b>Peso Obtenido de extracto (g)</b>	<b>% Rendimiento</b>
1	5	20	1,479	29,580
2	10	30	3,6034	36,034
3	15	50	6	40,000
4	20	70	9,3679	46,840
5	25	90	12,06	48,240
6	30	100	14,4138	48,046
7	35	120	18,4078	52,594
8	40	150	21,6232	54,058
9	45	170	24,451	54,336
10	50	200	28,0831	56,166
11	55	220	32,4083	58,924
12	60	250	32,6623	54,437
13	65	270	37,0001	56,923
14	70	300	39,298	56,140
15	75	320	44,1758	58,901
16	80	350	45,0865	56,358
<b>Promedio</b>			22,74366875	50,4735625
<b>Desviación Estándar</b>			14,1257507	8,602168641

Fuente: Tesista

**Tabla 3.2- 5**

**Rendimiento porcentual del extracto tánico de la harina de vaina de guarango  
lixiviada con 55 g de harina y 220 ml de agua destilada, por el método de  
extracción de una etapa, por maceración dinámica.**

<b>Muestras</b>	<b>Peso obtenido de extracto (g)</b>	<b>%</b>
1	32,4083	58,9241
2	32,4964	59,0843
<b>Promedio</b>	32,45235	59,0042
<b>Desviación Estándar</b>	0,06229	0,113278506

Fuente: Tesista.

**Tabla 3.2- 6**

**Rendimiento porcentual del extracto tánico de la harina de vaina de guarango  
lixiviadas con 55 g de harina y 220 ml de agua destilada, por el método de  
extracción de varias etapas, por maceración dinámica.**

<b>Método</b>	<b>Peso obtenido de extracto (g)</b>	<b>%</b>
1era. Extracción	32,4083	58,924
2da. Extracción	5,9658	10,846
3era Extracción	1,9168	3,485

Fuente: Tesista.

**Tabla 3.2- 7**

**pH de las soluciones a temperatura ambiente.**

<b>Agua destilada</b>	6,9
<b>Agua destilada + harina de vaina de guarango</b>	3,21

Fuente: Tesista.

**Tabla 3.2- 8**

**pH y temperatura de lixiviados en rangos de cinco minutos con agua destilada.**

<b>Muestras</b>	<b>Tiempo (min)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>pH</b>
1	0	18	3,21
2	5	18	3,18
3	10	18	3,13
4	15	18	3,1
5	20	18	3,07
6	25	18	3,03
7	30	18	3
8	35	19	2,99
9	40	19	2,97
10	45	19	2,96
11	50	20	2,99
12	55	20	2,96
13	60	20	3,05

14	65	20	3,02
15	70	20	3,02
16	75	20	3,02
17	80	20	3,02
18	85	20	3,02
19	90	20	3,02
20	95	20	3,02

Fuente: Tesista

**Tabla 3.2- 9**

**Absorbancias de la harina de vaina de guarango y del extracto tánico.**

<b>Muestras</b>	<b>Harina de vaina de guarango.</b>	<b>Extracto tánico.</b>
	<b>Absorbancia (nm)</b>	<b>Absorbancia (nm)</b>
<b>1</b>	0,536	0,560
<b>2</b>	0,535	0,560
<b>3</b>	0,536	0,561
<b>Promedio</b>	0,5356	0,5603
<b>Desviación Estándar</b>	$5,7735 \times 10^{-4}$	$5,7735 \times 10^{-4}$

Fuente: Tesista.

**Tabla 3.2- 10**

**Cantidad de polifenoles totales equivalentes másicos expresados en ppm de ácido tánico y ácido gálico.**

<b>Harina</b>		<b>Extracto</b>	
$\frac{mg \text{ ácido tánico}}{L}$	$\frac{mg \text{ ácido gálico}}{L}$	$\frac{mg \text{ ácido tánico}}{L}$	$\frac{mg \text{ ácido gálico}}{L}$
206,8421	88,098	219,8421	92,21

Fuente: Tesista.

**Tabla 3.2- 11**

**Análisis cuantitativo de taninos en la harina de vaina de guarango y en los extractos tánicos utilizando el método de Folin –Ciolcateu, expresado en 100 g de muestra seca.**

<b>Harina</b>		<b>Extracto</b>	
$\frac{g \text{ ácido tánico}}{100 \text{ g MS}}$	$\frac{g \text{ ácido gálico}}{100 \text{ g MS}}$	$\frac{g \text{ ácido tánico}}{100 \text{ g MS}}$	$\frac{g \text{ ácido gálico}}{100 \text{ g MS}}$
51,7105	22,024	54,9605	23,0525

Fuente: Tesista.



**Tabla 3.2- 12**

**Análisis cualitativo de taninos de los extractos tánicos restituidos con agua para las dos muestras de harina de vaina de guarango.**

<b>Parámetros</b>	<b>Densidad (g/mL)</b>	<b>Índice de refracción</b>	<b>pH</b>	<b>Solubilidad</b>
<b>Muestras</b>				
<b>1</b>	0,99778	1,332	2.83	99,532
<b>2</b>	0,99651	1,333	2,95	99,530
<b>Promedio</b>	0,997145	1,3325	2,89	99,531
<b>Desviación Estándar</b>	$8,9802 \times 10^{-4}$	$7,0710 \times 10^{-4}$	0,084852	$1,4142 \times 10^{-3}$

Fuente: Tesista.

