



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

**CONTENIDO DE TANINOS PRESENTES EN LA CORTEZA DE
PINO PALO BLANCO (*pinus maximinoi* H.E. Moore), EN FUNCIÓN
DE DOS ETAPAS DE CRECIMIENTO**

Karen Cecilia González Hidalgo

Asesorado por la Inga. Telma Maricela Cano Morales

Guatemala, octubre de 2010

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**CONTENIDO DE TANINOS PRESENTES EN LA CORTEZA DE
PINO PALO BLANCO (*pinus maximinoi* H.E. Moore), EN FUNCIÓN
DE DOS ETAPAS DE CRECIMIENTO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA

POR:

KAREN CECILIA GONZÁLEZ HIDALGO

ASESORADO POR LA INGA. TELMA MARICELA CANO MORALES

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERA QUÍMICA

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2010

UNIVERSIDAD DE SAN CALOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL I	Inga. Glenda Patricia García Soria
VOCAL II	Inga. Alba Maritza Guerrero de López
VOCAL III	Ing. Miguel Ángel Dávila Calderón
VOCAL IV	Br. Luis Pedro Ortiz de León
VOCAL IV	Br. José Alfredo Ortiz Henricx
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
EXAMINADOR	Ing. César Alfonso García
EXAMINADOR	Ing. Williams Álvarez Mejía
EXAMINADOR	Ing. José Manuel Tay Oroxom
SECRETARIA	Inga. Marcia Ivonne Véliz Vargas

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

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

**CONTENIDO DE TANINOS PRESENTES EN LA CORTEZA DE
PINO PALO BLANCO (*pinus maximoi* H.E. Moore), EN FUNCIÓN
DE DOS ETAPAS DE CRECIMIENTO,**

tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, en enero de 2007.

Karen González

Karen Cecilia González Hidalgo



CENTRO DE INVESTIGACIONES DE INGENIERIA
FACULTAD DE INGENIERIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



Nº 13160

Guatemala 05 de febrero de 2,010.

Ing. Williams Guillermo Álvarez Mejía
Director de la escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Universidad de San Carlos de Guatemala

Ingeniero Álvarez Mejía:

Con un cordial saludo me dirijo a usted para informarle que he asesorado y aprobado el informe final de trabajo de graduación titulado: **CONTENIDO DE TANINOS PRESENTES EN LA CORTEZA DE PINO PALO BLANCO (*pinus maximinoides* H.E. Moore), EN FUNCION DE DOS ETAPAS DE CRECIMIENTO**, elaborado por la estudiante de Ingeniería Química Karen Cecilia González Hidalgo con número de carné: 1998-11798.

Considero que el informe final de trabajo de graduación desarrollado por la estudiante González Hidalgo, satisface los requisitos exigidos; por lo que solicito se sirva remitirlo para su respectiva revisión.

Agradeciendo la atención a la presente.

Atentamente,

Inga. Telma Maricela Cano Morales
Directora del centro de Investigaciones
Facultad de Ingeniería
Colegiada 433





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

Guatemala, 22 de junio de 2010
Ref.EIQ.TG.73.2010

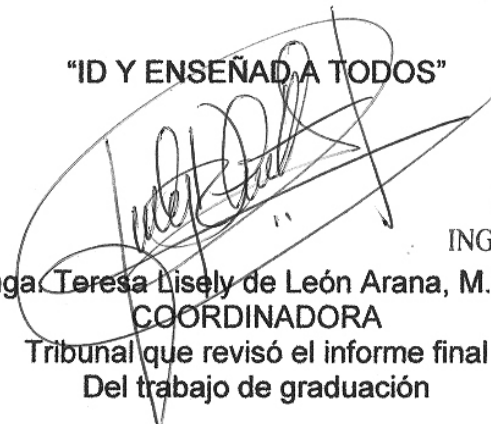
Ingeniero
Williams Guillermo Álvarez Mejía
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Presente.

Estimado Ingeniero Álvarez:

Como consta en el Acta TG-026-10-B-IF le informo que reunidos los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del informe final del trabajo de graduación, para optar al título de INGENIERA QUÍMICA a la estudiante universitaria **KAREN CECILIA GONZÁLEZ HIDALGO**, identificada con carné No. **1998-11798**, titulado: **CONTENIDO DE TANINOS PRESENTES EN LA CORTEZA DE PINO PALO BLANCO (*pinus maximinoi* H.E. Moore), EN FUNCIÓN DE DOS ETAPAS DE CRECIMIENTO**, el cual ha sido asesorado por la Ingeniera Química **Telma Maricela Cano Morales**.

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

"ID Y ENSEÑAR A TODOS"


Inga Teresa Lisely de León Arana, M.Sc.
COORDINADORA
Tribunal que revisó el informe final
Del trabajo de graduación



ESCUELA DE
INGENIERIA QUIMICA

C.c.: archivo



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

Ref.EIQ.TG.095.2010

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación de la estudiante **KAREN CECILIA GONZÁLEZ HIDALGO** titulado: **"CONTENIDO DE TANINOS PRESENTES EN LA CORTEZA DE PINO PALO BLANCO (pinus maximinoi H.E. Moore), EN FUNCIÓN DE DOS ETAPAS DE CRECIMIENTO"**. Procede a la autorización del mismo, ya que reúne rigor, coherencia y calidad requeridos.

Ing. Williams Guillermo Álvarez Mejía
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, octubre de 2010

Cc: Archivo
WGAM/am



Universidad de San Carlos
de Guatemala

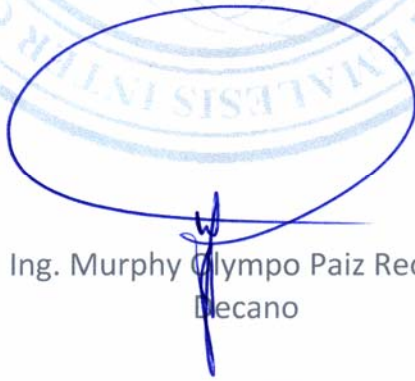


Facultad de Ingeniería
Decanato

DTG. 307.2010

El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de graduación titulado: **CONTENIDO DE TANINOS PRESENTES EN LA CORTEZA DE PINO PALO BLANCO (*pinus maximinoi* H.E. Moore), EN FUNCIÓN DE DOS ETAPAS DE CRECIMIENTO**, presentado por la estudiante universitaria **Karen Cecilia González Hidalgo**, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:



Ing. Murphy Olimpo Paiz Recinos
Decano

Guatemala, 8 de octubre de 2010.



/gdech

ACTO QUE DEDICO A:

DIOS	Por bendecir cada día de mi vida.
MI HIJO	Paulo Roberto, por ser mi inspiración.
MIS PADRES	Talia Ingrid Hidalgo Rodríguez y Roberto Esaú González Trabanino, por su amor y dedicación.
MIS ABUELITOS	Lidia Rodríguez Torres, Bienvenido Hidalgo Herrera, por su apoyo y amor.

AGRADECIMIENTOS A:

DIOS	Por su infinito amor y por guiar mis pasos.
MI HIJO	Por ser mi gran inspiración.
MI ESPOSO	Por su amor y apoyo.
MIS PADRES	Por su amor, dedicación y apoyo.
MIS ABUELITOS	Por su amor y apoyo.
MIS TÍOS	Carlos Hidalgo, Olinto Hidalgo, Carlos González, Lucrecia de Hidalgo y Anna Motta de González.
MIS PRIMOS	Por su cariño y apoyo, con especial cariño a mi prima Jeniffer Hidalgo.
MIS AMIGAS	Adela, Angélica, Evelyn, Gabriela, Julia, Merari, y Susana.
MI ASESORA	Inga. Telma Cano, por su inmenso apoyo y cariño.
MI REVISOR	Ing. César García, por su inmenso apoyo.
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA	Por ser la fuente de adquisición de valiosos conocimientos, que me brindó la formación del nuevo profesional que soy.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	VII
LISTA DE SÍMBOLOS	XV
GLOSARIO	XVII
RESUMEN	XIX
OBJETIVOS	XXI
HIPÓTESIS	XXIII
INTRODUCCIÓN	XXV
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Taninos	3
2.1.1 Definición	3
2.1.2 Características	7
2.1.3 Clasificación	8
2.1.3.1 Taninos hidrolizables o pirogálicos	8
2.1.3.2 Taninos condensados y su concentración en las plantas	9
2.2 Composición química de la corteza de pino	11
2.3 Curtientes vegetales	13
2.3.1 Molienda	13
2.3.2 Extracción	13

2.3.2.1	Procedimientos rurales	14
2.3.2.2	Procedimientos industriales	15
2.3.3	Filtrado	18
2.3.3.1	Decoloración	18
2.3.4	Evaporación	19
2.3.4.1	Concentrados líquidos	19
2.3.4.2	Extracto en polvo	19
2.4	Procesos de lixiviación	20
2.4.1	Ecología	22
2.4.2	Geología	22
2.4.3	Aplicaciones prácticas	22
2.4.4	Metalurgia extractiva	23
2.4.5	Preparación del sólido	23
2.4.6	Temperatura de lixiviación	25
2.4.7	Métodos de operación y equipo	26
2.4.8	Operaciones de estado no estacionario	26
2.4.8.1	Lixiviación <i>in situ</i>	27
2.4.8.2	Lixiviación a la intemperie	27
2.4.8.3	Tanques de percolación	28
2.4.8.4	Contacto múltiple a contracorriente: el sistema de Shanks	29
2.4.8.5	Percolación en tanques cerrados	31
2.4.8.6	Lixiviación en filtro prensa	32
2.4.8.7	Tanques con agitación	32
2.4.8.8	Percolación vs. agitación	34
2.4.9	Operaciones en estado estacionario (continuo)	34
2.4.9.1	Lixiviación mediante el molido	35
2.4.9.2	Tanques con agitación	35
2.4.9.3	Lixiviación de semillas vegetales	37

2.4.10	Métodos de cálculos	39
2.4.10.1	Eficiencia de las etapas	39
2.4.10.2	Equilibrio práctico	40
2.4.10.3	Lixiviación en una sola etapa	41
2.4.10.4	Lixiviación en varias etapas a corriente cruzada	43
2.4.11	Naturaleza del disolvente	44
2.4.11.1	Fluidos incompresibles	44
2.4.11.2	Disolventes polares	44
2.4.11.3	Disolventes no polares	44
2.4.11.4	Fluidos compresibles	45
2.4.11.5	Fluidos supercríticos	45
2.4.11.6	Mezclas de disolventes	45
2.4.11.7	Realizar un cambio en el pH	45
2.4.11.7.1	Propiedades químicas, acidez de los fenoles	46
2.4.11.8	Realizar un cambio en la constante dieléctrica	47
2.5	Biopreservantes de maderas, basados en taninos u otros extractivos	48
2.6	Determinación cuantitativa de contenido de tanino	50
2.7	Sulfito de sodio	52
2.7.1	Datos fisicoquímicos	53
2.7.2	Aplicaciones	53
2.7.3	Toxicología	54
2.8	Análisis instrumental, cromatografía líquida de alta presión	55
2.8.1	Instrumental	56
2.9	Descripción de <i>Pinus maximinoi</i>	57
2.9.1	Clasificación taxonómica	57
2.9.2	Descripción morfológica	58

2.9.3	Distribución en Guatemala	59
2.9.4	Características y propiedades de la madera	60
2.9.5	Productos derivados del bosque	61
2.9.5.1	Productos primarios	61
2.9.5.2	Productos secundarios	61
2.9.6	Distribución de biomasa	62
3.	DISEÑO METODOLÓGICO	65
3.1	Variables	65
3.2	Delimitación de campo de estudio	65
3.3	Recursos	66
3.3.1	Recursos humanos disponibles	66
3.3.2	Recursos materiales disponibles	66
3.3.2.1	Equipo y cristalería	66
3.3.2.1.1	Plancha de calentamiento	66
3.3.2.1.2	Balanza	67
3.3.2.1.3	Bomba de vacío	68
3.3.2.1.4	HPLC	68
3.3.2.1.5	Columnas y pre columna HPLC	69
3.3.2.1.6	Balanza de humedad	70
3.3.2.1.7	Secador eléctrico de bandejas	70
3.3.2.2	Cristalería	70
3.4	Técnica cualitativa y cuantitativa	71
3.4.1	Determinación volumétrica del porcentaje de taninos	71
3.4.2	Reacción de cloruro férrico	72
3.4.3	Reacción a realizar de acetato de plomo	72
3.5	Recolección y ordenamiento de información	72

3.6	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la Información	73
3.6.1	Extracción con solución acuosa de bisulfito de sodio al 2%	73
3.6.2	Procedimiento de identificación por medio de HPLC	74
3.7	Análisis estadístico	75
4.	RESULTADOS	77
5.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	95
	CONCLUSIONES	101
	RECOMENDACIONES	103
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105
	BIBLIOGRAFÍA	109
	APÉNDICE	111
	APÉNDICE A: Datos calculados	113
	APÉNDICE B: Muestra de cálculo	117
	APÉNDICE C: Gráficas de HPLC para la identificación de taninos	119

