



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

**EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE TANINOS (ÁCIDO TÁNICO) EN EL  
EXTRACTO ACUOSO Y ETANÓLICO A NIVEL LABORATORIO,  
OBTENIDO DEL FRUTO DEL PALO DE CERA O ARRAYÁN O CERA SAN  
PASCUAL (*Myrica cerifera* L.) (Recolectados de los bosques naturales del área  
nor-central de Guatemala)**

**Otto Javier Cerezo Quezada**  
Asesorado por: Ing. César Alfonso García Guerra

GUATEMALA, FEBRERO DE 2005

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE TANINOS (ÁCIDO TÁNICO) EN EL  
EXTRACTO ACUOSO Y ETANÓLICO A NIVEL LABORATORIO,  
OBTENIDO DEL FRUTO DEL PALO DE CERA O ARRAYÁN O CERA SAN  
PASCUAL (*Myrica cerifera* L.) (Recolectados de los bosques naturales del área  
nor-central de Guatemala)**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE INGENIERÍA

POR

**Otto Javier Cerezo Quezada**  
Asesorado por: Ing. César Alfonso García Guerra

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE  
INGENIERO QUÍMICO

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE INGENIERÍA



**NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA**

|            |                                      |
|------------|--------------------------------------|
| DECANO     | Ing. Sydney Alexander Samuels Milson |
| VOCAL I    | Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos      |
| VOCAL II   | Lic. Amahán Sánchez Álvarez          |
| VOCAL III  | Ing. Julio David Galicia Celada      |
| VOCAL IV   | Br. Kenneth Issur Estrada Ruiz       |
| VOCAL V    | Br. Elisa Yazminda Vides Leiva       |
| SECRETARIO | Ing. Carlos Humberto Pérez Rodríguez |

**TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN  
GENERAL PRIVADO**

|            |   |
|------------|---|
| DECANO     | Ing. Sydney Alexander Samuels Milson          |
| EXAMINADOR | Ing. César Alfonso García Guerra              |
| EXAMINADOR | Ing. Edgar Adolfo Reynoso Enríquez (Q.E.P.D.) |
| EXAMINADOR | Inga. Teresa Lisely de León Arana             |
| SECRETARIO | Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco            |

## **HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR**

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

**EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE TANINOS (ÁCIDO TÁNICO) EN EL  
EXTRACTO ACUOSO Y ETANÓLICO A NIVEL LABORATORIO,  
OBTENIDO DEL FRUTO DEL PALO DE CERA O ARRAYÁN O CERA SAN  
PASCUAL (*Myrica cerifera* L.) (Recolectados de los bosques naturales del área  
nor-central de Guatemala)**

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 17 de noviembre de 2004.

**Otto Javier Cerezo Quezada**

## **AGRADECIMIENTO**

A los ingenieros César Alfonso García Guerra, Telma Maricela Cano Morales, Blanca Luz Chávez Quiñónez (Q.E.P.D.) y Ericka Johana Cano Díaz, por compartir siempre conmigo su amistad y sus conocimientos para realizar este trabajo de graduación.

A mis amigos y compañeros de clase José Manuel Suchini Leytán, María Gabriela Meza Guzmán y Erika Ruth Müller Durán, por mantenerme despierto en tantas noches de estudio.

A los ingenieros Manuel Morales Solís y Byron Baldizón Cancinos, por alentarme a seguir adelante en mi carrera.

A mis amigos del Centro Universitario Ciudad Vieja, especialmente al M. Arch. Rafael Yee Melgar, al Ing. Gerardo José Overall Villacorta y al Pbro. Dr. Francisco Castillo, por guiarme y apoyarme en todo momento.

## **DEDICATORIA**

A DIOS

Por darme la vida y la fuerza para levantarme siempre de todas mis caídas.

A MIS PADRES

OTTO Y AMPARO

Por el amor, la protección y la guía que me han dado en cada día de mi vida.

A MIS HERMANOS

BRUNO Y FRANCISCO

Por creer en mí y ayudarme a ver y entender el mundo desde otros dos ángulos.

A MIS ABUELOS

JAVIER † Y ZOILA †

JUSTO † Y OLIMPIA

Por el amor y la felicidad con que me han llenado.

A MIS TIOS Y PRIMOS

Por su apoyo certero e incondicional.

A MIS AMIGOS

Por su lealtad y por todas las vivencias que compartimos.

## ÍNDICE GENERAL

|   |      |
|---|------|
| <b>ÍNDICE DE ILUSTRACIONES</b>                      | III  |
| <b>GLOSARIO</b>                                     | IV   |
| <b>RESUMEN</b>                                      | VI   |
| <b>OBJETIVOS</b>                                    | VII  |
| <b>HIPÓTESIS</b>                                    | VIII |
| <b>INTRODUCCIÓN</b>                                 | IX   |
| <br>  |      |
| <b>1. MARCO TEÓRICO</b>                             |      |
| 1.1. Antecedentes                                   | 1    |
| 1.1.1. Definición del tanino                        | 4    |
| 1.1.2. Propiedades y características de los taninos | 5    |
| 1.1.3. Clasificación de los taninos                 | 6    |
| 1.1.4. Técnicas de extracción de los taninos        | 7    |
| 1.1.4.1. Molienda                                   | 8    |
| 1.1.4.2. Extracción                                 | 8    |
| 1.1.4.3. Filtrado                                   | 11   |
| 1.1.4.4. Decoloración                               | 11   |
| 1.1.4.5. Evaporación                                | 12   |
| <br>  |      |
| <b>2. METODOLOGÍA</b>                               |      |
| 2.1. Localización                                   | 15   |
| 2.2. Metodología experimental                       | 15   |
| 2.2.1. Preparación de la muestra                    | 15   |
| 2.2.2. Procedimiento                                | 17   |
| 2.2.2.1. Método I: Extracción con agua              | 17   |

|           |                                  |           |
|-----------|----------------------------------|-----------|
| 2.2.2.2   | Método II: Extracción con etanol | 17        |
| 2.2.2.3   | Cuantificación de los taninos    | 18        |
| <b>3.</b> | <b>RESULTADOS</b>                | <b>23</b> |
| <b>4.</b> | <b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>   | <b>27</b> |
|           | <b>CONCLUSIONES</b>              | <b>29</b> |
|           | <b>RECOMENDACIONES</b>           | <b>30</b> |
|           | <b>BIBLIOGRAFÍA</b>              | <b>31</b> |
|           | <b>APÉNDICES</b>                 | <b>33</b> |



## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

### FIGURAS

|   |   |    |
|---|---|----|
| 1 | Descripción del contenido de ácido tánico en la frutilla de arrayán para el lote procedente de Baja Verapaz                                     | 23 |
| 2 | Descripción del contenido de ácido tánico en la frutilla de arrayán para el lote procedente de El Progreso                                      | 24 |
| 3 | Descripción del contenido de ácido tánico promedio presente en la frutilla de arrayán, para las dos procedencias y los dos solventes utilizados | 26 |
| 4 | Gráfica de caja del contenido de taninos según la procedencia para cada solvente  | 34 |

### TABLAS

|     |   |    |
|-----|---|----|
| I   | Datos para análisis de varianza   | 20 |
| II  | Análisis de varianza  | 21 |
| III | Contenido de ácido tánico en la frutilla del arrayán para las dos procedencias y los dos solventes                                      | 25 |
| IV  | Contenido de ácido tánico promedio presente en la frutilla del arrayán, a partir de las dos procedencias y los dos solventes utilizados | 25 |
| V   | Análisis de varianza  | 34 |
| VI  | Datos originales, cálculos de muestra y extracto  | 35 |

## GLOSARIO

|                           |  |
|---------------------------|--|
| <b>Arrayán</b>            | Fruto del arbusto que será utilizado como materia prima.   |
| <b>Curtido</b>            | Proceso que consiste en la transformación de la piel en cuero.   |
| <b>Espectrofotometría</b> | Método por el cual se determina la absorción de la radiación electromagnética por una sustancia en un intervalo de longitudes de onda.       |
| <b>Extracción</b>         | Operación unitaria, en donde existe una transferencia de masa líquido a líquido o de sólido a líquido.                                       |
| <b>Extracto</b>           | Producto obtenido de la materia prima por la extracción.   |
| <b>Maceración</b>         | Operación unitaria consistente en sumergir un sólido en un líquido o solvente para extraer las partes solubles, llamada también lixiviación. |
| <b>Nanómetro (nm)</b>     | Unidad de longitud equivalente a $10^{-9}$ metros.   |
| <b>Sulfito de sodio</b>   | $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , polvo cristalino blanco, soluble en agua y glicerina; se usa para blanquear, en fotografía y como antiséptico.    |

**Taninos**

Sustancias polifenólicas amorfas de color amarillo-café que poseen la cualidad de curtir las pieles (transformarlas en cuero); es un producto natural obtenido de la corteza y los frutos de muchas plantas; su fórmula química no está completamente dilucidada, ya que los taninos se clasifican en dos grupos de constituyentes fenólicos, hidrolizables y condensados.