**Tabla 3.2- 13**

**Pruebas colorimétricas para determinar la presencia de taninos en la harina de vaina de guarango y en el extracto tánico, utilizando agua destilada como solvente.**

<b>Muestras</b>	<b>Solución ácida de gel 1% (p/v)</b>	<b>Solución ácida de gel 1 % (p/v) y NaCl 10% (p/v)</b>	<b>Cloruro Férrico 10% (p/v)</b>	<b>Tipo de Tanino.</b>
<b>Harina</b>	Precipita	Precipita	Azul Negro.	<b>Pirogalol</b>
<b>1</b>	Precipita	Precipita	Azul Negro.	<b>Pirogalol</b>
<b>2</b>	Precipita	Precipita	Azul Negro.	<b>Pirogalol</b>

Fuente: Tesista.

**Tabla 3.2- 14**

**Absorbancias en las muestras hidrolizadas con HCl, NaOH e HCl- NaOH, por el lapso de 20 horas.**

<b>Tipo de hidrólisis</b>	<b>Muestras</b>	<b>Absorbancia</b>
<b>HCl</b>	1	0,146
	2	0,147
	3	0,147
	<b>Promedio</b>	0,147
	<b>Desviación estándar</b>	$5,77 \times 10^{-4}$
<b>NaOH</b>	1	0,109
	2	0,108
	3	0,109
	<b>Promedio</b>	0,109
	<b>Desviación estándar</b>	$5,77 \times 10^{-4}$
<b>HCl - NaOH</b>	1	0,406
	2	0,405
	3	0,406
	<b>Promedio</b>	0,406
	<b>Desviación estándar</b>	$5,773 \times 10^{-4}$

Fuente: Tesista.

**Tabla 3.2- 15**

**Cantidad de polifenoles totales equivalentes másicos expresados en ppm de ácido gálico.**

<b>HCL</b>	<b>NAOH</b>	<b>HCl - NaOH</b>
$\frac{mg \text{ ácido gálico}}{L}$	$\frac{mg \text{ ácido gálico}}{L}$	$\frac{mg \text{ ácido gálico}}{L}$
12,8166	6,4833	55,9833

Fuente: Tesista.

**Tabla 3.2- 16**

**Análisis cuantitativo de ácido gálico en las muestras hidrolizadas con HCl, NaOH e HCl- NaOH, por el lapso de 20 horas, utilizando el método de Folin –Ciolcateu, expresado en 100 mL de extracto gálico.**

<b>HCL</b>	<b>NAOH</b>	<b>HCl - NaOH</b>
$\frac{mg \text{ ácido gálico}}{L}$	$\frac{mg \text{ ácido gálico}}{L}$	$\frac{mg \text{ ácido gálico}}{L}$
128,166	64,833	559,833

Fuente: Tesista.

**Tabla 3.2- 17**

**Porcentaje de disociación de moléculas de las diferentes hidrólisis.**

<b>Hidrólisis</b>	<b>%</b>	<b><math>H^+</math></b>
<b>Ácida-básica</b>	100	2
<b>Ácida</b>	100	2

<b>Básica</b>	$3,4115 \times 10^{-13}$	$6,83013 \times 10^{-15}$
---------------	--------------------------	---------------------------

Fuente: Tesista.

**Tabla 3.2- 18**

**Reacciones de caracterización para determinar la presencia de ácido gálico en el extracto gálico.**

<b>Muestras</b>	<b>Cloruro Férrico</b>	<b>Cianuro de Potasio.</b>	<b>Nitrato de Plata (Caliente)</b>	<b>Reactivo de Feeling.</b>
<b>1</b>	Azul Negro.	Rojo	Precipita	Rojo claro
<b>2</b>	Azul Negro.	Rojo	Precipita	Rojo claro

Fuente: Tesista.

### **3.3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.**

En el siguiente trabajo de investigación se llevó a cabo una separación Sólido-Líquido con la finalidad de obtener extracto tánico, y a partir de este; determinar el porcentaje de taninos y llevar a cabo las propiedades físicoquímicas del extracto tánico de harina de vaina de guarango (*Caesalpinia spinosa (Mol) O. Kuntz*), posteriormente el extracto tánico obtenido fue hidrolizado para obtener extracto gálico el mismo que fue analizado cualitativa y cuantitativamente.

El proceso empieza con la recolección de vainas las cuales fueron caracterizadas físicamente. Se tomaron 20 vainas y con un calibrador se midió el largo, ancho, espesor y posteriormente se registró el peso con una balanza; obteniendo resultados como se indica en la tabla 3.1.2-1. Al comparar los resultados con la caracterización física de los frutos del Perú, se puede observar que tienen los mismos resultados, esto se puede deber a que ambos países comparten con la misma distribución geográfica.

La materia prima proporcionada se molió en un molino de impacto, para proceder a tamizar y utilizar la materia prima de un tamaño de particular de 0,106  $\mu\text{m}$ , la cual fue utilizada para la maceración.

La harina molida fue caracterizada químicamente. Cuyos resultados se muestran en la tabla 3.1.2-2.