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1. Reacción con sal férrica	7
2. Estructura de ácido gálico y ácido elágico	9
3. Proceso de lixiviación en la metalurgia	23
4. Contacto múltiple a contracorriente, sistema de Shanks	30
5. Difusor de remolacha (cortesía de <i>Institution of Chemical Engeeniars</i>)	32
6. Tanques de lixiviación por lotes con agitación	33
7. Arreglo esquemático de Rotocel	38
8. Diagramas típicos en el equilibrio	41
9. Lixiviación o lavado en una sola etapa	42
10. Gráfica lixiviación o lavado en una sola etapa	43
11. Complejo tanino-metal, señalando la afinidad de un metal por los grupos oxidrilo en el anillo – B del flavonoide	50
12. Esquema de equipo de cromatografía líquida	56
13. Corteza de <i>Pinus maximinoi</i>	63
14. Plancha de calentamiento	67
15. Balanza	67
16. Bomba de vacío	68
17. HPLC	69
18. Columnas Selec B y L1 (RP-18), pre columna HPLC	69
19. Balanza de humedad	70
20. Distribución de los resultados experimentales del porcentaje	

de rendimiento acumulado de extracto tánico, en función de las extracciones realizadas a las especies, adulta y joven, del <i>Pinus maximinoi</i>	85
21. Distribución de los resultados experimentales del porcentaje de rendimiento relativo de extracto tánico, en función de las extracciones realizadas a las especies, adulta y joven, del <i>Pinus maximinoi</i>	87
22. Distribución de los resultados experimentales del contenido de taninos, en la corteza acumulada, en función de las extracciones realizadas a las especies, adulta y joven, del <i>Pinus maximinoi</i>	89
23. Distribución de los resultados experimentales del contenido de taninos, en la extracción acumulada, en función de las extracciones realizadas a las especies, adulta y joven, del <i>Pinus maximinoi</i>	91
24. Diagrama de procedimiento para la elaboración del trabajo de graduación de evaluación de contenido de taninos presentes en la corteza de pino Palo Blanco (<i>Pinus maximinoi</i>), en función de dos etapas de crecimiento	111
25. Diagrama de causa y efecto para determinar las variables en el proceso de lixiviación	112
26. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A1, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la primera extracción sucesiva	121
27. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A1, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la segunda extracción sucesiva	122
28. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A1, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la tercera extracción sucesiva	123
29. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A2, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la primera extracción sucesiva	124

30. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A2, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la segunda extracción sucesiva	125
31. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A2, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la tercera extracción sucesiva	126
32. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A3, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la primera extracción sucesiva	127
33. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A3, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la segunda extracción sucesiva	128
34. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A3, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la tercera extracción sucesiva	129
35. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A4, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la primera extracción sucesiva	130
36. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A4, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la segunda extracción sucesiva	131
37. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A4, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la tercera extracción sucesiva	132
38. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A5, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la primera extracción sucesiva	133
39. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A5, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la segunda extracción	

sucesiva	134
40. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A5, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la tercera extracción sucesiva	135
41. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J1, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la primera extracción sucesiva	136
42. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J1, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la segunda extracción sucesiva	137
43. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J1, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la tercera extracción sucesiva	138
44. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J2, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la primera extracción sucesiva	139
45. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J2, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la segunda extracción sucesiva	140
46. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J2, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la tercera extracción sucesiva	141
47. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J3, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la primera extracción sucesiva	142
48. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J3, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la segunda extracción sucesiva	143
49. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J3, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la tercera extracción sucesiva	144
50. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J4, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la primera extracción sucesiva	145
51. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J4, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la segunda extracción sucesiva	146
52. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J4, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la tercera extracción sucesiva	147
53. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J5, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la primera extracción sucesiva	148

54. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J5, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la segunda extracción sucesiva	149
55. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J5, de la especie <i>Pinus maximinoi</i> , en la tercera extracción sucesiva	150

TABLAS

I. Porcentaje de rendimiento de la corteza de la especie joven de <i>Pinus maximinoi</i> , posterior al proceso de maceración dinámica y porcentaje de taninos en el extracto tánico	77
II. Porcentaje de rendimiento de la corteza de la especie adulta de <i>Pinus maximinoi</i> , posterior al proceso de maceración dinámica y porcentaje de taninos en el extracto tánico	78
III. Porcentaje de rendimiento absoluto, acumulado y relativo de taninos en la primera extracción del árbol adulto de <i>Pinus maximinoi</i>	79
IV. Porcentaje de rendimiento absoluto, acumulado y relativo de taninos en la segunda extracción del árbol adulto de <i>Pinus maximinoi</i>	79
V. Porcentaje de rendimiento absoluto, acumulado y relativo de taninos en la tercera extracción del árbol adulto de <i>Pinus maximinoi</i>	80
VI. Porcentaje de rendimiento absoluto, acumulado y relativo de taninos en la primera extracción del árbol joven de <i>Pinus</i>	

<i>maximinoi</i>	80
VII. Porcentaje de rendimiento absoluto, acumulado y relativo de taninos en la segunda extracción del árbol joven de <i>Pinus maximinoi</i>	81
VIII. Porcentaje de rendimiento absoluto, acumulado y relativo de taninos en la tercera extracción del árbol joven de <i>Pinus maximinoi</i>	81
IX. Contenido de taninos en la corteza, en extracto tánico y acumulación en la primera extracción del árbol adulto de <i>Pinus maximinoi</i>	82
X. Contenido de taninos en la corteza, en extracto tánico y acumulación en la segunda extracción del árbol adulto de <i>Pinus maximinoi</i>	82
XI. Contenido de taninos en la corteza, en extracto tánico y acumulación en la tercera extracción del árbol adulto de <i>Pinus maximinoi</i>	83
XII. Contenido de taninos en la corteza, en extracto tánico y acumulación en la primera extracción del árbol joven de <i>Pinus maximinoi</i>	83
XIII. Contenido de taninos en la corteza, en extracto tánico y acumulación en la segunda extracción del árbol joven de <i>Pinus maximinoi</i>	84
XIV. Contenido de taninos en la corteza, en extracto tánico y acumulación en la tercera extracción del árbol joven de <i>Pinus maximinoi</i>	84
XV. Análisis de varianza para el porcentaje de rendimiento acumulado en el extracto tánico	86
XVI. Comparación de Tuckey, según la cantidad de extracciones en el rendimiento acumulado	87

XVII. Análisis de varianza para el porcentaje de rendimiento relativo en el extracto tánico	88
XVIII. Comparación de Tuckey, según la cantidad de extracciones de extracto tánico en el rendimiento acumulado	89
XIX. Análisis de varianza para el porcentaje de taninos en la corteza acumulada en cada extracción	90
XX. Comparación de Tuckey, según la cantidad de taninos en la corteza acumulada de cada extracción	91
XXI. Análisis de varianza para el porcentaje de taninos en el extracto acumulado en cada extracción	92
XXII. Comparación de Tuckey, según la cantidad de taninos en el extracto acumulado de cada extracción	93
XXIII. Porcentaje de humedad de la corteza joven de <i>Pinus maximinoi</i> , previo a la maceración dinámica	113
XXIV. Porcentaje de humedad de la corteza adulta de <i>Pinus maximinoi</i> , previo a la maceración dinámica	114
XXV. Determinación del porcentaje de taninos en la corteza del árbol adulto y en el extracto tánico del <i>Pinus maximinoi</i>	115
XXVI. Determinación del porcentaje de taninos en la corteza del árbol joven y en el extracto tánico del <i>Pinus maximinoi</i>	116
XXVII. Identificación de presencia de taninos en las extracciones sucesivas de los árboles adultos de la especie de Pino (<i>Pinus maximinoi</i>), por medio de cromatografía líquida de alta presión HPLC	119
XXVIII. Identificación de presencia de taninos en las extracciones sucesivas de los árboles jóvenes de la especie de Pino (<i>Pinus maximinoi</i>), por medio de cromatografía líquida de alta presión HPLC	120

LISTA DE SÍMBOLOS

mm	Milímetros
cm	Centímetros
m	Metros
°C	Grados Celsius
C-C	Enlace carbono – carbono
nm	Nanómetros
R	Radio
TC	Taninos condensados
TH	Taninos hidrolizables

GLOSARIO

Agalla	Tumor con aspecto variado (esférico, haces de filamentos, etc.) que presentan algunas plantas al ser picadas por insectos.
Antisepsia	Método que consiste en combatir o prevenir las enfermedades infecciosas, destruyendo los microbios que las causan.
Astringente	Propiedad que seca la piel y las mucosas.
Colágeno	Molécula que compone el corium o dermis, se compone de moléculas plipeptídicas torcidas entrelazadas en forma coloidal.
Curtiente	Producto preparado por extracción acuosa de materiales tánicos, seguido por la concentración de las soluciones, ya sea como un extracto líquido o un extracto sólido.
Extracción	Método de separación que puede ser líquido – líquido y/o sólido – líquido.
Extracto	Operación que consiste en separar partículas sólidas de una líquida por medios mecánicos.
Fungicida	Producto químico que destruye los hongos.
Fuste	Parte aérea de las plantas, generalmente cilíndrica y de naturaleza xilemática o leñosa que sostiene a las ramas, hojas,

flores y frutos. Parte comercialmente aprovechable del eje principal del árbol.

- Ignición** Estado de un cuerpo que arde o está incandescente.
- Lixiviación** Operación mediante la cual, haciendo que un líquido atraviese una sustancia pulverizada, se logra extraer de ésta todos los componentes que sean solubles en dicho líquido.
- Maceración** Operación que consiste en sumergir un sólido vegetal en un líquido para extraer de él sus partes solubles.
- Súber** Tejido secundario que constituye la exodermis de las plantas que crecen en grosor.
- Tanino** Compuestos polifenólicos que abundan en las plantas. De composición química variable, se oxidan al contacto con el aire, inodoro y de sabor agrio; soluble en agua, alcohol y acetona; reaccionan con el cloruro férrico y otras sales. Se usan industrialmente por sus propiedades curtientes en la industria del cuero, tintas, medicina, etc.

RESUMEN

Por medio de extracciones sucesivas, utilizando como solvente una solución acuosa de bisulfito de sodio al 2%, se determinó el porcentaje de taninos que se encuentra presente en el extracto tánico contenido en la especie que se sometió a estudio: pinus maximinoi (*Pinus maximinoi* H.E. Moore) a partir de la comparación entre especies jóvenes y especies adultas de este tipo de pino.

Para llevar a cabo el procedimiento de extracción se utilizaron 10 gramos de corteza molida y tamizada, la cual se obtuvo de los árboles jóvenes y adultos, que fueron seleccionados, de seis a diez años para los árboles jóvenes y de 50 a 60 años para los árboles adultos, para determinar en cuál de estas dos clasificaciones se encontró más contenido de extracto tánico para la especie seleccionada, que fue motivo de este estudio.

Por medio de pruebas cualitativas se determinó la presencia de taninos en la especie, utilizando cloruro férrico y acetato de plomo, para analizar si se obtiene resultados positivos para acreditar la presencia de los mismos en hidrolizables o condensados. Se determinó en qué porcentaje se encuentran los taninos en la especie seleccionada y en cuál de las dos clasificaciones establecidas se encuentra en mayor contenido para determinar si la edad de los árboles marcan diferencia en el porcentaje de taninos que se encuentren en la corteza y cuáles son los factores que influyen en este proceso.

Se tuvo, como resultados en la especie adulta un rendimiento acumulado de 86.1% y 59.7% de rendimiento acumulado para la especie joven. Luego, se

identificó la presencia de taninos en las muestras por medio de cromatografía líquida de alta presión (HPLC), a partir de procesos físicos de separación basado en la distribución de los componentes de una mezcla de dos fases inmiscibles, una fija o estacionaria y otra móvil, para promover el estudio de identificación de los taninos, por medio de otros procesos fisicoquímicos para ampliar la información de este proceso de extracción, identificación y cuantificación en la corteza de *Pinus maximinoi*.

OBJETIVOS

General

Determinar el contenido de extracto tánico e identificar el menor rendimiento por medio de la extracción con bisulfito de sodio al 2%, entre dos categorías establecidas: árboles jóvenes y árboles adultos (*Pinus maximinoi* H. E. Moore.), mediante técnica de cromatografía líquida de alta presión HPLC.

Específicos

1. Realizar el extracto tánico mediante maceraciones dinámicas con extracciones sucesivas acuosas, con coadyuvante alcalino para las dos cortezas referentes, a una temperatura adecuada.
2. Determinar el contenido de taninos en el extracto tánico por el método de tara en vaina.
3. Monitorear la evolución de la extracción tánica, mediante detección por cromatografía líquida de alta presión.
4. Identificar la presencia de taninos utilizando el método físico de separación normalizado con base en la norma USP 24 inciso D, establecido en la farmacopea estadounidense.
5. Evaluar mediante técnica estadística de análisis de varianza si existe diferencia significativa en los extractos obtenidos.

HIPÓTESIS

El contenido de extracto tánico es posible determinar en árboles jóvenes y en los árboles adultos del pino maximinoi (*Pinus maximinoi* H.E. Moore) cuando se realiza lixiviación dinámica a nivel de laboratorio.

Hipótesis estadística

- **Hipótesis nula: (H₀)**

No existe diferencia significativa entre el porcentaje de extracto tánico en los árboles jóvenes y árboles adultos del mismo.

$$\mu_1 = \mu_2$$

- **Hipótesis alternativa: (H_a)**

Sí existe diferencia significativa entre el porcentaje de extracto tánico en los árboles jóvenes y árboles adultos del mismo.

$$\mu_1 \neq \mu_2$$

INTRODUCCIÓN

En Guatemala, la principal distribución natural del *Pinus maximinoi* H.E. Moore se encuentra en Alta Verapaz, El Quiché y en sitios con suelos fértiles, precipitación abundante y clima sub-tropical. Su distribución en Guatemala es bastante amplia. Es de secado rápido al aire libre, requiriendo buena ventilación. La madera es susceptible al ataque de hongos e insectos, es decir, es de baja resistencia.

Esta madera es fácil de trabajar con herramientas manuales y de carpintería en general. Los árboles tienen hasta 48 metros de altura, con diámetro de hasta un metro. La corteza de los árboles jóvenes es lisa, de color gris. Mientras que los árboles adultos tienen la corteza gruesa surcada longitudinalmente, áspera y tosca, de color café – grisáceo, ramillas frágiles con largos entrenudos moreno rojizos o amarillentos, lustrosas, las huellas de las brácteas poco marcadas y especiadas. Hojas en grupos de cinco de 16-28 cm. de largo, muy delgadas, colgantes, de color verde claro, brillantes.

Debido a sus características morfológicas, a simple vista se puede apreciar un alto contenido de taninos debido a la coloración de la corteza de esta especie al estar ya molida y con mayor concentración en los árboles adultos.

Los taninos antiguamente utilizados como colorantes de pieles y alimentos, son el resultado de la combinación de un fenol y un azúcar.