## RESUMEN

Se evaluó el contenido de taninos (ácido tánico) en el extracto acuoso y etanólico a nivel del laboratorio, obtenido del fruto del palo de cera o arrayán o cera San Pascual (*Myrica cerifera* L.) (Recolectados de los bosques naturales del área nor-central de Guatemala).

La materia prima recolectada para el estudio provino del bosque silvestre de los departamentos de Baja Verapaz y El Progreso. Para realizar las extracciones se emplearon dos solventes, agua y alcohol etílico al 70%, como medio para identificar y cuantificar los dos distintos tipos principales de taninos, los taninos hidrolizables (gálicos) y los taninos condensados (catéquicos).

La extracción se llevó a cabo utilizando una plancha de calentamiento con agitación, sobre la cual se colocó la solución acuosa que contenía la frutilla molida de arrayán, y se llevó la misma hasta una temperatura de 70°C y presión constante de 640 mmHg, obteniendo para el lote procedente de Baja Verapaz un contenido promedio de 1.489 mg de ácido tánico; para el lote del departamento de El Progreso el contenido promedio obtenido fue de 1.358 mg.

El procedimiento descrito anteriormente se empleó con el solvente de alcohol etílico al 70%, dando como resultado promedio, para el lote proveniente de Baja Verapaz, un contenido de ácido tánico de 1.468 mg, y para el lote del departamento de El Progreso, un total de ácido tánico de 1.708 mg.

## **OBJETIVOS**

### **General**

Evaluar a nivel de laboratorio el contenido de taninos (ácido tánico) totales en el extracto acuoso y etanólico obtenido del fruto del palo de cera o arrayán o cera San Pascual (*Myrica cerifera* L.) a 70°C.

### **Específicos**

1. Evaluar el contenido de taninos hidrolizables en el fruto del Arrayán, de las dos procedencias, mediante extracción acuosa a 70°C
2. Evaluar el contenido de taninos condensados o no hidrolizables e hidrolizables en el fruto del arrayán, de las dos procedencias, mediante extracción etanólica a 70°C

### **Estadísticos**

1. Determinar si existen diferencias significativas en el contenido de taninos totales obtenidos a partir de las dos procedencias del fruto del arrayán
2. Determinar si existen diferencias significativas en el contenido de taninos obtenidos a partir de los dos solventes utilizados en las extracciones

## **HIPÓTESIS**

El fruto del palo de cera o arrayán posee una cantidad significativa de taninos, mismos que podrían ser extraídos y utilizados industrialmente.

**H<sub>0</sub>** No existe diferencia significativa en el contenido total de taninos independientemente del solvente (agua o etanol) utilizado y del origen del material muestreado.

**H<sub>1</sub>** Existe diferencia significativa en el contenido total de taninos independientemente del solvente (agua o etanol) utilizado y del origen del material muestreado.

## INTRODUCCIÓN

Los taninos son sustancias que se producen y ubican en diferentes partes de las plantas, tales como: corteza, frutos, hojas, raíces y semillas. Tienen un origen común; sin embargo, dependen de la planta de donde son extraídos, lo cual les proporciona así diferencias en tipo, color, calidad y concentración.

Se han realizado estudios para detectar qué tipo de taninos existen en algunas plantas, la calidad de estos y cuáles podrían ser las aplicaciones en los distintos campos ya mencionados. Por ello es que el estudio que se realizó tuvo como finalidad determinar la cantidad de taninos presente en el fruto del arrayán (*Myrica cerifera* L.), mismo que fuera estudiado con anterioridad en el proyecto (50-00) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología titulado “Caracterización de las fracciones extractables contenidas en el fruto del Palo de Cera o Arrayán o Cera San Pascual (*Myrica lindeniana* y/o *cerifera*)”, cuyo investigador principal fue el Ing. César Alfonso García Guerra. En dicho proyecto se realizó el tamizaje fitoquímico al extracto obtenido del fruto del arrayán y que confirma la presencia de taninos.

Para llevar a cabo las extracciones se emplearon dos solventes, polar y prótico, agua y alcohol etílico, como medio para identificar y cuantificar los dos distintos tipos de taninos principales, los taninos hidrolizables (gálicos) y los taninos condensados (catéquicos).

La materia prima recolectada para el estudio provino de bosques silvestres de los departamentos de Baja Verapaz y El Progreso.

Se manejó un diseño experimental cuya finalidad fue determinar si existen diferencias significativas entre las procedencias de dicho fruto y también si hay diferencia entre los extractos.



# 1. MARCO TEÒRICO

## 1.1 Antecedentes

El palo de cera o arrayán es utilizado, en las comunidades rurales de Guatemala, principalmente como fuente de cera vegetal, misma que puede ser empleada para el consumo industrial de empresas grandes, medianas y pequeñas, especialmente para fabricación de velas, cremas cosméticas, pastas para pulir pisos, calzado y vehículos, recubrimientos e impermeabilizantes.

Puesto que este arbusto habita en el bosque silvestre seco tropical y húmedo subtropical y en altitudes que varían entre 1,600 y 2750 msnm, las regiones en donde se han localizado mayores concentraciones de esta planta han sido identificados en los departamentos de Alta y Baja Verapaz, Izabal, Zacapa, Chiquimula, Jalapa, Escuintla, Sacatepéquez, Chimaltenango, Quetzaltenango, Quiché y Huehuetenango.

Las comunidades aledañas a dichos bosques están llevando a cabo un aprovechamiento del fruto del palo de cera o arrayán mediante una extracción exclusiva de la cera gracias a un procedimiento artesanal. Las épocas de cosecha para este fruto se sitúan entre los meses de noviembre y enero para zonas altas, y de marzo a mayo para zonas bajas.

El bajo nivel tecnológico de la extracción por fusión produce un componente cerífero del fruto del palo de cera o cera del arbusto San Pascual Arrayán (*Myrica cerifera*) que contiene una mezcla variada de componentes y fracciones del fruto, como el aceite esencial, la cera, oleorresinas, frutilla, restos vegetales de diferente índole, y se obtiene una limpieza parcial, mas no su refinado, por lo que se puede catalogar dicho producto como **cera vegetal cruda**.

A continuación se consigna la descripción de las Myricaceas (familia Bayberry):

- Son arbustos o árboles pequeños, aromáticos
- con hojas alternas, coriosas, simples, enteras, dentadas, lobuladas, dotadas de resina, usualmente sin estípulas
- con flores pequeñas monoicas y dioicas, solitarias en la bráctea, no posee periantos, estaminífera, generalmente con 4 a 8 estambres insertados en el receptáculo, con filamentos cortos distinguibles o muy poco unidos, con pistilo de una célula ovárica subtendida por 2 u 8 brácteas
- amentos globulares u oblongos
- anteras ovoideas
- células longitudinales dehiscentes
- óvulo solitario, ortóptero, estilo muy corto, los dos estigmas lineales
- frutos pequeños en forma de nuez o drupa, con exocarpo ceroso
- semillas erectas, cotiledón plano convexo

Durante la realización del proyecto financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, titulado “Caracterización de las fracciones extractables contenidas en el fruto del Palo de Cera o Arrayán o Cera San Pascual (*Myrica lindeniana* y/o *cerifera*)”, dirigido por el Ing. Qco. César Alfonso García Guerra, se llevó a cabo la elaboración del trabajo de graduación “Identificación de familias de metabolitos secundarios en *Myrica cerifera* L”, presentado por un estudiante de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Ivo Mahelly Santizo Rodas, de la carrera de Químico Biólogo. En dicho trabajo determinó cualitativamente la presencia de taninos en el fruto del arrayán, tanto gálicos como catéquicos, razón por la cual esta investigación tiene como finalidad determinar, por métodos cuantitativos, el contenido de los mismos en el fruto del arrayán.