Previo a la maceración dinámica se realizaron análisis preliminares para determinar las variables de proceso. La primera variable a determinar fue seleccionar que tipo de solvente es el adecuado para la extracción de taninos de guarango, se utilizaron tres

tipos de solventes los cuales fueron acetona, agua destilada y etanol. La acetona presentó un alto porcentaje de rendimiento, seguido por agua destilada y finalmente etanol. El elevado porcentaje de rendimiento que presentó la acetona fue debido a su estructura ya que al ser un solvente dipolar no forma estructuras asociadas y la principal razón por la que no se asocia es que la carga positiva en su dipolo no reside en un átomo de hidrógeno lo que le impide formar puentes de hidrógeno (17). Al contrario del agua destilada y etanol al ser solventes polares tienen la capacidad de romper enlaces covalentes en el soluto y provocar ionizaciones en éste, es decir que estos solventes cuando actúan sobre el soluto pueden acoplarse mediante la formación de puentes de hidrógeno. Sin embargo, al ser la acetona un eficiente solvente de extracción fue rechazado debido a que es un solvente costoso, difícil de adquirir debido a que se necesita permiso del CONSEP y contaminante ya que si no es manipulado correctamente puede ocasionar problemas en la salud y en el medio ambiente.

El etanol y el agua presentaron un bajo y elevado rendimiento, respectivamente; esto se debe a la constante dieléctrica de ambos solventes; del etanol 24,5 y del agua 78,5; esto implica que una constante dieléctrica alta puede acumular mayor extracción cuando dicha sustancia está colocada sobre la muestra; esto quiere decir que cuando los dipolos del agua tienden a girar cargados de forma tal que los extremos negativos se acerquen al lado positivo, y los extremos positivos al lado negativo, se produce una neutralización en forma parcial de las cargas. Así es como se puede explicar que la constante dieléctrica afecta la polaridad de las sustancias como es el caso del etanol y esto a su vez puede confirmar que la molécula  $H_2O$ , es no polar. (18)

Con estas justificaciones, se determinó que el solvente adecuado para la extracción de taninos del guarango fue el agua destilada.

La segunda variable fue determinar un porcentaje de rendimiento elevado de extracto tánico en relación a la materia prima/solvente para lo cual se requirió de 15 muestras, cada una con diferente cantidad de harina y de solvente; a partir de estas muestras se estableció análisis estadístico, donde se corroboró y se determinó que 55 g de harina deben ser macerados con 220 mL de agua destilada, para obtener un porcentaje de rendimiento elevado. Obteniéndose un peso de extracto de 32,4083 g. Se estableció que 55 g y 220 mL son puntos cruciales ya que demuestran ser los puntos máximos de extracción y a partir de estos se deduce que a mayor cantidad de harina y de solvente menor porcentaje de rendimiento.

Luego, se determinó el pH de la solución a temperatura ambiente. El pH de la harina disuelta en agua destilada, marcó un rango de pH ácido de 3,21.

La tercera variable a determinar fue el tiempo de extracción. Para la metodología propuesta se propone un tiempo de extracción de sesenta minutos esto en función del pH del sistema de lixiviación. Esto se llevó a cabo trazando una gráfica de pH vs tiempo de extracción para lo cual se midieron tiempos y temperatura cada 5 minutos en una sola corrida hasta que el pH en la solución permaneció constante, determinando así el tiempo de extracción óptimo. En la gráfica 2.9.1.5-1 se puede visualizar que antes de los 60 minutos el pH permanece constante pero después de este punto se presenta un pequeño ascenso de pH que es donde se extrae mayor cantidad de taninos por lo tanto se puede determinar y justificar que a los sesenta minutos se hace una extracción óptima pues el pH se mantiene constante al pasar este tiempo.

La cuarta variable a determinar fue el método de extracción. Para la presente investigación se propone realizar una extracción de una sola etapa. Esto se llevó a cabo

comparando el porcentaje de rendimiento entre la extracción de una etapa y la extracción de varias etapas, experimentalmente consistió en llevar a maceración constante el material vegetal hasta agotamiento total del mismo, obteniendo un elevado porcentaje de rendimiento a partir de la extracción de una sola etapa. El porcentaje elevado de rendimiento que presenta la extracción de una sola etapa es debido a que en esta extracción se realiza una extracción completa entre el material vegetal y el solvente; lo que no sucede con la extracción de varias etapas ya que el contacto de los sólidos lixiviados con un lote fresco de solvente de lixiviación, ocasiona la disolución o eliminación de soluto adicional del material insoluble.

La quinta variable a determinar se relaciona con la hidrólisis de taninos. Para la obtención de extracto gálico, se utilizaron tres tipos de hidrólisis: ácida con HCl, básica con NaOH y ácida – básica con HCl e NaOH. La hidrólisis ácida – básica presentó una elevada concentración de ácido gálico, seguido por la hidrólisis ácida y finalmente la hidrólisis básica. La elevada concentración de ácido gálico que presentó la hidrólisis ácida – básica se debe al comportamiento en dilución de ambos componentes esto quiere decir que al trabajar con un ácido y una base fuerte estos se disocian por completo, esto indica, que la totalidad de los iones  $H^+$  u  $OH^-$  están en forma libre, y su concentración dependerá de la concentración del ácido o de la base de donde provienen. (20). En cambio, la hidrólisis ácida presentó una mayor concentración de ácido gálico en comparación con la hidrólisis básica; esto se debe al valor de la constante de disociación de ambos compuestos, para el ácido clorhídrico la constante de disociación es  $10^7$  y para el hidróxido de sodio es 4. Esto implica que una mayor constante de disociación produce una mayor cantidad de moléculas disociadas. (21).