Tienen gusto amargo y se acumulan en las raíces, corteza y en menor grado en las hojas. En las pieles, 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 transforme en cuero.

Se realizó la extracción del extracto tánico de la especie de pino maximinoi por medio de extracciones sucesivas con bisulfito de sodio al 2%, para posteriormente cuantificar y determinar su rendimiento presente en la especie en estudio en función de las dos etapas de crecimiento: adulta y joven. Luego, el extracto tánico se sometió a diversos procesos fisicoquímicos por medio de cromatografía líquida de alta presión HPLC para identificar los taninos presentes en la especie de pino palo blanco (*Pinus maximinoi* H.E. Moore).

1. ANTECEDENTES

En Guatemala la industria de la madera utiliza anualmente grandes cantidades de madera de diferentes especies de árboles y pinos, para la elaboración de diversos productos, tales como: muebles, acabados de interiores, construcción de viviendas, leña, empaques, etc.

Es por ello que se están realizando actualmente en el Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, diversos estudios para la utilización de la corteza de la madera, ya que es material de desecho y se obtiene en los aserraderos en grandes cantidades, debido a que de la corteza de la madera se puede extraer un componente químico llamado *tanino*, que en la industria de la tenería es utilizado para el curtimiento de pieles, ya que la fuente de taninos, al ser macerada en agua, da un principio astringente que forma con las pieles un cuerpo imputrescible. Esto se debe a que los taninos reaccionan con las proteínas precipitando la albúmina, la gelatina, sales metálicas y los álcalis vegetales de sus soluciones, distribuyéndose en forma uniforme por todas las uniones peptídicas. Lográndose la transformación de la piel en cuero, que toma un color característico dependiendo del agente curtiente utilizado, ya que lo dejan inmune al ataque de bacterias, hongos, etc.

La técnica de curtido de pieles es conocida desde 1000 años a. c., pero no es hasta el período 1790–1800, en Francia, cuando se aíslan y descubren los químicos bases para curtir pieles. Los taninos son ácidos muy astringentes, propiedad que los ha identificado como ingredientes en la medicina tradicional;

también se utilizan en la preparación de alimentos, en la maduración de frutas, como ingredientes de bebidas como el té, cocoa y el vino tinto.

Los antecedentes que se tienen actualmente sobre la obtención de extracto tánico a partir de ciertas especies forestales, son las siguientes:

1. Extracción de taninos a partir del Divi – divi; según SPECH, 1989.
2. Extracción y caracterización de taninos en corteza de tres especies forestales cultivadas en Guatemala, Pino Ocote (*Pinus oocarpa schiede*), Encino Negro (*Quercus bracchistachis benth*) y Aliso Común (*agnus jorulensis hbk*). Una alternativa de desarrollo agroindustrial para el uso de taninos naturales, según proyecto DIGI, Centro de Investigaciones, Facultad de Ingeniería, 2002.
3. Comparación de rendimientos de los métodos de extracción de taninos (ácido pinutánico) a partir de la corteza del pino Caribe (*Pinus caribae*) a nivel de laboratorio; según Suchini Leytán, 2002.
4. Recuperación de taninos a partir de la corteza de encino (*Quercus conspersa benth*), por medio de dos métodos de extracción a nivel planta piloto. Según, María Lemus Lucas, 1992.
5. Determinación del contenido tánico de la corteza de pino de cumbre (*Pinus rudis E.*) y pino triste (*Pinus pseudostrobus L.*) mediante extracciones alcalinas con sulfito de sodio, a nivel laboratorio. Según, Mary Patricia Orozco Escobar.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Taninos

2.1.1 Definición

Los taninos son compuestos fenólicos que abundan en muchas plantas y frutos. Son hidrosolubles. Su composición química es variable pero poseen una característica común, la de ser astringentes y coagular los alcaloides, albúminas y metales pesados. Son polvos amorfos de color amarillento, aspecto grasiento, poco denso, solubles en agua y alcohol e insolubles en éter, benceno y cloroformo; cuando se calientan a 210 °C se descomponen produciendo dióxido de carbono y pirogalol.

Es indudable la importancia que los taninos vegetales han adquirido a través de los años, conforme se ha profundizado su conocimiento y encontrado aplicaciones tan variadas.

Quizás la aplicación más antigua es en la industria del cuero, para el proceso del curtido, aprovechando su capacidad de precipitar proteínas; ésta propiedad fue también aplicada en los tejidos vivos, constituyendo la base para su acción terapéutica, empleándolos en medicina en tratamientos del tracto gastrointestinal y para las escoriaciones y quemaduras de la piel. En este último caso, las proteínas forman una capa protectora antiséptica bajo la cual se regeneran los tejidos. También se prescriben como astringentes.

Externamente, los preparados a base de drogas ricas en taninos, como las decocciones, se emplean para detener pequeñas hemorragias locales, en inflamaciones de la cavidad bucal, catarros, bronquitis, quemaduras, hemorroides, etc. Internamente, son útiles contra la diarrea, enfriamiento intestinal, afecciones vesiculares, y como contraveneno en caso de intoxicación por alcaloides vegetales.

En los últimos años, en los que ha sido posible el aislamiento y determinación estructural de muchos de estos taninos, ha aumentado la investigación de sus actividades biológicas en base a las diferencias estructurales presentes. Dichas actividades, algunas de las cuales se mencionarán más adelante, dependen en muchos casos de los tipos de taninos y concentraciones empleadas; esto indica la necesidad de su identificación de análisis estructural, como paso previo a la investigación de sus posibles aplicaciones.

Los taninos son una mezcla variable y compleja de compuestos químicos, de sabor amargo y astringente, pero en general son ésteres de una azúcar con un número variable de ácidos fenólicos. El azúcar es generalmente glucosa y el ácido fenólico es ácido gálico o ácido hexahidroxifenoico. Uno de los componentes más comunes de los taninos es el pentagalactoglucosa. A estas mezclas de ésteres fenólicos se les conoce como ácido tánico. Los taninos son sustancias que se producen en diversas partes de las plantas, tales como: corteza, frutos, hojas, raíces y semillas; a pesar de tener un origen común, la especificidad de las plantas le da a los taninos diferencias en color, calidad y concentración.

Los taninos tienen la propiedad de formar complejos con macromoléculas, particularmente con las proteínas; así forman enlaces colocándose entre las

fibras de colágeno de la piel de los animales, por lo que se usan para curtir la piel, dándole flexibilidad y resistencia. Esta propiedad explica también su astringencia, al precipitar las glicoproteínas contenidas en la saliva, haciendo que ella pierda su poder lubricante.

El tanino es un compuesto que se oxida al contacto con el aire, es inodoro y de sabor agrio, soluble en agua, alcohol y acetona; reacciona con el cloruro férrico y otras sales; es combustible con un punto de inflamación de 199 °C, una temperatura de auto ignición de 528.5 °C; poco tóxico por ingestión o inhalación.

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

Los taninos son polímeros polifenólicos producidos en las plantas como compuestos secundarios y que tienen la habilidad de formar complejos con proteínas, polisacáridos, ácidos nucleídos, esteroides, alcaloides y saponinas desempeñando en las plantas una acción defensiva frente a los insectos. Son astringentes (precipitan las proteínas) y curten la piel. Químicamente, se diferencian los taninos hidrolizables o hidrosolubles (pirogálicos: se hidrolizan en ácidos fenólicos y azúcares) y los taninos condensados no hidrosolubles (taninos catéquicos y los leucoantocianos; son polímeros muy difíciles de hidrolizar; los más ampliamente distribuidos en las plantas).

Además, son un grupo de sustancias complejas que están ampliamente distribuidas en el reino vegetal, en casi todas las familias. Los taninos se presentan en especies de familias vegetales de todo el mundo, se han identificado aproximadamente 500 especies de plantas que contienen varias

cantidades de taninos, entre las principales familias botánicas con importancia en la obtención de taninos se pueden citar a las siguientes: *Leguminosae*, *Rosaceae*, *Polygonaceae*, *Fgaceae*, *Rhizophoraceae* y *Myrtaceae*. Algunos géneros como las acacias (*Acacia* spp.), los encinos (*Quercus* spp.) y algunos pinos (*Pinus* spp.) que habitan bosques de pino-encino o zonas de transición son importantes en la producción de estos productos.

Pueden encontrarse en todos los órganos o partes de la planta: tallos, madera, hojas, semillas y cúpulas, pero con particular abundancia en las excreciones patológicas provocadas por ciertos insectos, conocidas comúnmente con el nombre de agallas; cuando se presentan en cantidades considerables, suelen localizarse en determinadas partes, como las hojas, frutos, corteza o tallos. Es común que en las plantas herbáceas se presenten localizados en una cantidad considerable en las raíces disminuyendo mucho la concentración cuando se trata de plantas anuales. En las plantas leñosas, tanto la localización como la abundancia son variadas.

Los taninos hidrolizables son los que mayor interés toxicológico encierran. Entre los ácidos fenólicos más frecuentes en su composición destacan el ácido gálico, tánico, cafeíco, hexohidrofénico y elágico. El ganado vacuno tolera plantas con taninos como el *Sorghum halepense* (L.) Pers. en cantidades de 500 gr./cabeza y día, pero mayores cantidades provocan gastroenteritis, glomerulonefritis, edema en el aparato digestivo con mucosas congestionadas y hemorrágicas, aumento del tamaño de los riñones, presencia de sangre hemolítica y edema en pulmón, disminución de las proteínas, aumento del nitrógeno uréico, creatinina, potasio y fósforo. La mortalidad alcanza el 80%, los équidos manifiestan en intoxicaciones crónicas, ictericia y anemia hemolítica. Los taninos se consideran sustancias hemoglobinizantes.

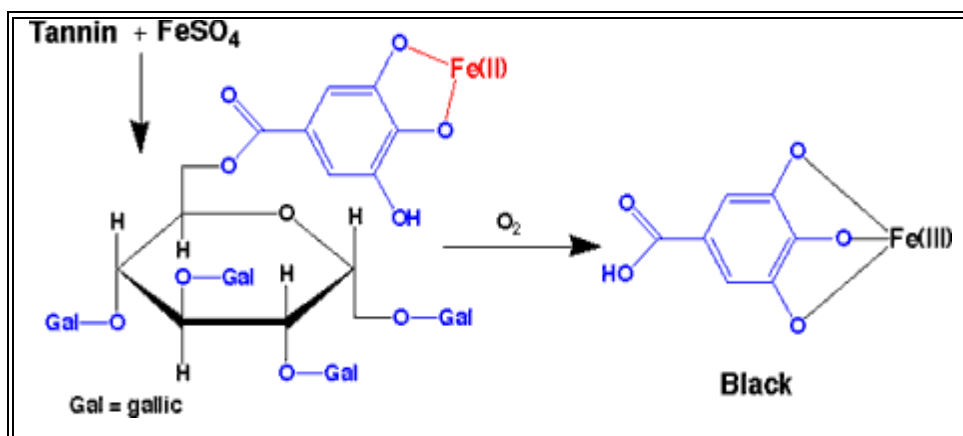
Los pollos manifiestan anomalías en las patas, el diagnóstico se realiza por los síntomas y lesiones, determinando en orina las concentraciones de ácido cafeico y pirogalol y determinando taninos en dieta.

2.1.2 Características

Las características que presentan son las siguientes:

- 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 ferrocianuro de potasio y amoníaco.
- Precipitan a las proteínas en solución y se combinan con ellas, haciéndolas resistentes a las enzimas proteolíticas. Esta propiedad, denominada astringencia, fue mencionada anteriormente.

Figura 1. Reacción con sal férrica



Fuente: <http://www.taninos.tripod.com>

2.1.3 Clasificación

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 períodos de tiempo.

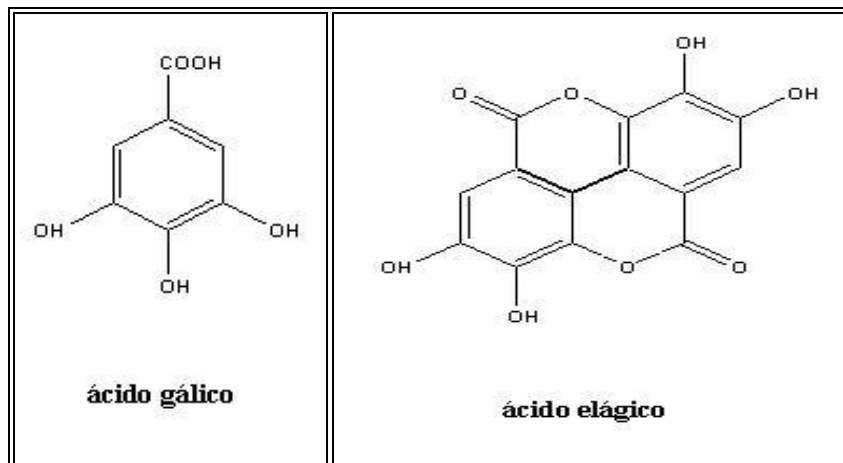
La clasificación de Freudenberg, que actualmente es empleada, tiene su fundamento en el tipo de estructura base del tanino. Es así que los agrupa en dos grandes clases: taninos hidrolizables y taninos condensados, con las siguientes características.

2.1.3.1 Taninos hidrolizables o pirogálicos

Son ésteres fácilmente hidrolizables formados por una molécula de azúcar (en general glucosa) unida a un número variable de moléculas de ácidos fenólicos (ácido gálico o su dímero, el ácido elágico). Son comunes de observar en plantas Dicotiledóneas. Cuando se destilan en seco producen pirogalol.

- Se hidrolizan con facilidad por la acción de los ácidos, bases o enzimas, en un azúcar, un polialcohol y un ácido fenol carboxílico. 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 núcleos bencénicos están unidos por medio de átomos de oxígeno
- Dan coloración azul con FeCl_3 .
- No precipitan con soluciones de bromo.

Figura 2. Estructura de ácido gálico y ácido elágico



Fuente: <http://taninos.tripod.com>

Estos taninos se hidrolizan con facilidad, tanto por ácidos y álcalis como por vía enzimática, y son generalmente de formación patológica. Se localizan en algunas Dicotiledóneas, especialmente en *Fagaceae*, *Anacardiaceae* y *Leguminosae*. Se encuentran en este tipo los taninos gálicos, esteres de un polioli, generalmente de la glucosa con varias moléculas de ácido gálico.