El extracto de taninos obtenido por maceración con agua da un principio astringente que reacciona con las pieles produciendo un cuerpo imputrescible. Esto se debe a que los taninos reaccionan con las proteínas precipitando sus disoluciones, la albúmina, la gelatina, las sales metálicas y los álcalis vegetales, distribuyéndose en forma uniforme por todas las uniones peptídicas, con lo que se logra la transformación de la piel en cuero, tomando un color característico dependiendo del agente curtiente utilizado, dejándolo inmune contra el ataque de virus, bacterias, hongos etc., además de no hincharse o hidrolizarse al contacto con el agua.

Los taninos son ácidos muy astringentes, propiedad que los ha identificado como ingredientes útiles en la medicina tradicional; también se utilizan en la preparación de alimentos, maduración de frutas, como ingredientes de bebidas, por ejemplo la cocoa, el té y el vino tinto.

Según Howes (1953), el tratamiento de las pieles mediante los extractos de las plantas tampoco era desconocido en épocas precolombinas. Algunas tribus norteamericanas curtían las pieles de búfalo. Al respecto se ha dicho que “del dominio en el arte de curtir el cuero que alcanzaron los indígenas de Norteamérica tomaron los europeos algunos procedimientos básicamente usados en la industria moderna del curtido”.

La técnica del curtido es conocida desde 1000 años A.C., pero no es hasta el período 1790-1800, en Francia, cuando se aíslan y descubren los químicos base para curtir pieles (Prance y Prance, 1993).

### **1.1.1. Definición de tanino**

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.

### 1.1.2. Propiedades y características de los taninos

- Los taninos son un compuesto que se oxida al contacto con el aire y medios alcalinos
- Astringentes o agrios
- Generalmente amorfos
- Inodoros
- Solubles en agua, soluciones hidroalcohólicas (que genera coloides), glicerina o propilenglicol y acetona
- Generalmente insolubles en éter sulfúrico, éter de petróleo o benceno
- Con las sales de hierro, plomo, cobre, zinc, antimonio, bismuto y mercurio, se precipitan de sus soluciones; igualmente ocurre con el agua de cal, el agua de barita, el molibdato de amonio y el tungstato de sodio
- Se precipitan de las soluciones acuosas con proteínas, especialmente albúminas y gelatinas
- Son combustibles, con un punto de inflamación de 199°C y una temperatura de auto ignición de 528.5°C
- Poco tóxicos por ingestión o inhalación.  $LD_{100} = 0.6 \text{ g / kg}$
- Son ópticamente activos, encontrándose para la rotación máxima  $[\alpha]_D^{20} = + 76.5$
- La solución acuosa de tanino posee una conductibilidad eléctrica pequeña
- Los polifenoles o taninos pueden medirse mediante espectrofotometría visible, aproximadamente con una absorbancia entre 550 y 500 nm

Los taninos fisiológicos forman sustancias imputrescibles con los albuminoides. Aplicando el tanino sobre las heridas en supuración, coagula la secreción y se opone a la descomposición e infecciones posteriores por la formación de una capa protectora. Al interior del cuerpo ha sido recomendado por algunos autores para tratar las formas crónicas de la diarrea y, sobre todo, en la disentería, a la dosis de 1 a 5 centigramos en los niños y 5 a 50 centigramos en adultos, según Izaguirre(1908).

Catani y Duboué han recomendado el tanino en el tratamiento del cólera, el uno como antiséptico, astringente y ácido; el otro como tónico de las células epiteliales del intestino; también ha sido recomendado en el tratamiento de la bronquitis, tuberculosis, nefritis y, sobre, todo como un excelente antídoto de la morfina, la estricnina, la nicotina y, en general, de la mayor parte de los alcaloides, con los cuales forma combinaciones difícilmente solubles y, por lo tanto, inofensivas. El glicerolado de tanino es buen tópico para el herpes prepucial (1 de tanino por 3 de glicerina). El tanino puede servir también de colirio en el tratamiento de oftalmología catarral.

### **1.1.3. Clasificación de los taninos**

Desde el punto de vista biológico los taninos son sustancias complejas producidas por las especies vegetales, que cumplen funciones antisépticas o de conservación.

La clasificación de los taninos se hace con base en los siguientes dos criterios:

a) Productos resultantes de la destilación seca:

- ◆ Taninos hidrolizables o gálicos
- ◆ Taninos condensados o catéquicos

b) Origen:

- ◆ Taninos fisiológicos
- ◆ Taninos patológicos

Los taninos hidrolizables, a su vez, se dividen en:

- ◆ galotaninos, caracterizados por la presencia de ácido galotánico; es común en las agallas del encino y en la raíz del zumaque
- ◆ elagitaninos, cuyo componente principal es el ácido elágico; se obtienen de plantas como el dividivi y el microbálano

Los taninos condensados: se presentan generalmente en la madera, la corteza y las raíces de plantas como el quebracho, la caña agria, el eucalipto, el oyamel y el mangle, entre otras; están constituidos por unidades flavonoides, las cuales soportan diversos grados de condensación, carbohidratos y restos de aminoácidos .

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.

#### **1.1.4. Técnicas de extracción de taninos**

Se continúa con el uso de los mismos procesos rudimentarios de curtiembre, empleando extractos tánicos vegetales, aunque por factores económicos se les ha cambiado por aquellos de fabricación sintética.

Los pasos de extracción de estos curtientes vegetales se resumen en:

- ◆ Molienda
- ◆ Extracción
- ◆ Filtrado
- ◆ Decoloración
- ◆ Evaporación

1.1.4.1. Molienda. Las partes vegetales se muelen hasta la obtención de virutas o astillas de pequeñas dimensiones, en el caso de la madera se utilizan máquinas desmenuzadoras.

1.1.4.2. Extracción. Los procedimientos son de tipo rural e industrial.

- a. Procedimientos rurales. Las pilas de curtición son cubas o barriles de madera, aunque también se emplean ollas grandes de barro cocido, con la siguiente secuela de operación:

En el proceso se observarán las siguientes reglas:

- ◆ El jugo curtiente no debe tener en ningún momento contacto con hierro o con cal; los instrumentos de trabajo y recipientes empleados solo podrán ser de madera, barro, cobre, latón o cestería.
- ◆ El agua usada para la lixiviación, será en general blanda y limpia, y de ser necesario, hay que filtrarla.



- ◆ En la lixiviación, el material vegetal se cubrirá completamente con el agua para evitar la oxidación.
- ◆ Nunca hay que utilizar agua hirviendo.

b. Procedimientos industriales

- ◆ Difusión en tanque abierto. Método adecuado para la extracción de jugos curtientes a partir de corteza, frutos y hojas; el material desmenuzado se coloca en una serie de grandes depósitos de madera o cobre con agua calentada con vapor. Los recipientes se llenan a diferentes tiempos, en rotación, de tal forma que se establezca una contracorriente, en la que el agua nueva entre en contacto con el material más lixiviado.
- ◆ El agua circula a contracorriente con los sólidos, de manera que progresivamente se enriquece en el componente soluble de la sustancia tratada, hasta que al final rebosa del primer compartimento más o menos concentrada. De forma análoga, la sustancia por lixiviar, al avanzar hacia el último compartimento, se pone en contacto con soluciones cada vez más débiles y su contenido de compuestos solubles va disminuyendo.
- ◆ La temperatura del agua del depósito que contiene el material nuevo debe ser de 60°C, aunque en algunas factorías se calienta hasta 82°C; para la extracción de taninos de cortezas se recomienda conservar la temperatura por debajo del punto de ebullición, pues al hervir se propicia la precipitación de compuestos insolubles, con la consecuente pérdida de taninos y el oscurecimiento del producto. El proceso de difusión en tanque abierto tarda de tres a cuatro días.