A partir de las variables de procesos fijadas se procedió a la lixiviación de taninos con agua destilada y a la hidrólisis de los mismos con NaOH y HCl, para lo cual se tomaron dos muestras. Evaluándose entonces el porcentaje de rendimiento en el extracto tánico y la concentración de ácido gálico en el extracto gálico.

Luego de la obtención del extracto se procedió a la caracterización fisicoquímica del extracto tánico. Primero se reconstituyó el extracto con agua y después se determinó para la muestra el índice de refracción, densidad, y pH. Además se determinó la solubilidad del extracto en agua y se realizó las pruebas colorimétricas para la identificación de taninos en el extracto.

En los análisis cualitativos realizados, los resultados se muestran en la tabla 3.2-13, si se observa, tanto para la harina y el extracto tánico, los resultados obtenidos, son las reacciones a las que responden los taninos hidrolizados, por lo que se afirma que la composición principal es de tipo tanino hidrolizable o pirogálico.

Para los análisis cuantitativos aplicados, en la tabla 3.2-11 se muestran los resultados obtenidos por el método de Folin - Ciolcateu, reflejan que la harina de vaina de guarango (*Caesalpinia spinosa* (Mol) O. Kuntz), tiene un  $51,7105 \frac{\text{g ácido tánico}}{100 \text{ g MS}}$  y el extracto tánico tiene un  $54,9605 \frac{\text{g ácido tánico}}{100 \text{ g MS}}$  % de taninos en su composición, respectivamente. Al comparar estos resultados con los datos de la tesis “*Determinación de los micronichos que albergan guarango en la sierra ecuatoriana y evaluación como fungicida*” se puede mencionar que dichos datos se aproximan y están dentro del rango de la concentración de taninos de la provincia de Chimborazo el cual es de 44 – 58 %.

La diferencia numérica que se presenta entre los dos estándares se debe al factor o índice de respuesta que presenta cada uno de estos con la solución con la que reaccionan; para este caso el índice o factor de respuesta del ácido tánico es más alto. (19).

En los análisis cualitativos realizados para el extracto gálico, los resultados se muestran en la tabla 3.2-18, si se observa, los resultados obtenidos, son las reacciones a las que corresponden a la identificación de ácido gálico, por lo que se afirma que en su composición existe ácido gálico.

En lo que corresponde al porcentaje de disociación de moléculas de las diferentes hidrólisis, se observa que en la tabla de resultados 3.2-17, existe un 100% de disociación para la hidrólisis ácida - básica e hidrólisis ácida y  $3,4115 \times 10^{-13}\%$  de disociación para la hidrólisis básica, esto implica que aunque la hidrólisis ácida presente igual porcentaje de disociación que la hidrólisis ácida - básica, los resultados de concentración de ácido gálico difieren, esto es debido a que en la hidrólisis ácida - básica existe una disolución completa de sus iones en cambio en la hidrólisis ácida no existe una disolución como tal.

Para los análisis cuantitativos aplicados, en la tabla 3.2-16 se muestran los resultados obtenidos por el método de Folin - Ciolcateu, reflejan que el extracto gálico tiene una concentración de  $559,833 \frac{\text{mg ácido gálico}}{L}$  en su composición.

## 4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

### 4.1. CONCLUSIONES.

- Es factible la obtención de extracto tánico y extracto gálico a partir de la harina de la vaina del Guarango *Caesalpinia spinosa (Mol) O. Kuntz*, por medio de la operación unitaria de maceración dinámica y del proceso de hidrólisis, respectivamente.
- La caracterización físico - químico de la harina de vaina de Guarango *Caesalpinia spinosa (Mol) O. Kuntz*, del cantón Guano de la Provincia de Chimborazo, fue analizada e indicó los datos que se encuentran en las tablas 3.2-1 y 3.2-2, respectivamente.
- Las variables óptimas del proceso de extracción de taninos fueron: solvente de extracción (agua destilada), relación harina/solvente (55 g y 220 mL), pH (3,05), tiempo (60 minutos), temperatura (18-20°C) y método de extracción de una sola etapa. En el caso de la variable óptima del proceso de obtención de extracto gálico fue: tipo de hidrólisis ácida – básica a concentración 2N, por el lapso de 20 horas.
- La harina de vaina de guarango (*Caesalpineia Spinosa (Mol.) O. Kuntz*) tiene un  $51,7105 \frac{\text{g ácido tánico}}{100 \text{ g MS}}$  de taninos y el extracto tánico tiene  $54,9605 \frac{\text{g ácido tánico}}{100 \text{ g MS}}$  de taninos, ambos compuestos son del tipo tanino hidrolizable o pirogálico.