2.1.3.2 Taninos condensados y su concentración en las plantas

Los taninos son compuestos fenólicos secundarios de elevado peso molecular (500 a > 20000) presentes en la naturaleza, que se encuentran frecuentemente en frutas, árboles, en forrajeras templadas principalmente leguminosas, y otras especies como sorgo y maíz, utilizadas comúnmente en la alimentación del ganado.

En la naturaleza pueden encontrarse dos tipos de taninos: condensados (TC) e hidrolizables (TH), según su estructura química. Los TC son polímeros

flavonoides, que pueden ser oxidativamente degradados en ácido a antocianidinas. Los TH son polímeros de ácido gálico o ácido hexahidroxidifenólico, ésteres de glucosa y otros polifenoles. Las principales diferencias estructurales existentes entre los TC y TH afectarían la actividad de los taninos. Los principales efectos estarían dados por la interacción con la proteína por parte de los TC no así con los TH, estos últimos son rápidamente degradados en grupos fenólicos más pequeños, incapaces de reaccionar con las proteínas del medio.

Los TC o proantocianidinas son polímeros de flavonas que se encuentran presentes en los tallos, las hojas e inflorescencias de diversas especies forrajeras. Este grupo de taninos interactúan con las proteínas formando complejos. En general, esta interacción es muy selectiva teniendo especial afinidad por aquellas de cadenas más largas y con prolinas ricas en proteínas. Producto de esta interacción las proteínas precipitan a un pH cercano a su punto isoeléctrico. La facilidad de los TC de formar esos complejos es el aspecto más importante en sus efectos nutricionales y toxicológicos. La proteína no es degradada en el rumen, pero está disponible para la digestión en el abomaso e intestino delgado. En un rango de pH de entre 5 y 7.5 en el rumen, la proteína permanece unida a los taninos, pero a pH bajos ($\text{pH} < 3.5$) la proteína es liberada.

Los taninos condensados se encuentran principalmente en plantas dicotiledóneas, las plantas herbáceas tienen a menudo TC en las semillas, por ejemplo alfalfa, semillas de algodón, porotos y en los pétalos de las flores. Las especies templadas contienen los TC en el follaje como el género *Lotus* y la especie *Sulla* (*Hedysarium coronarium*).

La cantidad y el tipo de taninos sintetizados por las plantas varían considerablemente dependiendo entre otras cosas de la especie, el cultivar, tejido, el estado de desarrollo y las condiciones ambientales. Por lo tanto, el estudio de los efectos nutricionales de los taninos en los animales requiere de la cuantificación de los mismos para cada dieta en particular, de la estructura química y de la fisiología del animal en estudio.

Los TC conocidos como no hidrolizables y el tratamiento con calor y ácidos minerales originan polímeros de alto peso molecular (flobafenos). Este tipo de tanino se produce en el metabolismo normal de los vegetales, por lo que se consideran fisiológicos y se encuentran ampliamente repartidos en el reino vegetal.

Químicamente, se forman por condensación de catequinas o catecoles (flavanoles) con uniones directas C – C entre las moléculas, generalmente entre 4–8 o en 4–6 y no contienen azúcares en su estructura. Biogenéticamente, proceden del metabolismo de los flavonoides, se forman a partir de una flavanona por hidroxilación en el C-3.

2.2 Composición química de la corteza de pino

La composición química de la corteza es muy compleja, existe un gran número de diferentes tipos de compuestos químicos en la corteza, los mismos, son una fuente inagotable de productos naturales biológicamente activos, muchos de los cuales han constituido el modelo para la formulación de fármacos, venenos e insecticidas. A pesar de ello, desde el punto de vista económico, el aislamiento, separación y purificación de los compuestos

químicos se hace inviable por los altos costos en los que se incurren para realizar estas operaciones.

La composición química de la corteza depende de muchos factores, tales como: localización, edad, condiciones de crecimiento del árbol y los métodos de obtención de las muestras.

Químicamente, la corteza difiere de la madera por la presencia de polifenoles y suberina, así como por la presencia de un menor porcentaje de polisacáridos y un porcentaje más alto de extractivos. El contenido mineral de la corteza es también mucho más alto que en la madera.

La corteza libre de extractivos contiene carbohidratos, suberina, ácidos fenólicos, pequeñas cantidades de lignina y materiales inorgánicos. Una gran proporción de la corteza está constituida por polifenoles y puede presentar grandes variaciones dependientes de factores como especie, edad, condiciones de crecimiento y otros.

El término polifenol se refiere a un gran número de compuestos relacionados entre sí, derivados principalmente de flavenos. Los más comunes en la corteza pertenecen a dos grupos de polímeros: los flavonoides y la lignina.

Los flavonoides de acuerdo con su solubilidad o tamaño molecular pueden clasificarse en:

1. Proantocianidinas: grandes flavonoides dímeros y trímeros, solubles en acetato de etilo.
2. Taninos condensados: polímeros solubles en mezcla acetona-agua.
3. Polímeros fenólicos ácidos (solubles sólo en álcali diluido).

En su composición química, los tres grupos poseen carácter de poliflavonoides, presentando monómeros con estructuras similares a las catequinas. Respecto a la lignina, en general, los porcentajes reportados para la misma son realmente mezclas de lignina y poliflavonoides, ambos polímeros fenólicos de alto peso molecular.

2.3 Curtientes vegetales

La obtención continua de curtientes vegetales comprende cinco fases básicas a saber:

- Molienda
- Extracción
- Filtrado
- Decoloración
- Evaporación

2.3.1 Molienda

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

2.3.2 Extracción

Los procedimientos son de tipo rural e industrial.

2.3.2.1 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:

- Se llenan con el material triturado o machacado seis recipientes, el primer día se vierte agua en la primera vasija cubriendo el material.
- Segundo día, el jugo producido en la primera vasija (A) se vacía en la segunda (B), adicionar agua caliente sobre el material desintegrado en la vasija (A), para su segunda lixiviación.
- Tercer día, el líquido de la vasija (B) se pasa a la tercera (C), la solución de la vasija (A) se vierte en la (B), enseguida se agrega agua en la vasija (A). El proceso se repite durante siete días, a razón de una vasija por día, al final el material de la primera vasija se habrá lixiviado seis veces; de tal manera que el contenido de la sexta vasija (F) presenta la máxima concentración. El séptimo día el líquido se integra al depósito de reserva.
- El material agotado de la primera vasija (A) se tira, después de haber vertido su contenido en la vasija (B), se le agrega material triturado nuevo y el líquido de la vasija (E), el cual fue previamente pasado por la cuba de reposición (E-ST). En la quinta vasija (E) se vierte el contenido de la vasija (C), en la sexta (F) el de la cuarta (D) y en ésta la de la segunda (B), a la que se le agrega agua.
- Durante el octavo día, el líquido de la vasija (A) se pasa filtrado al depósito de reserva y al material residual se le adiciona el jugo de la quinta vasija (E); a la quinta (E) el de la tercera (C) y a éste se le agrega agua. El líquido de la segunda (B) pasa a la cuarta vasija (D) y el material residual se vacía a la sexta vasija (F).

El proceso continua hasta el duodécimo día, de tal manera que el décimo tercer día se estarán realizando las mismas actividades del séptimo día.

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 sólo podrán ser de madera, barro, cobre, latón o cestería.
- El agua usada para la lixiviación es la de lluvia o de río, en general será blanda y limpia, 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.

2.3.2.2 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 compartimiento más o menos concentrada. De forma análoga la sustancia por lixiviar al avanzar hacia el último compartimiento 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.

- **Colado.** 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 éste 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 kg/cm^2 dispuestas en batería de ocho unidades, cada una de las cuales contiene 2.5m^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 sólo 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 fierro (compuesto insoluble de color rojo), por lo que en la última etapa se agrega sulfito sódico o bisulfito sódico y se mantienen 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 éste 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.

2.3.3 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 traslúcidos; se usan filtros prensa con lonas finas, las lonas 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.

2.3.3.1 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 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 sílicas entre las que desciende lentamente el líquido

por sulfitar, y asciende también de forma lenta el SO₂, mismo que es inyectado en la torre a través de una pequeña regadera y una bomba a presión.

2.3.4 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 CO₂. Generalmente los tanques se evaporan a sequedad, 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:

2.3.4.1 Concentrados líquidos

Los cuales requieren de 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.

2.3.4.2 Extracto en polvo

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

2.4 Procesos de lixiviación

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

Tal vez las industrias metalúrgicas son las que más utilizan las operaciones de lixiviación. La mayoría de los minerales útiles se encuentran en forma de mezclas, con grandes proporciones de componentes indeseables; por eso, la lixiviación del material valioso es un método de separación que se aplica con frecuencia. Por ejemplo, los materiales de cobre se disuelven preferentemente a partir de algunos de sus materiales por lixiviación con ácido

sulfúrico o soluciones amoniacaes, y el oro se separa de sus minerales con ayuda de soluciones de cianuro de sodio. En forma similar, la lixiviación juega un papel importante en el procesamiento metalúrgico de aluminio, cobalto, magnesio, níquel y zinc. Muchos productos orgánicos naturales se separan de sus estructuras originales mediante lixiviación.

Por ejemplo, el azúcar se separa de la remolacha con agua caliente; los aceites vegetales se recuperan a partir de semillas, como las de soya y de algodón mediante lixiviación con disolventes orgánicos; el tanino se disuelve a partir de diferentes cortezas arbóreas mediante lixiviación con agua; en forma similar muchos productos farmacéuticos se recuperan a partir de raíces y hojas de plantas.

La lixiviación es un proceso en el cual se extrae uno o varios solutos de un sólido, mediante la utilización de un disolvente líquido. Ambas fases entran en contacto íntimo y el soluto o los solutos pueden difundirse desde el sólido a la fase líquida, lo que produce una separación de los componentes originales del sólido.

- ✓ Los aceites vegetales se recuperan a partir de semillas, como los de soya y de algodón, mediante la lixiviación con disolventes orgánicos.
- ✓ La extracción de colorantes se realiza a partir de materias sólidas por lixiviación con alcohol o soda.

Dentro de ésta, se tiene una gran importancia en el ámbito de la metalurgia, ya que se utiliza mayormente en la extracción de algunos minerales como oro y plata. También se utiliza en tecnología farmacéutica.

2.4.1 Ecología

También es aplicable el término en ecología para indicar el desplazamiento hacia los ríos y mares de los desechos y excrementos, además de otros contaminantes como pueden ser los fertilizantes; producido por el mismo proceso indicado para el fenómeno químico, es considerado el fenómeno de desplazamiento de nutrientes siendo estos arrastrados por el agua provocando éste a su vez por la deforestación antropogénica (causada por el hombre).

2.4.2 Geología

En la ciencia geológica se entiende como lixiviación al proceso de lavado de un estrato de terreno o capa geológica por el agua. Como también por placas ácidas encontradas en las sales que disuelven casi cualquier material sólido.

2.4.3 Aplicaciones prácticas

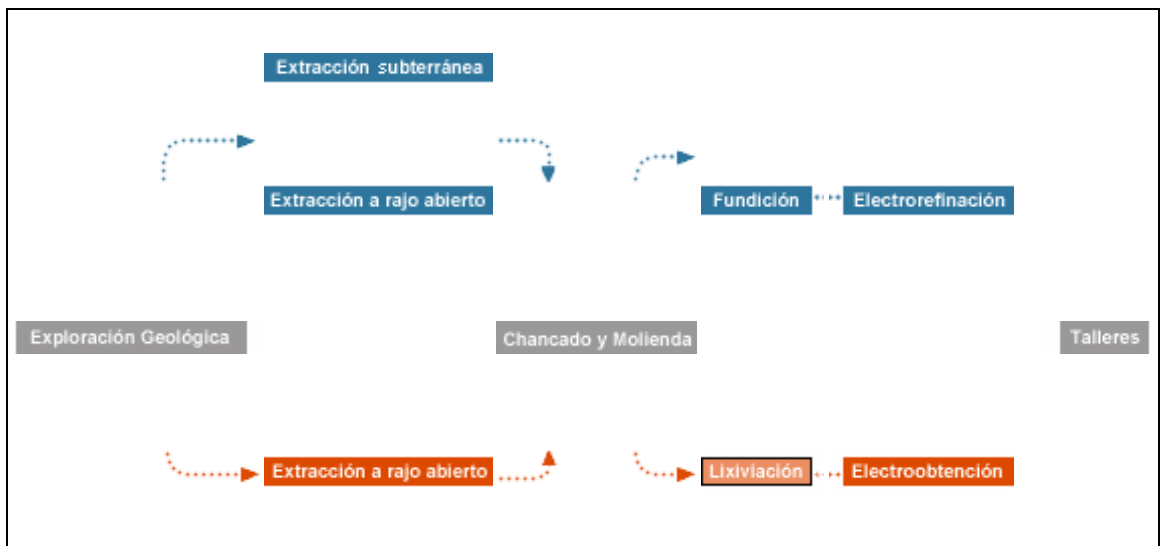
Industrialmente la lixiviación se utiliza para preparar pociones, para ello se toma la droga (generalmente una planta medicinal, se pulveriza y se mezcla con el menstruo (alcohol), se coloca en un lixiviador y se deja macerando el tiempo requerido.

También se le puede decir lixiviación al tratamiento de los minerales concentrados y otros materiales que contienen metales, la lixiviación se efectúa por medio de un proceso húmedo con ácido que disuelve los minerales solubles y los recupera en una solución cargada de lixiviación.

2.4.4 Metalurgia extractiva

Es también el proceso que se usa en la metalurgia, para trabajar los minerales principalmente oxidados. Desde un tiempo a esta parte se realiza la lixiviación de minerales sulfurados de cobre mediante procesos de lixiviación bacteriana.