- ◆ Filtrado. Denominado comúnmente como “colado”, es recomendado para la obtención de jugos curtientes de cortezas y hojas; consiste en llenar un depósito con el material vegetal desmenuzado y someterlo a vapor; a continuación se rocía con agua caliente, y el líquido resultante se retira a través del fondo del depósito. En comparación con el método de tanque abierto, el de colado se completa en la mitad del tiempo.
  
- ◆ Cocción. Método utilizado para extraer taninos de la madera; el material se reduce a partículas pequeñas en astilladoras parecidas a las que se emplean en la manufactura de pulpa para papel y combustible, aunque con mayor desmenuzamiento. El proceso consiste en hervir la madera en depósitos dispuestos en serie o batería. Un depósito se llena con líquido casi saturado y en él se sumerge la madera. Se calienta hasta alcanzar la máxima concentración posible; se retira, y el depósito se llena con el líquido del depósito precedente, de tal manera que el líquido (licor) del primer depósito pasa al segundo, de este al tercero y así sucesivamente, hasta el depósito final. El tiempo de extracción es de un día.
  
- ◆ Autoclave. El proceso utiliza temperaturas superiores al punto de ebullición del agua, en autoclaves de cobre que operan a presiones de  $2 \text{ kg /cm}^2$  dispuestas en batería de ocho unidades, cada una de las cuales contiene  $2.5 \text{ m}^3$  de madera desmenuzada. Las autoclaves modernas están provistas de fondos caedizos operados por cilindros hidráulicos que reducen el ciclo de descarga y carga a tres minutos. El método es económico porque usa menos agua y el tiempo de difusión es de solo 45 minutos.

En los dos últimos procedimientos, los residuos pueden emplearse en la manufactura de papel, tableros aglomerados y combustible. Por otra parte, el calentamiento induce la formación de tanato de hierro (compuesto insoluble de color rojo), por lo que en la última etapa se agrega sulfito sódico o disulfito sódico y se mantienen aquellos en agua fría.

- ◆ Contra corriente o sistema de lixiviación. La sustancia a tratar se introduce en el primer compartimiento, colocado en el extremo de rebosamiento del tanque. El residuo de la lixiviación se descarga en el último compartimiento, el disolvente se adiciona en este, y la solución concentrada que contiene el componente soluble sale por un vertedero colocado en el primer compartimiento. El disolvente circula a contracorriente de la sustancia tratada hasta que, al final, rebosa del primer compartimiento en forma más o menos concentrada.

El clasificador de plataformas múltiples es el principal aparato normalizado que aplica el principio de circulación continua a contracorriente; consiste en una serie de dos o más clasificadores unidos e impulsados por un mismo mecanismo; utiliza un solo tanque dividido en dos a seis compartimientos de lavado con sus correspondientes plataformas de escurrimiento.

1.1.4.3. Filtrado. Los diferentes métodos de extracción producen líquidos concentrados de color muy oscuro con pequeñas impurezas no tánicas, por lo que es indispensable filtrarlos, hasta que se tornen translúcidos; se usan filtros prensa con lonas finas, las cuales se colocan sobre los marcos de los filtros y se inicia la filtración mediante una bomba. Conforme las lonas se tapan, se incrementa la presión. Por último, se inyecta agua caliente para lavar los polvos, que reciben el nombre genérico de cachaza.

1.1.4.4 Decoloración. Los líquidos concentrados y filtrados que se reciben en los tanques de almacenamiento son de color rojo moreno, por lo que se deben someter a un proceso de evaporación directa, o bien a un tratamiento químico a base de dióxido de azufre, para decolorarlos.

La sulfitación de los extractos tánicos se realiza mediante dos sistemas, a saber: escalera, en el cual los líquidos van cayendo por gravedad y, en sentido contrario, asciende la concentración de  $\text{SO}_2$ ; es equivalente al obsoleto proceso de cascada. El otro sistema se lleva a cabo en una torre de 15 a 30 m de altura, llena de piedras calizas y silicosas entre las que desciende lentamente el líquido por sulfitar, y asciende también de forma lenta el  $\text{SO}_2$ , mismo que es inyectado en la torre a través de una pequeña regaderas y una bomba a presión.

1.1.4.5. Evaporación. Se realiza en tanques abiertos o cerrados y al vacío, con calentamiento directo o mediante vapor. En el caso de líquidos decolorados está prohibido el uso de tanques abiertos porque se emite a la atmósfera  $\text{CO}_2$ . Generalmente los tanques se evaporan a sequedad, y están provistos de un agitador interior que de manera constante raspa el fondo para evitar que el tanino se pegue. Sí el calentamiento es directo, se favorece la carbonización del extracto.

Con base en el tipo de presentación, los taninos se clasifican de la siguiente manera:

a. Concentrados líquidos, los cuales requieren mayor evaporación; son de consistencia semejante al caramelo, para poder verterlos en sacos o cubas hasta quedar como un producto amorfo con un contenido de humedad del 20%; también se pasan por máquinas de presión para elaborar cubos de 2 a 3 cm de arista.

b. Extracto en polvo, que se obtiene al concentrar hasta un 45% en vacío; a continuación, el producto es secado al vacío para reducirlo a polvo con una humedad del 5%.

Las concentraciones más comunes son las siguientes:

- Presentación líquida 25 al 45% de tanino
- Presentación sólida 45-65% de tanino
- Presentación en polvo 55-70% de tanino.

Entre las fuentes industriales de taninos provenientes de algunas plantas se destacan las siguientes: robles o encinos (*Quercus* spp.), 17%; mangle (*Rhizophora mangle*), 35%; y las acacias, denominadas también "mimosas", así como algunas especies de pinos (*Pinus* spp.), entre 12.6-17.9 %.

## **2. METODOLOGÍA**

### **2.1. Localización**

La parte experimental del proyecto se realizó en los laboratorios de Química del Área de Química de la Escuela de Ingeniería Química y de la Sección de Química Industrial, del Centro de Investigaciones de Ingeniería -CII- Edificio T-5.

Recursos humanos

Investigador            Otto Javier Cerezo Quezada

Asesor                    Ing. Qco. César Alfonso García Guerra

### **2.2. Metodología experimental**

#### **2.2.1. Preparación de la muestra**

La muestra se obtuvo del arbusto del arrayán, proveniente de dos ubicaciones diferentes, y se utilizó únicamente el fruto.

- La muestra se sometió a separación física en un molino de cuchillas desafiladas, para separar la semilla de la frutilla, en la cual se encuentra el contenido de cera y taninos; es la que se empleó en esta investigación.
- La muestra de frutilla obtenida se tamizó, para emplear un tamaño uniforme que en estudios anteriores demostró concentrar la mayor cantidad de taninos, y que es el que se retiene entre los tamices No. 50 y No. 60.

## **Lote 1**

Bosque natural silvestre, ubicado entre la Sierra de Chuacús y Sierra de las Minas, en el departamento de El Progreso.

1. Coordenadas de muestreo: Longitud de 90°07', Latitud 14°55', Altitud 2000-2499 msnm
2. Génesis del suelo: suelos desarrollados sobre esquistos a elevaciones medianas
3. Zona de vida vegetal: subtropical muy húmeda y montano bajo húmedo
4. Climatología: (B'b'Br). Carácter del clima semi-cálido; variación de la temperatura, con invierno benigno y encinos; distribución de la lluvia sin estación seca bien definida

## **Lote 2**

Bosque natural silvestre, ubicado en la Finca de los Cimientos, localizada en la aldea Matanzas, San Jerónimo, Baja Verapaz, desvío en el km 145 de la carretera a Cobán.