- El extracto gálico reveló la presencia de ácido gálico, cuya concentración es de  $559,833 \frac{\text{mg ácido gálico}}{\text{L}}$ .
- Se normalizó el método de extracción de taninos y de extracto gálico, de la harina de vaina de guarango.
- Se verificó la hipótesis de trabajo ya que es factible obtener extracto tánico a partir de la harina de vaina de guarango.

## 4.2. RECOMENDACIONES.

- Utilizar el extracto tánico y gálico en la industria curtiembre, para determinar la eficacia de ambos productos.
- El proceso de molienda y tamizaje, se deben realizar en un lugar donde exista ventilación, caso contrario se deberá utilizar una mascarilla para evitar que el polvillo obtenido afecte a la persona que ejecuta el proceso.
- El extracto tánico y el extracto gálico deben ser almacenados en frascos de color ámbar, a temperatura ambiente y de preferencia almacenarlos en lugares oscuros.
- El tiempo de almacenamiento tanto para el extracto tánico y gálico no debe ser mayor a seis meses, puesto que transcurrido este tiempo ya se distingue un cambio apreciable en sus características.
- En la filtración al vacío del extracto, es muy importante que si la bomba de vacío no succiona lo suficiente y se observa que todavía existe extracto, es necesario que la persona encargada utilice sus manos con guantes y trate de exprimir todo el contenido.
- Es importante que al momento de realizar la filtración al vacío, se realice colocando pequeñas cantidades de extracto y así sucesivamente, esto permitirá que la bomba de vacío succione todo el extracto.

- Para la hidrólisis del extracto tánico, se debe trabajar con temperatura baja ya que si se sube la temperatura la solución empezará a hervir y por lo tanto se observará la formación de burbujas, las mismas que por la presión que existe en el balón pueden subir hacia el refrigerante y saltar hacía el reverbero, lo que podría ocasionar la pérdida del producto, quemaduras o que se fragmente el equipo.
- Antes de desmontar el equipo de reflujo, dejar enfriar completamente, para evitar que el mismo se trice.
- La harina de vaina de guarango lixiviada no debe ser desechada puesto que puede ser utilizada como abono.

## **BIBLIOGRAFÍA.**

- 1.- **COULSON., J.,** Ingeniería Química: Operaciones Básicas., Barcelona – España., Reverté., 2003., pp. 482 – 483
- 2.- **SIENKO., M.,** Química: Principios y aplicaciones., México D.F – México., Mc Graw Hill., 1993., pp. 162-163.
- 3.- **VOGEL., A.,** Química Analítica Cuantitativa., New York – EE.UU., Kapeluz., 1961., pp. 38-44
- 4.- **JÁTIVA., S.,** Determinación de los micronichos que albergan guarango en la sierra ecuatoriana y evaluación como fungicida., Quito., 2011., pp. 28-33
- 5.- **NÚÑEZ., J.,** Estudio y evaluación del potencial agroindustrial del guarango (*Caelsalpinia spinosa (Mol). O. Kuntz*, en Ecuador., Riobamba., 2004., pp. 34-55.
- 6.- **ACETONA Y MATERIALES SEMIPOLARES AFINES**  
<http://books.google.com.ec/books?>  
2011-12-12
- 7.- **APROVECHAMIENTO INTEGRAL Y RACIONAL DE LA TARA**  
**CAELSALPINIA SPINOSA - CAELSALPINIA TINCTORIA.**

[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S156108882004000200009&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S156108882004000200009&script=sci_arttext)

2011-04-08

**8.- CADENAS AGROPRODUCTIVAS PARA LA CONSERVACIÓN DE LA CUENCA MEDIA DEL RÍO PITA.**

[http://www.fonag.org.ec/doc\\_pdf/6.2006.pdf](http://www.fonag.org.ec/doc_pdf/6.2006.pdf).

2011-02-25

**9.- COMPARACIÓN DEL PORCENTAJE DEL EXTRACTO TÁNICO DE LA CORTEZA Y DE LA MADERA DE ENCINO (*QUERCUS TRISTIS LIEBM*) PROVENIENTE DE UN BOSQUE NATURAL.**

[http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08\\_I080\\_Q.2004.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_I080_Q.2004.pdf)

2011-06-10

**10.- CORPORACIÓN INDUSTRIAL AGRÍCOLA.**

<http://www.corinasrl.com/tara/htm>

2011-04-15

**11.- ESTABLECIMIENTO DE UN PROCESO DE OBTENCIÓN DE EXTRACTO DE RUDA (*RUTA GRAVEOLENS*), CON ALTO CONTENIDO DE POLIFENOLES.**

<http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/I5000/2295/I/CD-3036.2010.pdf>.