Figura 3. **Proceso de lixiviación en la metalurgia**



Fuente: <http://www.taninos.tripod.com>

2.4.5 Preparación del sólido

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

En algunos casos, las pequeñas partículas del material soluble están completamente rodeadas de una matriz de materia insoluble. Entonces, el

disolvente se debe difundir en la masa y la solución resultante se debe difundir hacia el exterior antes de poder lograr una separación. Esto es lo que sucede con muchos materiales metalúrgicos. La trituración y molienda de estos sólidos acelerará bastante la acción de lixiviación, porque las porciones solubles son entonces más accesibles al disolvente. Por ejemplo, cierto mineral de cobre puede lixiviarse eficazmente por soluciones de ácido sulfúrico de cuatro a ocho horas, si se muele hasta que pase a través de una malla 60; en cinco días, si se tritura hasta gránulos de 6mm, y de cuatro a seis años si se utilizan rocas de 150 mm. Puesto que la molienda es cara, la calidad del mineral tiene mucho que ver con la elección del tamaño al cual se va a lixiviar.

Por otra parte, en el caso de ciertos minerales de oro, las pequeñas partículas metálicas están revueltas en una matriz de cuarzo que es tan impenetrable a la acción de lixiviación del disolvente, que es básico moler la roca para que pase por una malla 100 para que ocurra la lixiviación. Cuando la sustancia soluble está distribuida más o menos uniformemente en todo el sólido o aún en solución del sólido, la acción de lixiviación puede proporcionar canales para el paso del disolvente fresco y tal vez no sea necesaria una molienda muy fina. El derrumbe del esqueleto insoluble que permanece después de la separación del soluto puede, sin embargo, presentar problemas.

Los cuerpos vegetales y animales tienen una estructura celular, los productos naturales que se van a lixiviar a partir de estos materiales se encuentran generalmente dentro de las células. Si las paredes celulares permanecen intactas después de la exposición a un disolvente adecuado, entonces en la acción de lixiviación interviene la ósmosis del soluto a través de las paredes celulares. Esto puede ser un proceso lento.

Sin embargo, moler el material lo suficientemente pequeño como para liberar el contenido de las células es poco práctico y algunas veces indeseable. Así, la remolacha se corta en rebanadas delgadas, en forma de cuñas, antes de la lixiviación, a fin de reducir el tiempo requerido para que el agua disolvente llegue a cada célula vegetal. Sin embargo, las células se dejan deliberadamente intactas, de forma que el azúcar pase a través de las paredes celulares semipermeables y que los indeseables materiales coloidales y albumínicos queden casi completamente detrás.

En el caso de muchos productos farmacéuticos, recuperados a partir de raíces, tallos y hojas vegetales, el material vegetal con frecuencia se seca antes del tratamiento; esto favorece la ruptura de las paredes celulares y la liberación del soluto mediante la acción directa del disolvente. Las semillas vegetales y los cereales, tal como la soya, se aplanan o se hacen hojuelas para obtener partículas de 0.15 a 0.5 mm. Por supuesto, las células tienen un tamaño menor, pero se rompen bastante debido al proceso de formación de hojuelas; entonces, los aceites se ponen más fácilmente en contacto con el disolvente.

Cuando el soluto se absorbe sobre la superficie de las partículas sólidas o se disuelven simplemente en una solución adherente, no es necesaria la trituración o molienda y las partículas pueden lavarse directamente.

2.4.6 Temperatura de lixiviación

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

menor y mayores las difusividades; esto incrementa la rapidez de lixiviación. En el caso de algunos productos naturales, como las remolachas, las temperaturas muy elevadas pueden producir la lixiviación de cantidades excesivas de solutos indeseables o deterioro químico del sólido.

2.4.7 Métodos de operación y equipo

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

2.4.8 Operaciones de estado no estacionario

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

2.4.8.1 Lixiviación *in situ*

Esta operación, algunas veces se llama minería en solución, se refiere a la lixiviación por percolación de los minerales en la mina, mediante la circulación del disolvente sobre y a través del cuerpo del mineral. Se utiliza regularmente para obtener sal a partir de los depósitos en la superficie de la tierra, mediante la disolución de la sal en agua, la cual se bombea hasta el depósito. Se ha aplicado a la lixiviación de minerales con bajo contenido de cobre, tan bajo como 0.2% de cobre y vetas a profundidades de hasta 335 m debajo de la superficie. En la minería en solución para uranio, el mineral debe oxidarse *in situ*, con el fin de solubilizarlo en soluciones de carbonato. Los reactivos pueden inyectarse continuamente a través de una serie de tuberías que bajan hasta la veta; el licor resultante se obtiene a través de una serie de tuberías. En forma alternativa, el reactivo puede bombearse intermitentemente y sacarse a través del mismo pozo.

2.4.8.2 Lixiviación a la intemperie

Los minerales con bajo contenido, cuyo valor en mineral no garantiza el gasto de molienda o trituración, puede lixiviarse en forma de rocas extraídas de la mina y colocadas en grandes montones sobre terreno impermeable. El licor de lixiviación se bombea sobre el mineral y se obtiene cuando sale del montón. El cobre se ha lixiviado de esta forma a partir de minerales de pirita en montones que contienen hasta 2.2 (10E7) toneladas métricas del mineral; con este propósito se han utilizado más de 20,000m³ diarios (5 millones de galones) de licor de lixiviación. Tal vez se necesiten siete o más años para reducir el contenido de cobre de estos montones de 2 a 0.3%. En un caso normal de lixiviación a la intemperie de uranio, después de colocar una tubería perforada

de drenaje sobre una base de arcilla impermeable, el mineral se apila sobre las tuberías, en montones de 6 a 8 m de altura, con sección transversal trapezoidal y 120 m de ancho en la base, con una longitud de hasta 800m. La solución de lixiviación, que se introduce en forma de algunas en la parte superior del montón, se va percollando hasta las tuberías de drenaje en la base, de donde se lleva a otro lugar.

2.4.8.3 Tanques de percolación

Los sólidos de tamaño intermedio pueden lixiviarse adecuadamente con métodos de percolación en tanques abiertos. La construcción de estos tanques varía bastante, según la naturaleza del sólido y del líquido que se va a manejar y del tamaño de la operación, pero son relativamente baratos. Los tanques pequeños frecuentemente se hacen de madera, siempre y cuando este material no sea atacado por el líquido de lixiviación. Las partículas sólidas por lixiviar descansan sobre un fondo falso, que en la construcción más sencilla consiste en una rejilla de tiras de madera colocadas en forma paralela con respecto a otras y lo suficientemente cercanas para sostener al sólido. Estas, a su vez, pueden descansar sobre tiras similares colocadas en ángulos rectos separadas 150 mm o más, de forma que el licor de lixiviación pueda fluir hasta un conjunto de tuberías que llevan al fondo del tanque. Para sostener partículas muy finas, la rejilla de madera puede cubrirse mediante una estera de coco y un filtro de lona muy tenso y sujeto con una cuerda metida en una ranura alrededor de la periferia del fondo falso. Los tanques pequeños también pueden hacerse de metal, con fondos falsos perforados, sobre las cuales se coloca una tela filtro, como en la lixiviación de productos farmacéuticos a partir de plantas.

2.4.8.4 Contacto múltiple a contracorriente, el sistema de Shanks

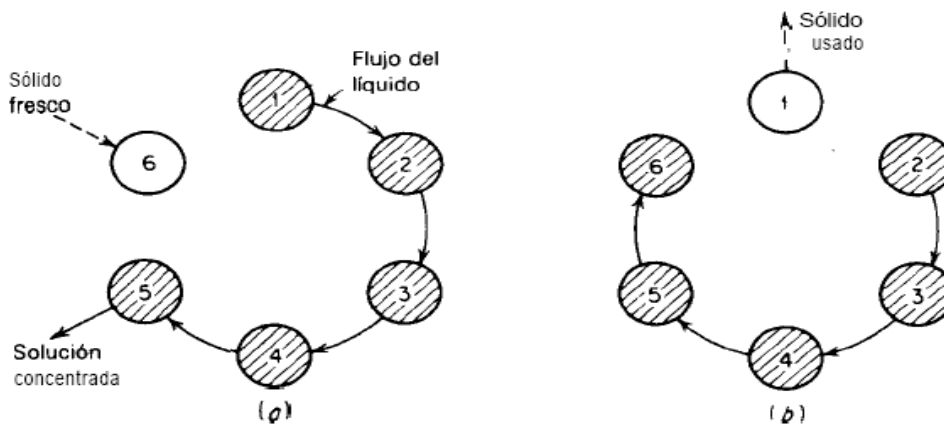
La lixiviación y el lavado del soluto lixiviado de los tanques de percolación por métodos a corriente tangencial, inevitablemente dará soluciones diluidas de soluto. Se obtendrá una solución más concentrada si se emplea en un sistema a contracorriente, en donde la solución final obtenida se logra por contacto con el sólido más fresco y donde el disolvente más fresco se agrega al sólido del cual ya se ha lixiviado o lavado la mayoría del soluto. Con el fin de evitar movimiento físico de los sólidos del tanque en este proceso se utiliza el arreglo de la figura 4, que se muestra en forma esquemática para un sistema de seis tanques. Este sistema de Shanks, como se llama, se opera de la siguiente manera:

- Supóngase que en el momento de examinarlo, el sistema de la primera figura ya tiene cierto tiempo de operación. El tanque seis está vacío; los tanques del uno al cinco están llenos de sólidos; el que se ha llenado más recientemente es el tanque cinco, y el que lleva más tiempo, el tanque uno. Los tanques del uno al cinco también están llenos con el líquido de lixiviación; el más concentrado está en el tanque cinco, porque está en contacto con el sólido más fresco. Se acaba de agregar disolvente fresco al tanque cinco.
- Sáquese la solución concentrada al tanque cinco, transfírase el líquido del tanque cuatro al cinco, del tres al cuatro, del dos al tres, del uno al dos. Agréguese sólido fresco con el tanque seis.
- Obsérvese la segunda figura. Descártese el sólido agotado del tanque uno. Transfírase el líquido del tanque cinco al seis, del cuatro al cinco, del tres al cuatro y del dos al tres. Agréguese disolvente fresco en el tanque dos. Las condiciones son ahora idénticas a las iniciales en la

primera figura, excepto que los números de los tanques son mayores por una unidad.

- Continúe la operación de la misma manera que antes.

Figura 4. **Contacto múltiple a contracorriente, sistema de Shanks**



Fuente: Robert Treybal, **Operaciones de transferencia de masa**, 1988.

El esquema es idéntico a la simulación por lotes de una operación a contracorriente en varias etapas. Después de que se han corrido varios ciclos de esta forma, las concentraciones de la solución y en el sólido se aproximan bastante a los valores obtenidos en la lixiviación real, continua y a contracorriente en varias etapas. Por supuesto, el sistema puede operarse con cualquier número de tanques; por lo común se usan de 6 a 16 tanques, no es necesario arreglarlos en un círculo, sino que es mejor colocarlos en una hilera, llamada una batería de extracción; de esta manera, si se desea, se puede agregar en forma conveniente más tanques al sistema. Los tanques pueden colocarse a niveles progresivamente decrecientes, a fin de que el líquido pueda fluir de uno a otro por gravedad con un mínimo de bombeo.

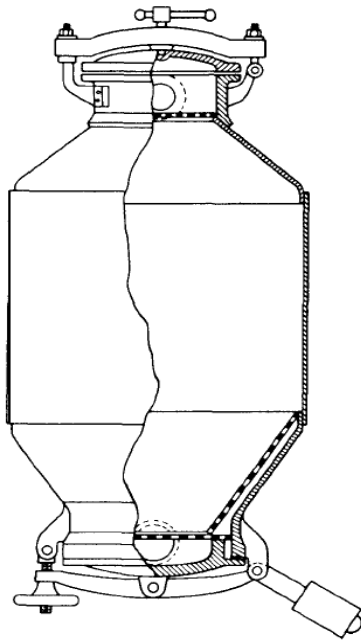
Estos tanques y arreglos para la lixiviación se utilizan bastante en la industria metalúrgica, para la recuperación de taninos a partir de cortezas y maderas arbóreas, para la lixiviación del nitrato de sodio a partir de la roca chilena de nitrato (*caliche*) y en muchos otros procesos.

2.4.8.5 Percolación en tanques cerrados

Cuando la caída de presión para el flujo del líquido es demasiado grande por gravedad, se deben utilizar tanques cerrados y bombear el líquido a través del lecho de sólido. Algunas veces estos tanques reciben el nombre de difusores. Los tanques cerrados también son necesarios para evitar las pérdidas por evaporación cuando el disolvente es muy volátil o cuando se desean temperaturas superiores al punto normal de ebullición del disolvente. Por ejemplo, algunos taninos se tratan por lixiviación con agua a 120 °C, 345kN/m² (50psi) de presión en tanques cerrados de percolación.

Los diseños varían considerablemente, según su aplicación. En el caso de la lixiviación de azúcar a partir de las rebanadas de remolacha, se utiliza un difusor del tipo mostrado en la figura 5. Estos difusores se colocan en batería con 16 tanques como máximo; las remolachas sufren la lixiviación con agua caliente a contracorriente, como en el sistema de Shanks. Los calentadores se colocan entre los difusores para que la temperatura de la solución se mantenga de 70 a 78 °C. De esta forma, puede lixiviarse del 95 a 98% del azúcar de la remolacha que contenía inicialmente alrededor del 18%, para formar una solución de 12% de concentración. También se utiliza el equipo continuo a contracorriente en la industria del azúcar de remolacha.

Figura 5. **Difusor de remolacha** (*cortesía de Institution of chemical Engineers*)



Fuente: Robert Teybal, **Operaciones de transferencia de masa**, 1988.