1. Coordenadas de muestreo: Longitud de 90°15', Latitud 15°07', Altitud 1730 msnm
2. Génesis del suelo: suelos desarrollados sobre serpentinita y rocas asociadas a elevaciones medianas
3. Zona de vida vegetal: subtropical muy húmeda y montano bajo húmedo
4. Climatología: (B'b'Cr). Carácter del clima semi-cálido; variación de la temperatura, con invierno benigno, humedad semiseca; vegetación natural característico de pastizales; distribución de lluvia sin estación definida

### 2.2.2. Procedimiento

Se utilizaron los métodos siguientes para la extracción de los taninos hidrolizables y condensados a nivel de laboratorio.

#### **2.2.2.1. Método I. Extracción con agua**

1. Pesar 40 g de frutilla de muestra de la procedencia 1
2. Medir 200 ml de agua destilada
3. Colocar ambas muestras en un vaso de agitación
4. Calentar en una plancha con agitación hasta los 70°C, durante 2 horas
5. Filtrar el extracto obtenido
6. Determinar el contenido de taninos hidrolizables presentes en la muestra
7. Realizar el procedimiento anterior en 3 repeticiones
8. Realizar todos los pasos anteriores en la muestra de la procedencia 2

#### **2.2.2.2. Método II. Extracción con etanol**

1. Pesar 40 g de frutilla de muestra de la procedencia 1
2. Medir 200 ml de etanol al 70%
3. Colocar ambas muestras en un vaso de agitación
4. Calentar en una plancha con agitación hasta los 70°C, durante 2 horas
5. Filtrar el extracto obtenido
6. Determinar el contenido de taninos condensados presentes en la muestra
7. Realizar el procedimiento anterior en 3 repeticiones
8. Realizar todos los pasos anteriores en la muestra de la procedencia 2



### **2.2.2.3 Cuantificación de taninos**

Esta se realizó en la Unidad de Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, según el método descrito en el Seminario Taller Mesoamericano “Metabolitos de interés nutricional en plantas de la región”, abril 1999. Guatemala (ISO 9648: 1988).

#### Análisis estadístico

##### - Diseño de tratamiento

Para el análisis de resultados se utilizó el modelo estadístico de análisis de varianza bifactorial (procedencia de la materia prima y solvente utilizado en la extracción) y de 2 niveles.

##### - Variable de respuesta

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

Contenido de ácido tánico obtenido para cada uno de los solventes y cada una de las localidades de procedencia de la materia prima.

Debido a que lo que se evaluó es el contenido de ácido tánico obtenido en cada tratamiento y en cada procedencia, así como sus comparaciones entre sí, corresponde a un experimento simple de la siguiente forma: Diseño completamente al azar (DCA).

La característica principal del diseño es que los tratamientos se asignan a las unidades experimentales aleatoriamente, sin ninguna restricción. Su uso es muy frecuente cuando el experimento se lleva a cabo bajo condiciones homogéneas de humedad, temperatura, luz, suelo, fertilidad, entre otras.

## Procedimiento

- a. Determinar el número de unidades experimentales ( $n$ ) y numerarlas. Es posible obtener  $n$  al multiplicar el número de tratamientos por el número de repeticiones.

$$(n = t \times r)$$

- b. Asignar el número de unidades experimentales a cada tratamiento usando la tabla de números aleatorios o bien cualquier otra herramienta que sirva a este propósito.
- c. Una vez hecha la distribución anterior (b), numerar las unidades experimentales y localizar los tratamientos de acuerdo al número que les corresponde, y se obtiene así la distribución de campo (croquis de campo).

## Modelo estadístico

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad \begin{array}{l} i = 1, 2, \dots, t \\ j = 1, 2, \dots, r \end{array}$$

de donde,

$Y_{ij}$  = Variable de respuesta de la  $ij$ -ésima unidad experimental

$\mu$  = Efecto de la media general

$\tau_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo tratamiento

$\varepsilon_{ij}$  = Efecto del error experimental asociado a la  $ij$ -ésima unidad experimental.

Análisis de varianza

**Tabla I Datos para análisis de varianza**

| TRATAMIENTOS | REPETICIONES    |                 |                 |     |                 |                |
|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----|-----------------|----------------|
|              | 1               | 2               | 3               | ... | r               | Y <sub>i</sub> |
| 1            | Y <sub>11</sub> | Y <sub>12</sub> | Y <sub>13</sub> | ... | Y <sub>1r</sub> | Y <sub>1</sub> |
| 2            | Y <sub>21</sub> | Y <sub>22</sub> | Y <sub>23</sub> | ... | Y <sub>2r</sub> | Y <sub>2</sub> |
| 3            | Y <sub>31</sub> | Y <sub>32</sub> | Y <sub>33</sub> | ... | Y <sub>3r</sub> | Y <sub>3</sub> |
| .            | .               | .               | .               | ... | .               | .              |
| .            | .               | .               | .               | ... | .               | .              |
| t            | Y <sub>t1</sub> | Y <sub>t2</sub> | Y <sub>t3</sub> | ... | Y <sub>tr</sub> | Y <sub>t</sub> |

Fuente: Marino Barrientos et.al. **Análisis de experimentos con el sistema SAS.** Pág. 4.

Las suposiciones que validan el análisis de varianza son:

- a. Los errores son independientes
- b. Los errores están normalmente distribuidos con media cero y varianza constante.

**Tabla II Análisis de varianza**

| Fuentes de Variación | Grados de libertad (gl) | Suma de Cuadrados  | Cuadrados Medios      | Fc                  |
|----------------------|-------------------------|--|-----------------------|---------------------|
| Tratamientos         | $t - 1$                 | $\sum_{i=1}^r \bar{Y}_i^2 - \frac{Y_{..}^2}{tr}$           | $SC_{trat}/gl_{trat}$ | $CM_{trat}/CM_{ee}$ |
| Error                | $t(r-1)$                | $S_{ctotal} - SC_{trat}$                                   | $SC_{ee}/gl_{ee}$     |                     |
| Total                | $tr-1$                  | $\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r Y_{ij}^2 - \frac{Y_{..}^2}{tr}$ |                       |                     |

Fuente: Marino Barrientos et.al. **Análisis de experimentos con el sistema SAS.** Pág. 4.

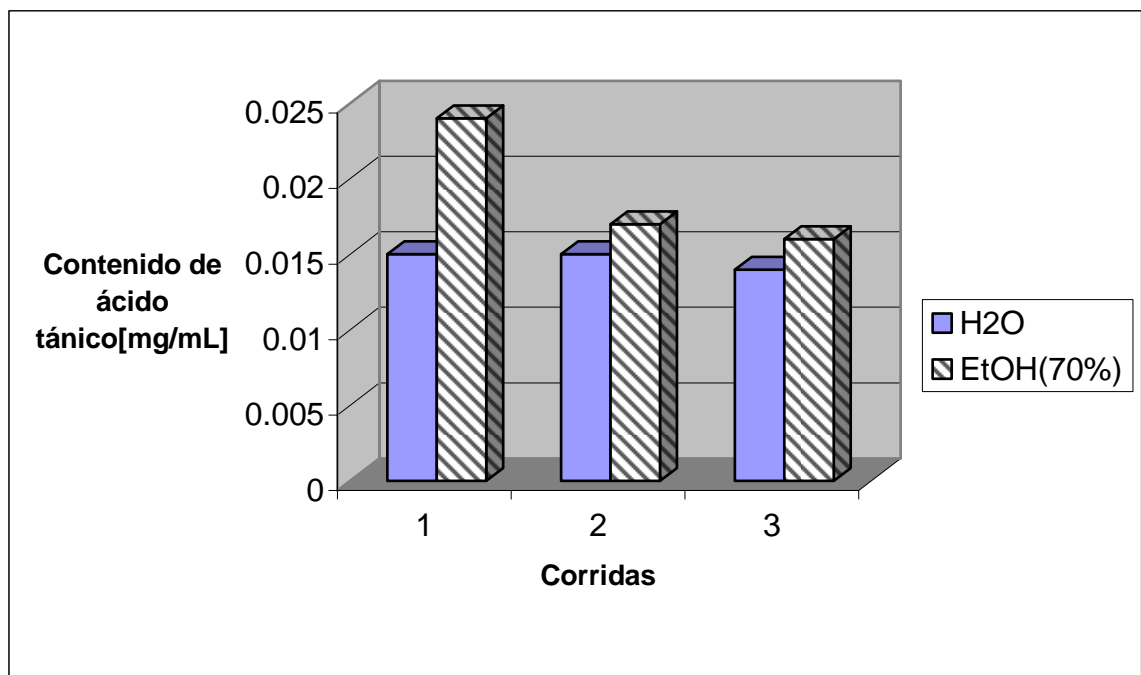
Regla de Decisión

Rechazar  $H_0$ . Si  $F_c \geq F_t$  (gl trat; gl error;  $\alpha$ )