2011-06-10



**12.- EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL CONTENIDO TÁNICO EN LA CORTEZA DE CINCO ESPECIES FORESTALES PROCEDENTES DEL DEPARTAMENTO DE PÉTEN, APROVECHANDO EL SUBPRODUCTO DE LA INDUSTRIA DE ASERRADERO.**

[http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08\\_8976\\_Q.2009.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_8976_Q.2009.pdf)

2011-06-10

**13.- IONIZACIÓN DE ÁCIDOS Y BASES. HIDRÓLISIS.**

<http://www.ehu.es/biomoleculas/ph.ioni.htm>

2011-12-12

**14.- LA TARA (*CAELSALPINIA SPINOSA*) EN PERÚ, BOLIVIA Y ECUADOR: ANÁLISIS DE LA CADENA PRODUCTIVA EN LA REGIÓN.**

<http://www.bosquesandinos.inf/ECOBONA/TARA/TARABAJAIIIop.2008pdf>

2011-06-10

**15.- LA TARA (*CAELSALPINIA SPINOSA*) EN PERÚ, BOLIVIA Y ECUADOR: ANÁLISIS DE LA CADENA PRODUCTIVA EN LA REGIÓN.**

<http://www.bosquesandinos.inf/ECOBONA/TARA/TARABAJAIop.2009pdf>

2011-05-10

**16.- MONOGRAFÍA DE TARA. *CAELSALPINIA SPINOSA* (MOLINA) KUNTZE**

<http://www.biocomercioperu.org/admin/recursos/contenidos/Monografía%20de%20tara%20-%20final.2009.pdf>

2011-03-18

**17.- OBTENCIÓN DEL EXTRACTO TÁNICO POR MACERACIÓN DINÁMICA DE LA CORTEZA DE ÁRBOLES JÓVENES DE CUATRO ESPECIES FORESTALES, A NIVEL LABORATORIO.**

[http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08\\_I080\\_Q.2008.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_I080_Q.2008.pdf)

2011-06-10

**18.- OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE TANINOS HIDROLIZABLES DE LA TARA (CAELSALPINIA SPINOSA) Y EVALUACIÓN DE SU EFICACIA ANTIOXIDANTES EN CARNES Y ACEITES VEGETALES**

<http://www.biocomercioperu.org/admin/recursos/contenidos/TARA%20Dr.2009pdf>

2011-04-17

**19.- TANINO.**

<http://es.scribd.com/doc/55448122/Tanino>

2011-05-08

**20.- TARA O TAYA**

<http://plataformadenegocios.over-blog.es/categorie-111776355.htm>

2011-06-15

**21.- TODO SOBRE LA TARA.**


[http://taninos.tripod.com/.](http://taninos.tripod.com/)

2011 – 03 – 19

ANEXOS

## ANEXO I

### ANÁLISIS DE LA CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LA HARINA DE VAINA DE GUARANGO.



SAQMIC  
Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos

Contáctanos: 093387300 - 032942022 ó 093806600 - 032360260  
 Avenida 11 de Noviembre y Milton Reyes Riobamba - Ecuador


---

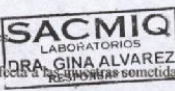
**INFORME DE ANALISIS BROMATOLOGICO**      CODIGO 250-2011  
*Solicitado por:* FUNDACIÓN BIO-RECOLTE  
*Fecha de análisis:* 14 de noviembre de 2011  
*Fecha de entrega de resultados:* 21 de noviembre de 2011  
*Tipo de muestras:* Harina de Vaina de Guarango.  
*Localidad:* Riobamba


**ANÁLISIS QUÍMICO:**

DETERMINACIONES	Unidades	RESULTADO
PH	Und.	3.45
PROTEÍNA	%	5.9
GRASA	%	0.36
FIBRA	%	1.87
CARBOHIDRATOS	%	62.9
CENIZAS	%	20.5
HUMEDAD	%	8.46

ATENTAMENTE

  
 Dra. Gina Álvarez Reyes



  
 Dra. Fabiola Villa

Nota: El informe solo afecta a las muestras sometidas a ensayo  
 Las muestras son receptadas en el laboratorio

<b>NOTAS</b>	<b>Categoría del diagrama</b>	<b>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO</b>  <b>FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE ING. QUÍMICA</b>  Diana Sofía Cortez.	<b>ANÁLISIS DE LA CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE LA HARINA DE VAINA DE GUARANGO .</b>						
	Certificado      Por eliminar Por Aprobar      Para informar Aprobado      Por calificar		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;">Lámina</td> <td style="width: 33%;">Escala</td> <td style="width: 33%;">Fecha</td> </tr> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </table>	Lámina	Escala	Fecha			
Lámina	Escala	Fecha							

## ANEXO II

### CUADRO DE CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LOS FRUTOS (VAINA Y SEMILLA) DEL PERÚ.

#### CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LOS FRUTOS

PESO	DIAMETRO	LARGO	ESPESOR	COLOR
1,0 a 2,5 g	2,0 a 2,5 cm	8,0 a 10,0	0,5 a 0,8	Naranja rojizo

#### CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LA HARINA

HUMEDAD	PROTEINAS	CENIZAS	FIBRA BRUTA	EXTRACTO ETereo	CARBOHIDRATOS
11,70%	7,17%	6,24%	5,30%	2,01%	67,58%

NOTAS	Categoría del diagrama	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO	CUADRO DE CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LOS FRUTOS (VAINA Y SEMILLA) DEL PERÚ.			
	Certificado Por Aprobar Aprobado	Por eliminar Para informar Por calificar	FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE ING. QUÍMICA	Lámina	Escala	Fecha
		Diana Sofía Cortez.				