2.4.8.6 Lixiviación en filtro prensa

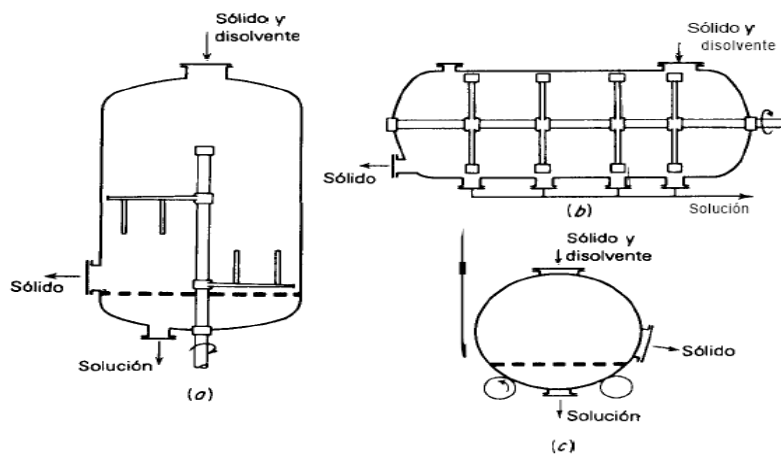
Los sólidos finamente divididos, demasiado finos para ser tratados por percolación en tanques de percolación relativamente profundos, pueden filtrarse y lixivarse en el filtro prensa por bombeo del disolvente a través de la torta de la prensa. Evidentemente, ésta práctica es común en el lavado de las aguas madres de precipitados que se han filtrado.

2.4.8.7 Tanques con agitación

El acanalamiento del disolvente en la percolación, en la lixiviación mediante filtros prensa de lechos fijos y su lenta e incompleta lixiviación

subsecuente, puede evitarse mediante la agitación del líquido y el sólido en tanques de lixiviación. Para sólidos gruesos, se han diseñado muchos tipos de tanque con agitación. En estos casos, los tanques cilíndricos cerrados se colocan en forma vertical como en la figura 6 y se le ponen remos o agitadores sobre ejes verticales, lo mismo que fondos falsos para el drenado de la solución de lixiviación al final del proceso. En otros casos, los tanques son horizontales, con agitador colocado sobre un eje horizontal. En algunos casos, un tambor con el agitador colocado sobre un eje horizontal. En algunos casos, un tambor horizontal es el tanque de extracción y el sólido y el líquido se golpean dentro mediante la rotación del tambor sobre rodillos, como se muestra en la figura 6c. Estos aparatos se operan por lotes y proporcionan una sola etapa de lixiviación. Se pueden utilizar solos, pero con frecuencia también se utilizan en baterías colocadas para la lixiviación a contracorriente. Se han utilizado bastante en las instalaciones europeas más antiguas y en las sudamericanas, para la lixiviación de aceites vegetales a partir de las semillas; empero, son raros en Norteamérica.

Figura 6. Tanques de lixiviación por lotes con agitación



Fuente: Robert Treybal, **Operaciones de transferencia de masa**, 1988.

2.4.8.8 Percolación vs. agitación

Si se va a lixiviar un sólido en la forma de grandes rocas, con frecuencia se debe decidir si han de triturarse hasta pedazos grandes, si ha de realizarse la lixiviación por percolación o si se molerán finamente y si la lixiviación será realizada mediante agitación y sedimentación. No es posible una respuesta general a este problema, debido a las diversas características de lixiviación de los diferentes sólidos y a los distintos valores de soluto; no obstante, entre las condiciones se encuentran las siguientes. El molino fino es más costoso, pero proporciona una lixiviación más completa y más rápida. Tiene la desventaja de que siendo, el peso del líquido asociado con el sólido sedimentado tan grande como el peso del sólido, más si se utilizara una cantidad considerable de disolvente para eliminar del sólido lixiviado el soluto y la solución resultante estará diluida. Las partículas trituradas grandes, por otra parte, se lixivian con más lentitud y posiblemente de modo menos completo, pero a lo largo del drenado puede retener relativamente poca solución, requieren menos lavado y, por lo tanto, proporcionan una solución final más concentrada.

En el caso de sólidos más fibrosos, como la caña de azúcar que se lixivian con agua para separar el azúcar, se ha demostrado que lixiviación es por lo general más eficiente en un tanque bien agitado que por percolación, probablemente debido a que la gran cantidad de retención estática del líquido hace imposible la obtención de cantidades importantes de soluto.

2.4.9 Operación en estado estacionario (continuo)

El equipo para las operaciones en estado estacionario continuo pueden clasificarse en dos grandes categorías principales: operado por etapas o en

contacto continuo. Algunas veces, el equipo por etapas puede montarse en unidades múltiples, para producir efectos de varias etapas; el equipo de contacto continuo puede proporcionar el equivalente a muchas etapas en un único aparato.

2.4.9.1 Lixiviación mediante el molido

Como ya se indicó, muchos sólidos deben ser molidos para que las porciones solubles sean accesibles a los disolventes de lixiviación; además, si se practica el molido húmedo continuo parte de la lixiviación puede lograrse en ese momento. Por ejemplo, del 50 al 75% de oro soluble puede lixivarse mediante molienda del mineral en presencia de una solución de cianuro. En forma similar, las semillas de ricino se muelen en un molino por frotación con un disolvente para el aceite de ricino. El líquido y el sólido fluyen a través de un molino en paralelo y, en consecuencia, tiende a alcanzar su concentración en el equilibrio. Por lo tanto, estas operaciones son lixivaciones en una sola etapa y generalmente se completan mediante operaciones de agitación o lavado adicionales.

2.4.9.2 Tanques con agitación

Los sólidos finamente molidos que son fáciles de suspender en líquidos por medio de la agitación, pueden lixivarse continuamente en cualquiera de los muchos tipos de tanques con agitación. Estos pueden utilizarse para flujo continuo del líquido y del sólido en y fuera del tanque y deben diseñarse con cuidado para que no haya acumulación de sólido. Debido al mezclado completo

que se obtiene de ordinario, estos aparatos funcionan en una sola etapa; además, el líquido y el sólido tienden a alcanzar el equilibrio en el tanque.

Pueden utilizarse los tanques agitados mecánicamente, para los cuales es probable, que el agitador de tipo de turbina sea generalmente el más adecuado. El tiempo de retención promedio en un tanque agitado puede calcularse dividiendo el contenido del tanque entre el flujo del tanque. Esto se puede hacer separadamente para el sólido y el líquido; el tiempo de retención para cada uno será diferente si la relación de las cantidades de ambos en el tanque es diferente de la que hay en la alimentación. El tiempo promedio de retención del sólido debe ser suficiente para lograr la acción de lixiviación requerida.

Por supuesto, las partículas individuales de sólido pueden causar un corto circuito en el tanque (mezclado axial); esto significa que las partículas cruzan en tiempos mucho más cortos que los tiempos promedio calculados y que en consecuencia, disminuye la eficiencia de la etapa. Este corto circuito puede eliminarse pasando la mezcla de sólido-líquido a través de una serie de pequeños tanques con agitación, uno después del otro; la suma de los tiempos de retención promedio será el tiempo necesario para lixiviación. Esto puede lograrse fácilmente con el flujo por gravedad de la suspensión, colocando cada tanque en serie, a niveles progresivamente más bajos. Por lo general, bastan tres tanques en serie para reducir el corto circuito a una cantidad despreciable. Debe observarse que, como el líquido y el sólido pasan a través de estos tanques en flujo paralelo, la serie completa sigue equivaliendo a una sola etapa.

El efluente de los agitadores continuos puede enviarse a un filtro para separar el líquido del sólido; el sólido puede lavarse sobre el filtro hasta eliminar

los sólidos disueltos o a una serie de espesadores para el lavado a contracorriente.

2.4.9.3 Lixiviación de semillas vegetales

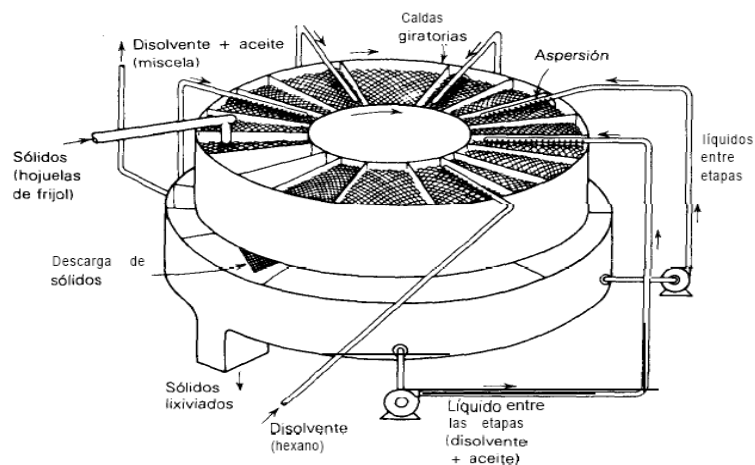
Las semillas de algodón, soya, lino, cacahuates, salvado, ricino y muchos otros productos similares, con frecuencia sufren la acción de lixiviación, o extracción, con disolventes orgánicos que separan los aceites vegetales que contienen. Las semillas generalmente deben separarse en forma especial para obtener la mejor lixiviación, esto puede emitir el descascarar, precocinar, el ajuste del contenido de humedad y el prensado o formación de hojuelas. Algunas veces, una parte del aceite se elimina inicialmente en forma mecánica mediante expulsión o prensado.

Generalmente, los disolventes de lixiviación son naftas de petróleo, para muchos aceites una fracción muy cercana al hexano; los hidrocarburos clorados dejan un residuo demasiado tóxico para el alimento lixiviado y no puede utilizarse para la alimentación animal. La solución aceite-disolvente, que por lo general contiene una pequeña cantidad de sólidos suspendidos, finamente divididos, se conoce como micela y los sólidos lixiviados como marca. En esta industria, los diferentes aparatos de lixiviación generalmente se conocen como extractores.

El Rotocel es básicamente una modificación del sistema Shanks en donde los tanques de lixiviación se mueven continuamente, de forma que permitan la introducción y descarga continua de los sólidos. En la figura 7 se encuentra una representación esquemática del aparato, simplificado para mostrar cómo funciona. Un rotor circular que contiene 18 celdas, cada una con

un fondo de pantalla para sostener los sólidos, gira lentamente alrededor de un tanque estacionario con compartimientos. Al girar el rotor, cada celda pasa a su vez debajo de un aparato especial para alimentar las semillas preparadas y bajo una serie de aspersores mediante los cuales cada una se empaca con el disolvente para la lixiviación. Después de casi una vuelta, el contenido lixiviado de cada celda se arroja automáticamente a uno de los compartimientos inferiores estacionarios, de los cuales se sacan continuamente. El disolvente de cada aspersion se percuela en forma descendente a través del sólido y de la pantalla de soporte en el compartimiento apropiado del tanque inferior, el cual se bombea continuamente para la siguiente aspersion. La lixiviación es a contracorriente y la solución más concentrada se obtiene con las semillas más frescas. Varios aparatos ingeniosos son necesarios para mantener una operación sencilla; toda la máquina está encerrada en una estructura sellada para evitar que los vapores del disolvente escapen.

Figura 7. Arreglo esquemático de Rotocel



Fuente: Robert Treybal, **Operaciones de transferencia de masa**, 1988.

2.4.10 Métodos de cálculos

Es importante que se haga un cálculo aproximado del grado de lixiviación obtenible mediante cierto procedimiento, es decir, de la cantidad de sustancia soluble lixiviada de un sólido; con este proceso ha de reconocerse el contenido inicial de soluto del sólido, el número y cantidad de lavados con el disolvente de lixiviación, la concentración de soluto en el disolvente de lixiviación, si hubo lixiviación, y el método que se empleó para efectuarla (por lotes o a contracorriente continua). En forma alternativa, quizás es necesario calcular el número de lavados o número de etapas, requeridos para reducir el contenido de soluto hasta algún valor dado; deberán conocerse entonces la cantidad y la concentración de soluto en el disolvente de lixiviación. Los métodos de cálculo son muy similares a los utilizados en la extracción líquida.

2.4.10.1 Eficiencia de las etapas

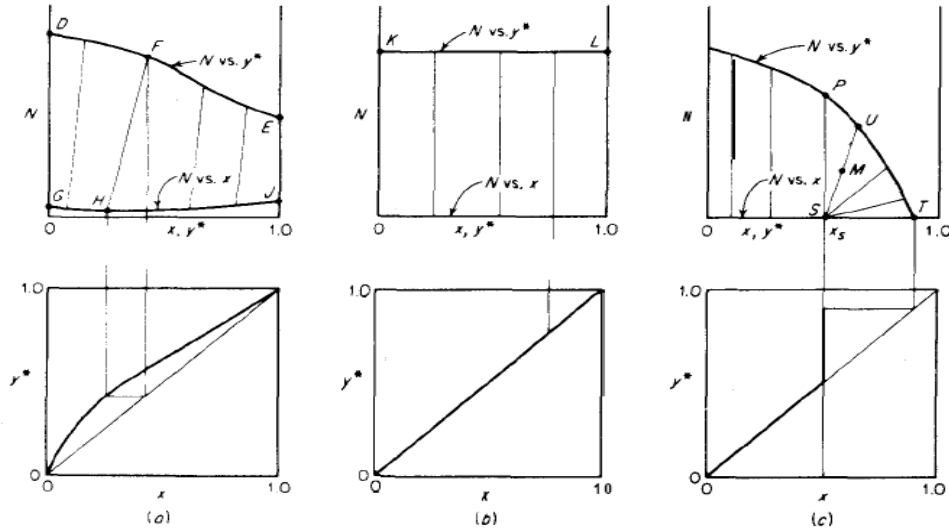
Considérese una operación sencilla de lixiviación por lotes, en la cual el sólido se va a lixiviar con una cantidad de disolvente mayor que la necesaria para disolver todo el soluto soluble; en dicha operación el sólido no absorbe de modo preferente ni al disolvente ni al soluto. Si se proporciona un tiempo adecuado de contacto entre el sólido y el disolvente, todo el soluto se disuelve; entonces, la mezcla es una suspensión de sólido insoluble sumergidos en una solución de soluto en el disolvente. Luego, las fases insolubles se separan físicamente por sedimentación, filtración o drenado y toda la operación constituye una sola etapa. Si la separación mecánica del sólido y el líquido fuese perfecta, no habría soluto asociado con el sólido que sale de la operación y se habría logrado en una sola etapa la separación completa del sólido insoluble. Esta sería una etapa ideal, con una eficiencia de etapa del 100%. En

la práctica, la eficiencia de las etapas es generalmente bastante menor que esa: (1) es posible que el soluto no se haya disuelto por completo debido a un tiempo insuficiente de contacto; (2) probablemente sea imposible realizar una perfecta separación mecánica del líquido-sólido, así que los sólidos que salen de la etapa siempre retendrán cierta cantidad de líquido y de soluto disuelto asociado. Cuando el soluto es adsorbido en el sólido, la sedimentación o drenaje imperfectos darán una eficiencia menor de etapa, aunque se logre el equilibrio entre las fases líquido y sólido.