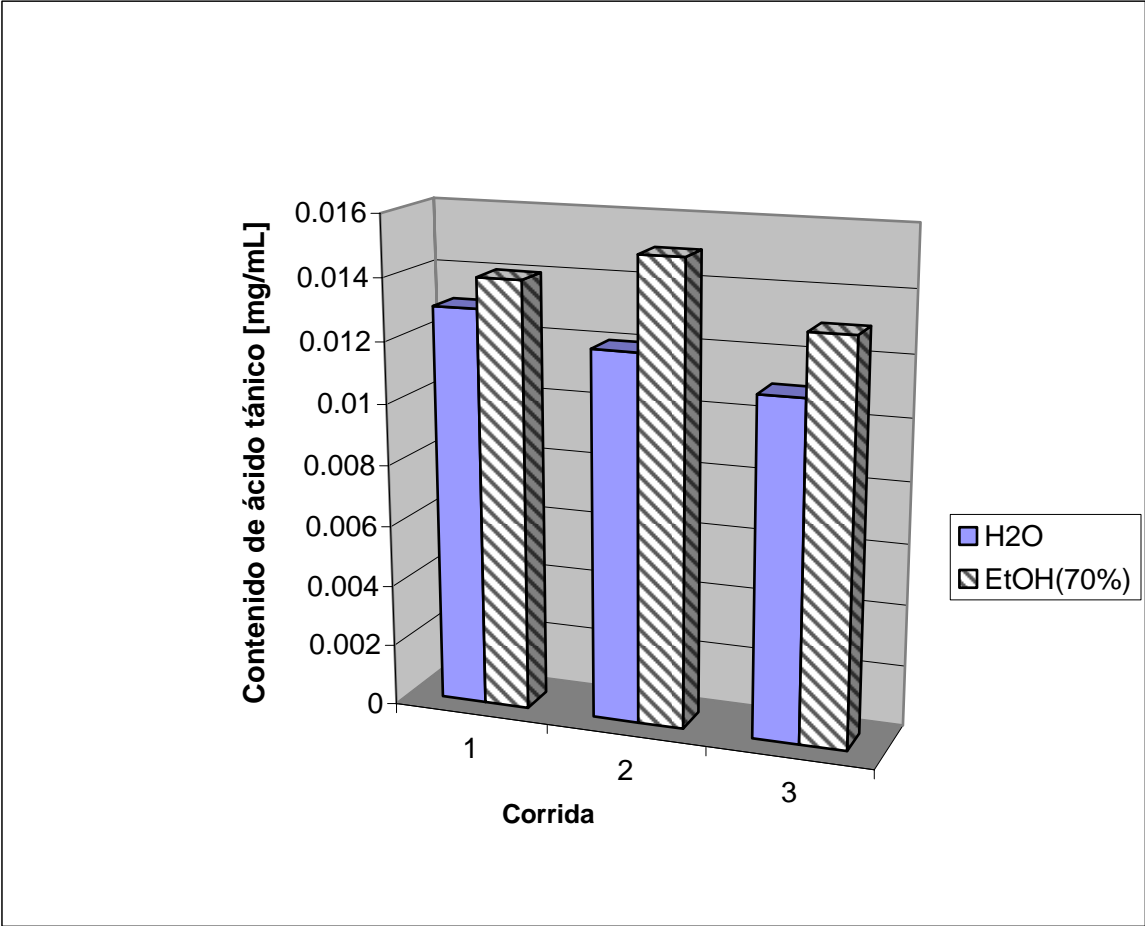
No rechazar  $H_0$ . Si  $F_c \leq F_t$  (gl trat; gl error;  $\alpha$ )

### 3. RESULTADOS

**Figura 1. Descripción del contenido de ácido tánico en la frutilla de arrayán para el lote procedente de Baja Verapaz**



**Figura 2. Descripción del contenido de ácido tánico en la frutilla de arrayán para el lote procedente de El Progreso**



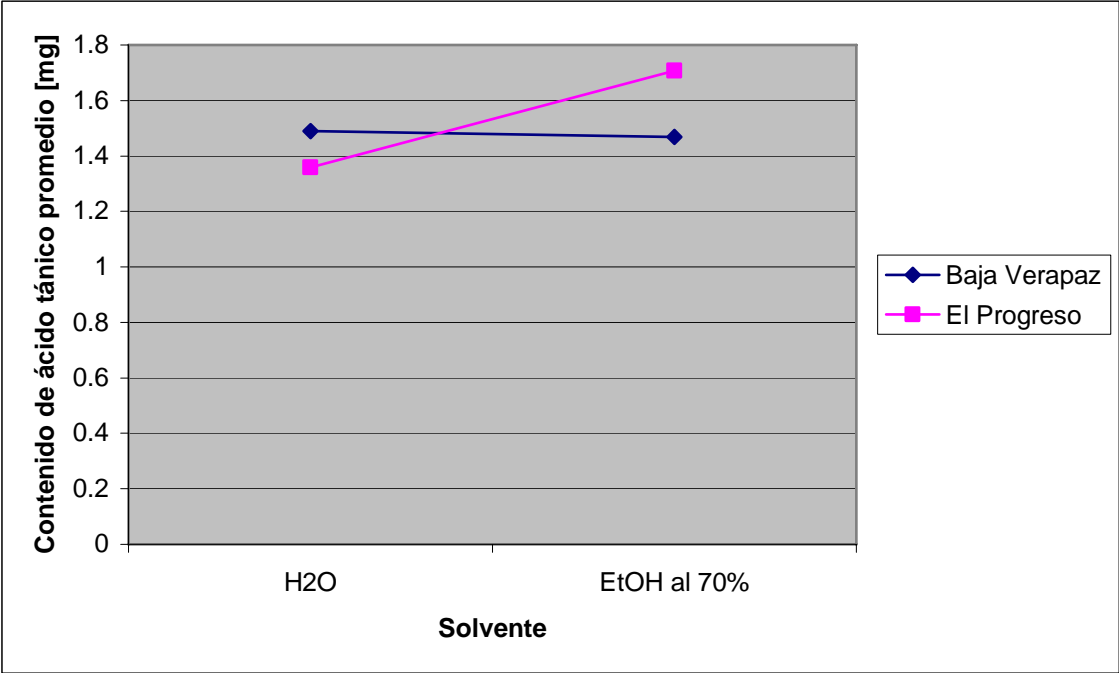
**Tabla III** Contenido de ácido tánico en la frutilla del arrayán para las dos procedencias y los dos solventes utilizados

| Procedencia                  | Solvente             |        |        |                 |        |        |
|------------------------------|----------------------|--------|--------|-----------------|--------|--------|
|                              | H <sub>2</sub> O (1) |        |        | EtOH al 70% (2) |        |        |
|                              | A [mg]               | B [mg] | C [mg] | A [mg]          | B [mg] | C [mg] |
| <b>Baja Verapaz (lote 1)</b> | 1.547                | 1.512  | 1.408  | 1.47            | 1.44   | 1.495  |
| <b>El Progreso (lote 2)</b>  | 1.395                | 1.335  | 1.344  | 1.8             | 1.581  | 1.744  |

**Tabla IV** Contenido de ácido tánico promedio presente en la frutilla del arrayán, a partir de las dos procedencias y los dos solventes utilizados

| Procedencia                    | Solvente                  |                      | Promedio según procedencia [mg] |
|--------------------------------|---------------------------|----------------------|---------------------------------|
|                                | H <sub>2</sub> O (1) [mg] | EtOH al 70% (2) [mg] |                                 |
| <b>Baja Verapaz (lote 1)</b>   | 1.489                     | 1.468                | 1.478                           |
| <b>El Progreso (lote 2)</b>    | 1.358                     | 1.708                | 1.533                           |
| <b>Promedio según solvente</b> | 1.424                     | 1.588                |                                 |

**Figura 3** Descripción del contenido de ácido tánico promedio presente en la frutilla de arrayán, para las dos procedencias y los dos solventes utilizados





## 4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para el caso de la figura 1, que muestra los resultados para el arrayán recolectado en el departamento de Baja Verapaz, se observa una variación mínima entre el ácido tánico obtenido a partir de los dos solventes utilizados en la extracción; para el agua, un contenido promedio de 1.489 mg; y para el etanol al 70%, 1.468 mg. Esto demuestra que el ácido tánico presente en el fruto del arrayán de dicha procedencia está constituido, en su mayoría, por taninos hidrolizables.