### ANEXO III

### ANÁLISIS CUALITATIVOS DE TANINOS: DENSIDAD



NOTAS	<b>Categoría del diagrama</b>  Certificado      Por eliminar Por Aprobar      Para informar Aprobado          Por calificar	<b>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO</b>  <b>FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE ING. QUÍMICA</b>  Diana Sofía Cortez.	<b>RESULTADOS DE ANÁLISIS CUALITATIVOS DE TANINOS.</b>		
			Lámina	Escala	Fecha

## ANEXO IV

### ANÁLISIS CUALITATIVOS DE TANINOS: ÍNDICE DE REFRACCIÓN.



NOTAS	Categoría del diagrama		ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO  FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE ING. QUÍMICA  Diana Sofía Cortez.	RESULTADOS DE ANÁLISIS CUALITATIVOS DE TANINOS.		
	Lámina	Escala		Fecha		
	Certificado Por Aprobar Aprobado	Por eliminar Para informar Por calificar				



**ANEXO V**

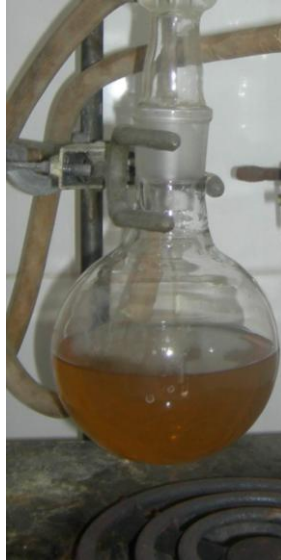
**ANÁLISIS CUALITATIVOS DE TANINOS: pH**



<b>NOTAS</b>	<b>Categoría del diagrama</b>	<b>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO</b>	<b>RESULTADOS DE ANÁLISIS CUALITATIVOS DE TANINOS.</b>		
			Lámina	Escala	Fecha
	Certificado      Por eliminar Por Aprobar    Para informar Aprobado        Por calificar	<b>FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE ING. QUÍMICA</b>  Diana Sofía Cortez.			

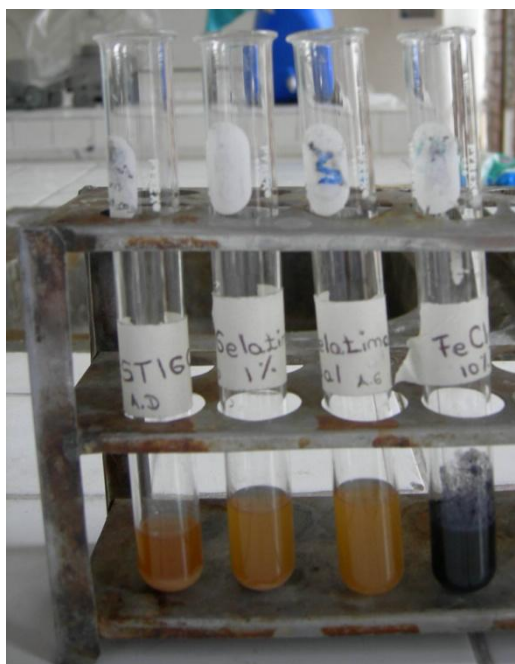
## ANEXO VI

### ANÁLISIS CUALITATIVOS DE TANINOS: SOLUBILIDAD



<b>NOTAS</b>	<b>Categoría del diagrama</b>	<b>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO</b>	<b>RESULTADOS DE ANÁLISIS CUALITATIVOS DE TANINOS.</b>		
			Lámina	Escala	Fecha
	Certificado Por Aprobar Aprobado	Por eliminar Para informar Por calificar	<b>FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE ING. QUÍMICA</b>		
		Diana Sofía Cortez.			

**ANEXO VII**  
**PRUEBAS COLORIMÉTRICAS.**



<b>NOTAS</b>	<b>Categoría del diagrama</b>	<b>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO</b>	<b>RESULTADOS DE PRUEBAS COLORIMÉTRICAS DE LA HARINA DE VAINA DE GUARANGO Y DEL EXTRACTO TÁNICO.</b>			
			<b>FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE ING. QUÍMICA</b>	Lámina	Escala	Fecha
	Certificado Por Aprobar Aprobado	Por eliminar Para informar Por calificar	Diana Sofía Cortez.			

**ANEXO VIII**  
**ANÁLISIS CUANTITATIVO DE TANINOS.**



<b>NOTAS</b>	<b>Categoría del diagrama</b>	<b>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO</b>  <b>FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE ING. QUÍMICA</b>	<b>ANÁLISIS CUANTITATIVOS DE TANINOS.</b>								
	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="border: none;">Certificado</td> <td style="border: none;">Por eliminar</td> </tr> <tr> <td style="border: none;">Por Aprobar</td> <td style="border: none;">Para informar</td> </tr> <tr> <td style="border: none;">Aprobado</td> <td style="border: none;">Por calificar</td> </tr> </table>	Certificado	Por eliminar	Por Aprobar	Para informar	Aprobado	Por calificar	Diana Sofía Cortez.	Lámina	Escala	Fecha
Certificado	Por eliminar										
Por Aprobar	Para informar										
Aprobado	Por calificar										