2.4.10.2 Equilibrio práctico

Por lo general, será más sencillo realizar los cálculos gráficamente, como en otras operaciones de transferencia de masa; para esto se requiere la representación gráfica de las condiciones de equilibrio. Es más sencillo utilizar las condiciones prácticas en el equilibrio, las cuales consideran directamente la eficiencia de las etapas; pueden utilizarse completamente o en parte, de modo similar a como se realiza en la absorción de gases y en la destilación. En los casos más sencillos se debe trabajar con sistemas de tres componentes, que contienen el disolvente puro (A), el sólido acarreador insoluble (B) y el soluto soluble (C). Los cálculos y las representaciones gráficas pueden hacerse sobre coordenadas triangulares para cualquier sistema de este tipo. Como en un diagrama de este tipo ocurre a menudo amontonamiento en una esquina, es preferible utilizar un sistema de coordenadas rectangulares.

Figura 8. Diagramas típicos en el equilibrio



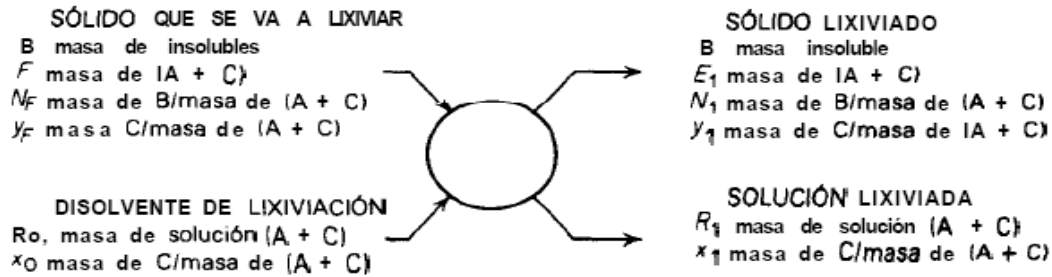
Fuente: Robert Treybal, **Operaciones de transferencia de masa**, 1988.

2.4.10.3 Lixiviación en una sola etapa

Considérese la lixiviación real o etapa de lavado simple de la figura 9. El círculo representa la operación completa, incluyendo el mezclado del sólido y del disolvente de lixiviación y la separación mecánica de las fases insolubles resultantes mediante cualquier recurso utilizable. Los pesos de las distintas corrientes se expresan como masa en una operación por lotes o como masa/tiempo para flujo continuo. Como para la mayoría de los fines, el sólido B es insoluble en el disolvente y dado que se obtiene una solución de lixiviación líquida clara, el sólido B descargado en los sólidos lixiviados se tomará como el mismo que en los sólidos por lixiviar. Por definición de N ,

$$B = N_F F = E_1 N_1 \quad (\text{Ec.1})$$

Figura 9. Lixiviación o lavado en una sola etapa



Fuente: Robert Treybal, **Operaciones de transferencia de masa**, 1988.

Un balance de soluto (C),

$$F y_F + R_0 x_0 = E_1 y_1 + R_1 x_1 \quad (\text{Ec. 2})$$

Un balance de disolvente (A),

$$F(1 - y_F) + R_0(1 - x_0) = E_1(1 - y_1) + R_1(1 - x_1) \quad (\text{Ec. 3})$$

Y un balance de la "solución" (soluto+disolvente),

$$F + R_0 = E_1 + R_1 \quad (\text{Ec. 4})$$

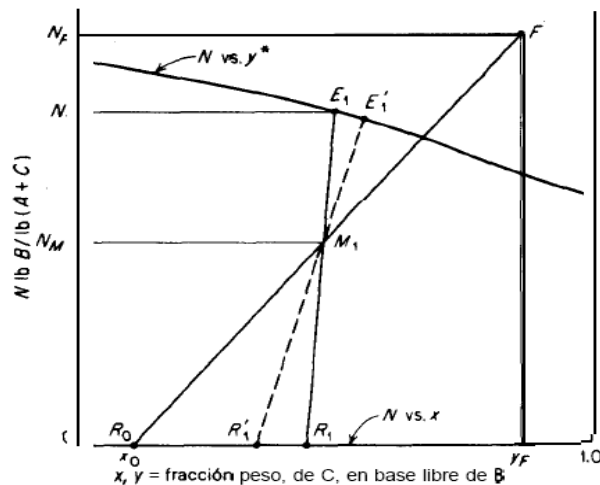
El mezclado de los sólidos que se van a lixiviar y el disolvente de lixiviación produce una mezcla de masa M_1 libre de B tal que:

$$N_{M1} = \frac{B}{F+R_0} = \frac{B}{M_1} \quad (\text{Ec. 5})$$

$$y_{M1} = \frac{y_F F + R_0 x_0}{F + R_0} \quad (\text{Ec. 6})$$

Estas relaciones pueden mostrarse en el sistema de coordenadas de la figura 10. El punto F representa el sólido por lixiviar y R_0 el disolvente de lixiviación. El punto M_1 , que representa la mezcla global, debe caer sobre la línea recta que une R_0 y F, de acuerdo con las características de estos diagramas. Los puntos E_1 y R_1 que representa las corrientes efluentes, están ubicados en extremos opuestos de la línea de unión a través de M_1 ; sus composiciones se pueden leer en el diagrama.

Figura 10. **Gráfica de lixiviación o lavado en una sola etapa**



Fuente: Robert Treybal, **Operaciones de transferencia de masa**, 1988.

2.4.10.4 Lixiviación en varias etapas a corriente cruzada

Mediante el contacto de los sólidos lixiviados con un lote fresco de disolvente de lixiviación, se puede disolver o eliminar soluto adicional del material insoluble. Los cálculos para las etapas adicionales simplemente son repeticiones del procedimiento para una sola etapa, pero los sólidos lixiviados de cualquier etapa se convierten en sólidos de alimentación para la siguiente. Se aplican las ecuaciones 1 y 6, basta hacer los cambios obvios en los

subíndices para indicar las etapas adicionales. Cuando deba determinarse el número de etapas para que el contenido de soluto en un sólido se reduzca hasta un valor dado, recuérdese que se está trabajando con etapas reales, debido al uso de los datos prácticos en el equilibrio, y que por lo tanto el número que se va a encontrar debe ser entero. Tal vez requiera un ajuste por prueba y error, ya sea de la cantidad de soluto que se va a lixiviar o de la cantidad o proporción de disolvente en las etapas.

2.4.11 Naturaleza del disolvente

Los disolventes utilizados en procesos de lixiviación pueden ser principalmente fluidos incompresibles, compresibles o supercríticos.

2.4.11.1 Fluidos incompresibles

Aquellos fluidos en los cuales las variaciones de volumen son insignificantes a medida que aumenta la presión. Este tipo de fluidos son los más comúnmente utilizados, los cuales a su vez pueden ser:

2.4.11.2 Disolventes polares

Tales como agua, acetona, etanol, etc.

2.4.11.3 Disolventes no polares

Tales como hexano, benceno, heptano, etc.

2.4.11.4 Fluidos compresibles

Aquellos fluidos en los cuales al variar la presión su volumen también varía notablemente.

2.4.11.5 Fluidos supercríticos

Se encuentran en condiciones de presión y temperatura superiores a su punto crítico, por lo que poseen propiedades intermedias entre líquidos y gases. La propiedad más importante que presentan es su elevado poder disolvente en estado supercrítico.

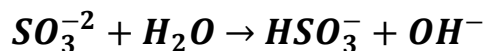
2.4.11.6 Mezclas de disolventes

Usualmente también pueden emplearse mezclas de dos o más disolventes, como el caso en el que es necesario utilizar un coadyuvante con el fin de facilitar el proceso de extracción. El uso de un coadyuvante se realiza principalmente con dos fines:

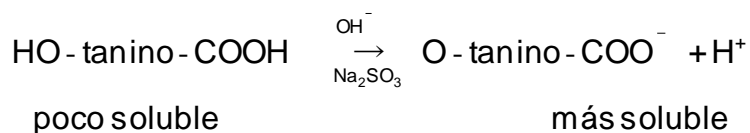
2.4.11.7 Realizar un cambio en el pH

Por medio de una sal, un ácido o una base se puede modificar el pH de la solución extractiva, por ejemplo **puede utilizarse una base como el sulfito de sodio para crear una solución alcalina que por medio de hidrólisis permita neutralizar los iones ácidos provenientes de los taninos y así permitir la extracción de los últimos.**

Esto debido a que la hidrólisis del sulfito de sodio produce una disolución alcalina



Como los taninos son de carácter ácido, al reaccionar con el sulfito de sodio, de carácter alcalino, los taninos pierden átomos H^+ por medio de su neutralización o bien, disociación y entonces se transforman a su forma iónica conjugada, la cual posee mayor solubilidad.



Esto explica por qué **los taninos condensados (ácidos fenólicos) pueden ser extraídos sólo como sales con disolución diluida de álcali.**

2.4.11.7.1 Propiedades químicas, acidez de los fenoles

Los fenoles poseen grupos hidroxilos capaces de sufrir ionización en su enlace O-H. Los fenoles son mucho más ácidos que los alcoholes, el fenol ($pK_a=9.95$), por ejemplo, es aproximadamente diez mil veces más ácido que el metanol (el más ácido de los alcoholes). Lo anterior implica que los fenoles son también ácidos más fuertes que el agua, y que los fenóxidos, sus bases conjugadas, son bastante alcalinas que los alcóxidos y que el anión hidróxido.

La electronegatividad (el efecto inductivo) de los sustituyentes determina la acidez de los fenoles. Así, por ejemplo, la introducción de un sustituyente metilo (que debe donar electrones al anillo por ser menos electronegativo que los carbonos sp^2 del mismo) provoca que el oxígeno hidroxílico se vea

enriquecido de electrones y por ello no tenga tanta necesidad de romper su enlace con el hidrógeno, es decir, la acidez de un fenol es más pequeña cuando tiene al sustituyente metilo que cuando no lo tiene. Por el contrario, todos los otros grupos, que son muy electronegativos, tienden a hacer más ácido al fenol, pues al halar electrones hacia sí, hace que el oxígeno hidroxílico sea empobrecido de electrones y que con ello se vea obligado a arrancar sus electrones de enlace con el hidrógeno, liberando así a éste último como protón ácido.

2.4.11.8 Realizar un cambio en la constante dieléctrica

La constante dieléctrica (κ) de un solvente muestra que tanto esta sustancia está polarizada y la capacidad de asociación del solvente a otras moléculas. Cuanto más polar es un solvente, mayor será su constante dieléctrica. Además, compuestos ionizables y/o altamente polares se disuelven en solventes de alta constante dieléctrica, mientras que compuestos apolares se disuelven en solventes de baja constante dieléctrica.

De modo que **con la mezcla de dos o más solventes se puede conseguir un cambio en la constante dieléctrica de la mezcla resultante, la cual dependerá de la constante dieléctrica de cada solvente y de su respectivo porcentaje en la mezcla.**

$$\kappa = \frac{\kappa_A(\%_A) + \kappa_B(\%_B) + \dots + \kappa_n(\%_n)}{100} \quad (\text{Ec. 7})$$

Por ejemplo, puede realizarse la mezcla de dos solventes, uno que posee una constante dieléctrica muy baja y otro que tiene una muy alta, de

modo que al mezclarlos se obtiene una solución con una constante dieléctrica intermedia que permita una extracción eficiente, debido a que de esta manera se logra modificar la polaridad de dichos solventes, y por tanto su capacidad de asociación a otras moléculas.

Tal es el caso del agua pura que tiene una constante dieléctrica de 78.3 y el etanol de 24.3. Entonces, al preparar una solución de agua con etanol, en un porcentaje determinado, por ejemplo al 70% (p/p), puede conseguirse una solución con una constante dieléctrica adecuada para la extracción,

$$\kappa = \frac{78.3(30\%) + 24.3(70\%)}{100} = 40.5 \quad (\text{Ec. 8})$$

Entonces, la constante dieléctrica de la mezcla resultante es de 40.5, la cual otorga a la solución la facultad de unirse más fácilmente con las moléculas del componente que se está extrayendo. Finalmente, además de un coadyuvante, puede ser útil agregar un preservante tal como un antioxidante o antimicrobiano que permita conservar en buen estado a la solución extractiva cuando ésta tiene el peligro de oxidarse, fermentarse o descomponerse.

2.5 Biopreservantes de maderas, basados en taninos y otros extractivos

En la actualidad, el alto consumo de madera y sus productos derivados hacen que este material sea valioso, hecho significativo para el campo de la preservación de estos productos, pues deben ser tratados cuidadosamente para prolongar su período de servicio o vida útil. La durabilidad natural de la madera puede ser efectivamente incrementada por la protección química. Sin embargo, los químicos contaminan el ambiente y perjudican al ser humano, por

esto, y hasta donde sea posible, el uso de fungicidas e insecticidas químicos debiera ser minimizado y debiera buscarse otras formas de protección de la madera (Weissenfeld, 1988). De acuerdo con esto, la preservación química de la madera podría ser minimizada y aplicada solamente cuando sea necesario (Willeitner, 1991).