En la figura 2 se observa la relación del contenido de ácido tánico obtenido a partir de los dos solventes utilizados para el lote procedente del departamento de El Progreso, resultando el alcohol etílico al 70%, con un contenido de 1.708 mg, como el extractor más efectivo, ya que se obtiene mayor cantidad de ácido tánico que con el agua, con la que se extraen 1.358 mg de ácido tánico. Esto se debe al hecho de que el etanol es capaz de extraer tanto los taninos hidrolizables como los condensados o no hidrolizables, a diferencia del agua, que solamente extrae los taninos hidrolizables.

Según la tabla 4, el contenido de ácido tánico obtenido por medio de extracción acuosa es más alto para el lote procedente del departamento de Baja Verapaz (1.489 mg). Para el caso de la extracción etanólica, se obtiene mayor cantidad de ácido tánico en el lote procedente de El Progreso (1.708 mg). Dicha tabla también muestra el bajo contenido de ácido tánico del arrayán, considerando que se emplearon 40 gr de frutilla del mismo para la extracción, situación que descarta su uso a nivel industrial, ya que se requiere de un rendimiento mucho mayor al obtenido.

Según el análisis estadístico de los datos obtenidos, existe diferencia significativa en el contenido total de taninos obtenido por medio del solvente polar (agua) y por medio del prótico (etanol al 70%) utilizado, debido a la capacidad de cada uno de extraer diferente tipo de taninos. Para el caso del contenido total de taninos obtenido a partir de las dos procedencias (Baja Verapaz y El Progreso) no existe diferencia significativa.

## CONCLUSIONES

1. No existe diferencia significativa en el contenido total de taninos obtenido a partir de las dos procedencias (Baja Verapaz y El Progreso) del material muestreado.
2. El contenido de taninos totales obtenido por medio de extracción acuosa (hidrolizables) es mayor para el lote procedente del departamento de Baja Verapaz, por estar constituido principalmente por taninos hidrolizables.
3. El contenido de taninos totales obtenido por medio de extracción etanólica al 70% (condensados o no hidrolizables e hidrolizables) es mayor para el lote procedente del departamento de El Progreso, por estar conformado este por taninos hidrolizables y por taninos condensados o no hidrolizables.
4. El fruto del arrayán (*Myrica cerifera* L.) no posee una cantidad significativa de taninos que puedan ser útiles a nivel industrial.

## **RECOMENDACIONES**

1. Se recomienda, para la determinación de taninos totales, la extracción etanólica al 70%, debido a la capacidad de la misma para obtener tanto taninos hidrolizables como condensados o no hidrolizables.
2. Se sugiere el estudio de otras partes del arbusto de arrayán, como medios de obtención de taninos para ser utilizados industrialmente.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Badui, S. **Química de los Alimentos**. México: Alambra, 1995.
2. Braverman, J.B.S. **Introducción a la Bioquímica de los Alimentos**. México: El manual moderno SA. 1980.
3. Corporación de fomento de la producción. Chile. **Optimización de producción de taninos**. Universidad de Concepción. Fondo de Desarrollo Productivo (F.D.P. 90/128).
4. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad Nacional Autónoma de Honduras. **Estudio de Prefactibilidad de la Cera de San Pascual**. 1989.
5. García, C. A. y H. Estrada. Evaluación Preliminar de la Cera extraída del árbol de Arrayán (*Myrica cerifera* L.). Tesis de Ingeniería Química. Guatemala, universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 1991.
6. García, C. A. y D. Hernández. Evaluación de las Propiedades Fisicoquímicas de los Concretos y Cera Refinada, Obtenidos del Fruto de Arrayán (*Myrica cerifera* L.) Mediante la Extracción con Solventes Orgánicos (Etanol y Hexano) y Agua. (Recolectados de los bosques naturales del área nor-central de Guatemala). Tesis de Ingeniería Química. Guatemala, universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 2003.
7. García, C. A. y V. Monzón. Evaluación del Proceso de Blanqueo de la Cera del Fruto del Arbol de Arrayán (*Myrica cerifera* L.) a pH=5 y Diferentes Concentraciones de Hipoclorito de Calcio  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  y tiempos de Contacto. Tesis de Ingeniería Química. Guatemala, universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería.
8. Mora Jaramillo, Yolanda de. "Clasificación y notas sobre Técnicas y el desarrollo histórico de las Artesanías Colombianas" Revista de Antropología, Instituto Colombiano de Cultura. (Colombia) (16) pp. 312-31.

9. García, C. A. y G. Pérez. Evaluación de la influencia de la Temperatura y el Tiempo de Proceso en el Blanqueo de la Cera de Arrayán (*Myrica cerifera* L.) a Nivel de Laboratorio por Mezcla del Material Crudo Fundido, con Hipoclorito de Calcio Dihidratado  $\text{Ca}(\text{OCl})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  en Solución. Tesis de Ingeniería Química. Guatemala, universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería.
10. García, C. A. y G. Recinos. Evaluación del Rendimiento de Concretos Obtenidos en la Secuencia Extractiva por Lixiviación Mediante Técnica Soxhlet con Tres Solventes (Hexano, Etanol y Agua) a Partir de Frutos de Arrayán (*Myrica cerifera* L.) Recolectados de los Bosques Naturales del Area Nor-Central de Guatemala. Tesis de Ingeniería Química. Guatemala, universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 2004.
11. **Revista trimestral de difusión de la investigación científica agroquímica de la Universidad de Champigno.** México. Ene-Feb-Mar. Vol. VIII No. 39.
12. Rojas, Ulises. **Botánica.** Guatemala, 1967.
13. Santizo Rodas, Ivo Mahelly. Identificación de Familias de Metabolitos Secundarios en *Myrica cerifera*. Tesis de Químico Biólogo. Guatemala, universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 2004.
14. Seminario taller mesoamericano **Metabolitos de interés nutricional en plantas de la región.** Guatemala, 1999. (ISO 9648: 1988).
15. Stanley, Paul *et al.* **Flora of Guatemala.** Formely curator of the Herbarium, Fieldianan: Botany. Published by: Chicago Natural History Museum. (24, parte I). 1958.
16. Subdirección de Ingeniería Rural, Dirección de Fomento de Tierras y Aguas. FAO. **Técnicas de Curtición Rural.** Italia. 1961.
17. Suchini Leytán, José Manuel. Comparación de Rendimientos de Dos Métodos de Extracción de Taninos (Acido Pinutánico) a Partir de la Corteza del Pino Caribe (*Pinus caribaea*) a Nivel de Laboratorio. Tesis de Ingeniería Química. Guatemala, universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería. 2002.
18. Ugaz Lock, Olga de. **Investigación Fitoquímica.** Perú. 1994.
19. Vian Ortuño, Ángel. **Curso de Introducción a la Química Industrial.** España. 1979.