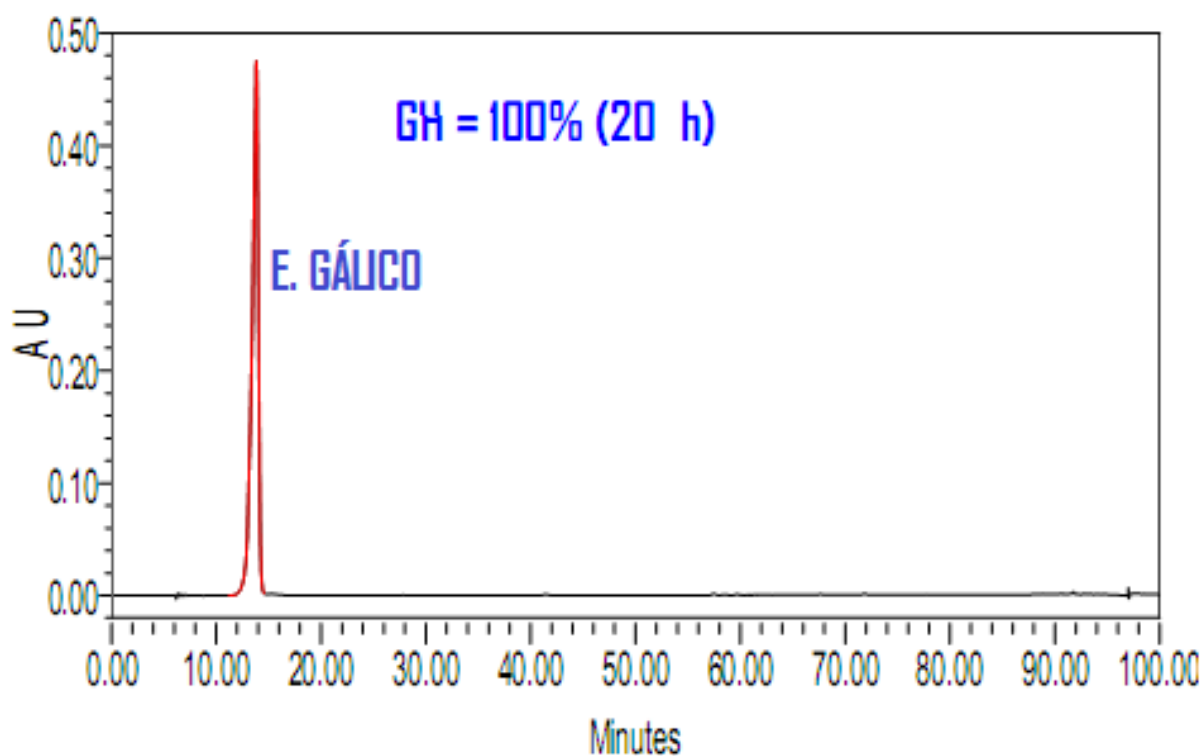
## ANEXO IX

### ANÁLISIS CUANTITATIVOS DEL EXTRACTO GÁLICO.



<b>NOTAS</b>	<b>Categoría del diagrama</b>	<b>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO</b>  <b>FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE ING. QUÍMICA</b>  Diana Sofía Cortez.	<b>RESULTADOS DE ANÁLISIS CUANTITATIVOS DEL EXTRACTO GÁLICO.</b>		
	Certificado      Por eliminar Por Aprobar      Para informar Aprobado          Por calificar		Lámina	Escala	Fecha

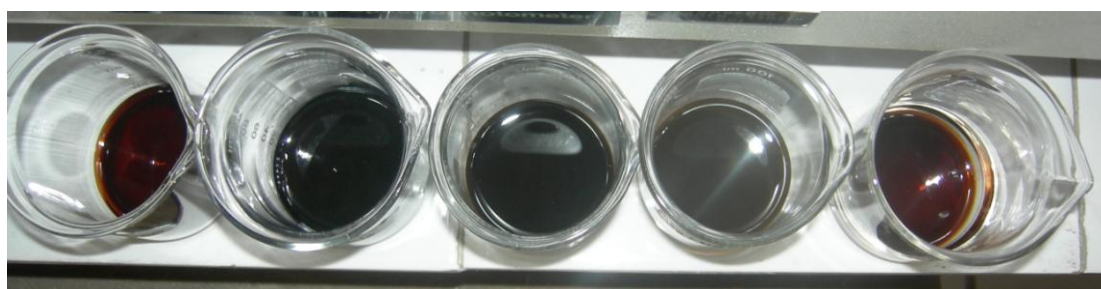
**ANEXO X**  
**TIEMPO DE HIDRÓLISIS.**



<b>NOTAS</b>	<b>Categoría del diagrama</b>	<b>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO</b>	<b>TIEMPO DE HIDRÓLISIS.</b>		
	Certificado      Por eliminar Por Aprobar      Para informar Aprobado          Por calificar	<b>FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE ING. QUÍMICA</b>	Lámina	Escala	Fecha
		Diana Sofía Cortez.			

## ANEXO XI

### ANÁLISIS CUALITATIVOS DEL EXTRACTO GÁLICO.



<b>NOTAS</b>	<b>Categoría del diagrama</b>	<b>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO</b>  <b>FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE ING. QUÍMICA</b>  Diana Sofía Cortez.	<b>RESULTADOS DE ANÁLISIS CUALITATIVOS DEL EXTRACTO GÁLICO.</b>		
	Certificado Por Aprobar Aprobado	Por eliminar Para informar Por calificar	Lámina	Escala	Fecha