## **APÉNDICES**

## APÉNDICE A

**Tabla V Análisis de varianza**

Pruebas de efectos entre-sujetos

Variable dependiente: taninos

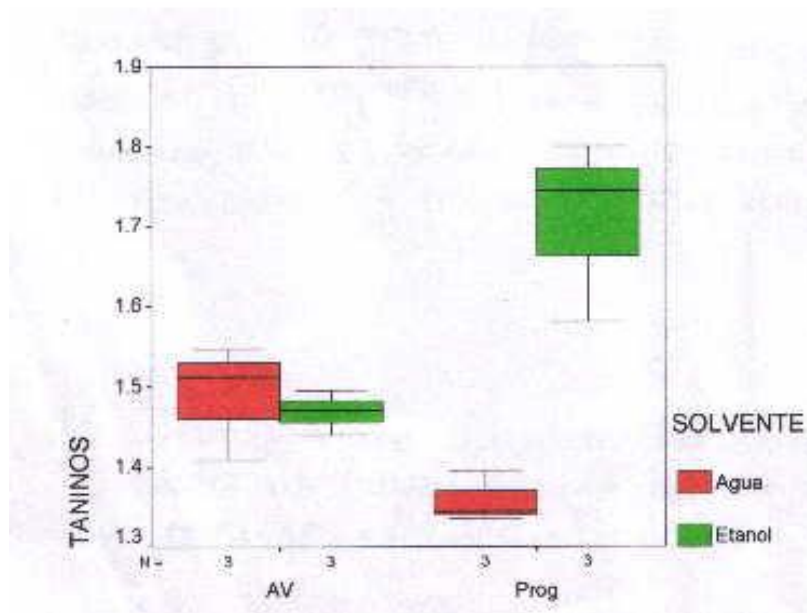
| Fuente               | Tipo III Suma de cuadrados | df | Media      | F        | Significancia |
|----------------------|----------------------------|----|------------|----------|---------------|
| Modelo corregido     | .194                       | 3  | 6.4545E-02 | 12.925   | .002          |
| Intercepto           | 27.213                     | 1  | 27.213     | 5449.041 | .000          |
| Procedencia          | 8.911E-03                  | 1  | 8.911E-03  | 1.784    | .218          |
| Solvente             | 8.151E-02                  | 1  | 8.151E-02  | 16.321   | .004          |
| Procedencia-Solvente | .103                       | 1  | .103       | 20.670   | .002          |
| Error                | 3.995E-02                  | 8  | 4.994E-03  |          |               |
| Total                | 27.447                     | 12 |            |          |               |
| Total corregido      | .234                       | 11 |            |          |               |

Medias de márgenes estimados.

Variable dependiente: taninos

| Media | Error estándar | Límite inferior | Límite superior |
|-------|----------------|-----------------|-----------------|
| 1.506 | .020           | 1.459           | 1.553           |

**Figura 4. Gráfica de caja del contenido de taninos según la procedencia para cada solvente**





## APÉNDICE B

**Tabla VI Datos originales, cálculos de muestra y extracto**

|                 |               | Concentración<br>[mg/ml] | Volumen extraído<br>[ml] | Contenido de<br>ácido tánico<br>[mg] |
|-----------------|---------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------------------|
| Baja<br>Verapaz | Agua          | 0.013                    | 119                      | 1.547                                |
|                 |               | 0.012                    | 126                      | 1.512                                |
|                 |               | 0.011                    | 128                      | 1.408                                |
|                 | Etanol al 70% | 0.014                    | 105                      | 1.470                                |
|                 |               | 0.015                    | 96                       | 1.440                                |
|                 |               | 0.013                    | 115                      | 1.495                                |
| El Progreso     | Agua          | 0.015                    | 93                       | 1.395                                |
|                 |               | 0.015                    | 89                       | 1.335                                |
|                 |               | 0.014                    | 96                       | 1.344                                |
|                 | Etanol al 70% | 0.024                    | 75                       | 1.800                                |
|                 |               | 0.017                    | 93                       | 1.581                                |
|                 |               | 0.016                    | 109                      | 1.744                                |

## **APÉNDICE C**

### **Determinación del contenido tánico**

#### a. Principio

La extracción de taninos se logra por agitación con dimetilformamida. Posteriormente se centrifuga y se adicionan citrato férrico y amoniaco a una alícuota del sobrenadante y se lee la absorbancia de la solución obtenida en espectrofotómetro a 525 nm. Se determina el contenido de taninos usando una curva de calibración preparada con ácido tánico.

#### b. Reactivos

Todos los reactivos deben ser de grado analítico, y el agua debe ser destilada.

- Ácido tánico

El ácido tánico tiene una influencia definitiva en la curva de calibración, por lo que se recomienda el uso del ácido tánico 773 de referencia de la Merck. Una vez preparada la solución, puede ser guardada por una semana. La solución estándar se prepara en una concentración de 2mg/ml.

- Solución amoniacal

Una solución de 8 g/LK de  $\text{NH}_3$  se prepara diluyendo 0.8928 ml de hidróxido de amonio en 100 ml de agua.

- Dimetilformamida

Solución al 75% (V/V) en agua.

- Citrato férrico de amonio (sigma F-5879 o Pardo)

El contenido de hierro debe estar entre 17% a 20%. La solución de 3.5 g/L debe ser preparada 24 horas antes de que se use. El contenido de hierro en el citrato debe ser observado cuidadosamente, ya que puede influir en los resultados.

#### c. Procedimiento

En algunas de las cantidades expresadas en este procedimiento se incluyen entre paréntesis la variación del procedimiento, es decir, las condiciones en las que en realidad se trabajó.

1. Introduzca cerca de 1 g (0.5g) de la muestra de ensayo en un tubo de centrifuga.
2. Usando una pipeta introduzca 20 ml (10ml) de solución de dimetilformamida en el tubo de centrifuga, tape el tubo herméticamente y agite durante 60 minutos con agitador. Después, centrifugue durante 10 minutos.
3. Extraiga 1 ml del sobrenadante e introdúzcalo en un tubo de ensayo; posteriormente añada 6 ml de agua y 1 ml de solución amoniacal, y mezcle en agitador de tubos.

4. Añada 1 ml de sobrenadante en un tubo de ensayo. Después, añada 5 ml de agua y 1 ml de solución de citrato férrico; mezcle con agitador. Añada posteriormente 1 ml de solución amoniaca y mezcle.
5. Transfiera las soluciones anteriores a una celda de medición, y después de 10 minutos lea en espectrofotómetro a 525 nm contra el blanco. El resultado es la diferencia entre las absorbancias.

◆ Curva de calibración

Preparar la curva de calibración en el día de la determinación, como se indica a continuación:

1. Preparar 6 matraces aforados de 20 ml (25ml) usando pipetas graduadas. Añada 0,1,2,3,4 y 5 ml de solución de ácido tánico, respectivamente, aforando con la solución de dimetilformamida. La escala de calibración obtenida corresponde a 0, 0.1(0.092), 0.2(0.184), 0.3(0.276), 0.4(0.368) y 0.5(0.46) mg/ml de ácido tánico, respectivamente.
2. Pipetear en tubos de ensayo 1 ml de cada una de esas soluciones y añadir sucesivamente, usando una pipeta, 5ml de agua y 1 ml de solución de citrato férrico de amonio, y mezclar por pocos segundos usando el agitador. Transferir las soluciones así obtenidas a celdas de medición, y después de 10 minutos medir las absorbancias a 525 nm, usando espectrofotómetro contra un blanco de agua.
3. Plantear la curva de calibración usando valores de absorbancia en las ordenadas y las concentraciones de ácido tánico en las abscisas, expresando los volúmenes como mg/ml. La curva no puede pasar a través del origen y no debe ser corregido en cero de la escala.

◆ Expresión de los resultados

El contenido de taninos expresado como el porcentaje de masa de ácido tánico en relación con la materia húmeda

Fórmula utilizada

$$\% \text{ ácido pinutánico} = \frac{80 c}{M} \times \frac{100}{100-H} \times 100$$

Donde:

c: la concentración de ácido tánico en mg/ml de las soluciones de ensayo; caída de la curva de calibración.

M: la masa en miligramos de la porción de extracto

H: humedad de la muestra.