Esto es muy pertinente, fundamentalmente cuando restricciones ambientales recientes limitan el uso de una gran cantidad de biocidas para la preservación de la madera y cuando los estándares son más exigentes, cambiando dramáticamente el espacio donde actúa la preservación de la madera, fenómeno más notorio en los países desarrollados. En estos países surgen otros problemas relacionados: el incremento de los problemas de deposición de la madera tratada y que se encuentra fuera de servicio, como en el desarrollo de nuevos métodos, ambientalmente más amigables para el control de hongos e insectos xilófagos, sin contar con el período de re-educación para asimilar y asumir estos cambios.

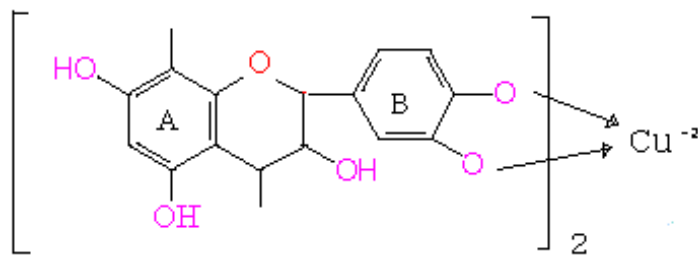
Este enfoque ecológico implica el desarrollo de la llamada protección natural con preservantes menos dañinos al ambiente y al ser humano y que sean selectivos solamente a organismos que destruyan la madera. Estos preservantes deberán ser biológicamente degradables (Barnes, 1992).

Así, los preservantes de madera basados en flavonoides y extractos fenólicos, fundamentalmente taninos, han despertado interés y están siendo desarrollados (Lakes et.al., 1988; Dirol, 1994; Pizzi & Baecker, 1996), debido a su habilidad de formar quelatos insolubles con varios iones metálicos, incluyendo cobre (McDonald, et.al., 1996). Este tipo de preservantes son muy ventajosos por generar un bajo impacto ambiental, tanto en su preparación como durante su aplicación, además, por la posibilidad de brindar una gran

seguridad a los usuarios y finalmente por los potenciales beneficios sociales y económicos de estos productos como sustitutos de los derivados del petróleo (González, 1996).

Los compuestos tanino-metal se basan en la afinidad de un metal por los grupos oxidrilo en el anillo - B del flavonoide, figura 3. El metal utilizado frecuentemente como biocida ha sido cobre. Existen investigaciones donde este metal ha sido reemplazado por zinc. Los compuestos así formados son influidos por la naturaleza del tanino, la concentración tanto de estos compuestos, como del cobre, así como la precipitación de este metal. Por todo esto, se hace necesario optimizar los parámetros de fijación del cobre y el zinc para lograr su insolubilización en la madera, lo que garantizará el empleo de estos compuestos como preservantes de la madera.

Figura 11. **Complejo tanino-metal, señalando la afinidad de un metal por los grupos oxidrilo en el anillo - B del flavonoide**



Fuente: www.monografias.com/.../preserv-madera.shtml

2.6 Determinación cuantitativa del contenido de taninos

Para el análisis cuantitativo de taninos se han propuesto muchos procedimientos, algunos de aplicación general, y otros aplicables a casos

particulares. Dentro de los primeros existen tres métodos que pueden considerarse como clásicos: el de polvo de piel, el de KMnO_4 y añil o de Löwenlhal, el de Denis-Folin y el de butanol-HCl.

El método de polvo de piel permite determinar por pesada las sustancias absorbidas por el cuero, incluyendo en ellas a las materias colorantes, los ácidos y otras sustancias que no pueden considerarse en realidad como taninos. A pesar de ser un método relativamente simple, requiere un gran tiempo de análisis y gran cantidad de muestra.

El método de Löwenlhal es volumétrico. Su fundamento es la oxidación del tanino por KMnO_4 en presencia del añil sulfonado, sirviendo éste como indicador y como regulador de la reacción. Como el ácido gálico y otros compuestos que están presentes se oxidan del mismo modo que el tanino, es preciso realizar una segunda valoración después de separar el tanino, calculando éste por diferencia. Para efectuar dicha operación puede usarse el polvo de piel, o se puede añadir una solución recién preparada de gelatina. El método de Denis-Folin aprovecha la reacción positiva entre compuestos fosfotúngsticos- fosfomolibdicos con el ácido tánico y pirogalol, para su determinación colorimétrica.

El método de butanol-HCl. Consiste en calentar extractos metanólicos acuosos (70% metanol, 0.5% ácido fórmico y 0.05% ácido ascórbico) de tejido vegetal en una solución 5% (v/v) de HCl en butanol, lo que convierte los taninos condensados en antocianidinas (i.e. color violeta). Como estándares se usan soluciones de taninos purificados de la especie de leguminosa en estudio, según el método de Asquith y Butler (1985) con modificaciones de A.E. Hagerman (datos no publicados). Con este método se miden las tres fracciones de taninos condensados en el tejido vegetal ya mencionados.

Entre los otros métodos cuantitativos que se usan podemos citar: la hemólisis de la sangre, en que se cuantifican por colorimetría en el líquido sobrenadante de la mezcla de taninos y sangre hemolizada, requiriendo en este caso una pequeña cantidad de muestra y corto tiempo para el análisis; la precipitación de taninos de hojas de Hamamelis, raíces de Krameria y Tormentilla con $\text{Cu}(\text{OAc})_2$; oxidación de una solución de taninos del extracto de té con exceso de $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$; la determinación titrimétrica de taninos tratando la muestra con solución de ZnO , ZnCl_2 ó ZnSO_4 y titulando la solución resultante con EDTA; el empleo de solución de molibdato de amonio y medición de la absorbancia a 364nm; la precipitación de muestras de ácido tánico y taninos de sorgo con proteínas, adición de FeCl_3 y medición de la absorbancia a 510nm; la determinación del ácido tánico en plantas, con solución de tartrato de sodio y potasio con FeSO_4 , titulando con NH_4OAc y evaluando, ya sea por colorimetría a 540nm ó por absorción ultravioleta a 276nm.

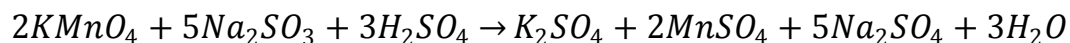
Se han reportado métodos más recientes en los que se hace uso de la cromatografía líquida de alta presión (HPLC), ya que en los métodos como el de polvo de piel, por ejemplo, también se determina los no-taninos en los extractos, y se obtienen porcentajes que no reflejan el verdadero contenido de taninos.

2.7 Sulfito de sodio

El **sulfito de sodio** o sulfito sódico es un compuesto incoloro, producto de la reacción del ácido sulfuroso (u óxido de azufre (IV)) con hidróxido de sodio. En agua se disuelve con reacción ligeramente básica.

Es ligeramente higroscópico.

El sulfito de sodio se oxida fácilmente para convertirse en sulfato de sodio (Na_2SO_4). Por esto también descolorea una disolución ácida de permanganato de potasio:



2.7.1 Datos fisicoquímicos

Fórmula:	Na_2SO_3
Masa molecular:	126.06 g/mol
Descomposición por debajo del punto de fusión:	a 600 °C
Densidad:	2.63 g/ml
Nº Cas:	7757 – 83 – 7
Solubilidad en agua:	12.54 g/100 ml (0 °C); 28.3 g/100 ml (80 °C)
LD ₅₀ :	6400 mg/kg (rata); 820 mg/kg (ratón)

2.7.2 Aplicaciones

El sulfito de sodio es producto de partida en diversos procesos químicos. Así, se utiliza conjuntamente con azufre elemental en la obtención del tiosulfato sódico (sal de fijación).

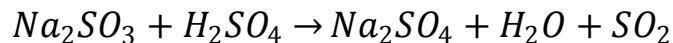
Como tal, se utiliza aprovechando sus propiedades reductoras protegiendo tuberías o para eliminar el cloro libre.

Como conservante y antioxidante se utiliza en la industria alimentaria (E221 declarado como óxido de azufre (IV)). La concentración suele ser

habitualmente de 30 - 200 mg/kg de alimento aunque en algunos frutos secos se pueden alcanzar los 2000mg/kg.

También mejora la calidad de los productos en la industria del caucho y de la celulosa y es un producto intermedio en la síntesis del ditionito de sodio.

En el laboratorio se utiliza la reacción del sulfito de sodio con ácido para generar corrientes de óxido de azufre (IV):



Con los aldehídos reacciona bajo formación de ácidos hidroxisulfónicos, insolubles en disolventes orgánicos. Esta reacción se aprovecha en las operaciones de limpieza de los aldehídos, ya que estos se liberan de nuevo al acidular la disolución.

2.7.3 Toxicología

El polvo del sulfito de sodio irrita los pulmones. Ingerido en cantidades grandes es nocivo. Especialmente en personas sensibles, provoca dolor de cabeza y hasta náuseas y puede irritar el sistema intestinal. La presencia del sulfito de sodio en los alimentos puede reducir el contenido en algunas vitaminas como las vitaminas B y el ácido fólico.

2.8 Análisis instrumental, cromatografía líquida de alta presión

La cromatografía es un medio físico de separación basado en la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases inmiscibles, una fija o estacionaria y la otra móvil. En cromatografía líquida, la fase móvil es un líquido que fluye a través de una columna que contiene a la fase fija.

La cromatografía líquida clásica se lleva cabo en una columna generalmente de vidrio, la cual está rellena con la fase fija. Luego de sembrar la muestra en la parte superior, se hace fluir la fase móvil a través de la columna por efecto de la gravedad. Con el objeto de aumentar la eficiencia en las separaciones, el tamaño de las partículas de fase fija se fue disminuyendo hasta el tamaño de los micrones, lo cual generó la necesidad de utilizar altas presiones para lograr que fluya la fase móvil. De esta manera, nació la técnica de cromatografía líquida de alta presión (HPLC), que requiere de instrumental especial que permita trabajar con las altas presiones requeridas.

Dependiendo del tipo de fase fija y del tipo de fenómeno físico que provoca la separación, la cromatografía líquida de alta presión puede ser:

1. Cromatografía de adsorción

La fase fija es un sólido y se utiliza casi exclusivamente sílice (sílica), y en mucha menor medida, alúmina.

2. Cromatografía de reparto

En casi todos los casos, como fase estacionaria se utilizan compuestos unidos químicamente a un soporte sólido de sílica, se le subdivide en cromatografía en fase normal y fase reversa. En la cromatografía de fase normal, la fase fija es polar, (como por ejemplo, agua o trietilenglicol) y

los compuestos menos polares eluyen primero. En la cromatografía en fase reversa, el compuesto unido químicamente es un hidrocarburo alifático y se emplean fases móviles polares. En este caso las sustancias más polares eluyen primero.

3. Cromatografía iónica

Se utilizan columnas rellenas con resinas de intercambio iónico para separar y determinar iones.

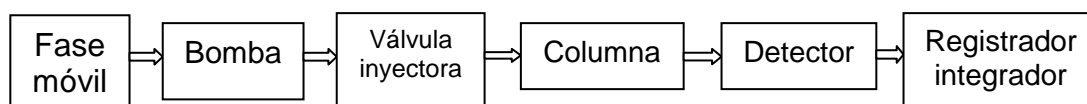
4. Cromatografía de exclusión de tamaño

La fase fija está formada por partículas poliméricas o de sílice que contienen una red uniforme de poros y llevan a cabo un fraccionamiento relacionado con el tamaño molecular. Las moléculas de mayor tamaño son excluidas y eluyen primero, mientras que las más pequeñas que penetran en los poros son retenidas más tiempo.

2.8.1 Instrumental

Un equipo para cromatografía líquida de alta presión puede representarse por el siguiente esquema:

Figura 12. **Esquema de equipo de cromatografía líquida**



Fuente: <http://taninos.tripod.com>

La fase móvil puede ser un solvente puro o una mezcla de solventes. Cuando se trata de una mezcla, puede programarse la bomba para que tome solventes de diferentes botellas en una proporción determinada y realice la mezcla en una cámara de mezclado. Cuando durante toda la separación se utiliza siempre el mismo solvente, se denomina *isocrática*, sin embargo, es normal realizar un gradiente de composición del solvente a lo largo de la cromatografía para mejorar la eficiencia y acortar la duración del proceso. Estos gradientes de solventes también son realizados en forma automática por las bombas. La bomba envía solvente a través de canales de diámetro pequeño, generalmente de acero inoxidable, hacia la válvula inyectora.

Esta consiste en una válvula de seis vías que permite introducir en el flujo del solvente, la muestra contenida en un aro o *loop* de volumen calibrado. Luego de que se produzca la separación en la columna, los componentes de la mezcla pasan por el detector. Este produce una señal eléctrica proporcional a la cantidad de materia y esa señal es enviada al registrador que realiza un gráfico de intensidad en función del tiempo (cromatograma). Idealmente, se trata de picos gaussianos y cada pico corresponde a un componente de la muestra original. El integrador calcula además el área correspondiente a cada pico, la cual es proporcional a la cantidad de sustancia.

2.9 Descripción de *Pinus maximinoi*

2.9.1 Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica se describe a continuación:

- FAMILIA Pinaceae

- GÉNERO *Pinus*
- ESPECIE *Pinus maximinoi*
- SINÓNIMO *Pinus tenuifolia Benth*
- NOMBRE COMÚN Pino candelillo, pino blanco.

Se indica que *Pinus maximinoi* está estrechamente relacionada con la especie *Pinus pseudostrobus*. Sin embargo, tiene características propias, que debe ser reconocida como especie separada y no una variedad, sus hojas son más delgadas, sus conos muy diferentes, la corteza del fuste y sus ramas delgadas.

2.9.2 Descripción morfológica

“Árbol de hasta 48 m de altura, con diámetro hasta de un metro. Corteza en árboles jóvenes es lisa, de color gris; los árboles adultos tienen la corteza gruesa surcada longitudinalmente, áspera y tosca, de color café-grisáceo. Ramillas frágiles con largos entrenudos moreno rojizos o amarillentos, lustrosas, las huellas de las brácteas poco marcadas y especiadas. Hojas en grupos de cinco de 16 – 28 cm de largo, muy delgadas, colgantes, de color verde claro, brillantes”

“Pocas estomas, en la parte dorsal de la hoja 2 a 3, y lateralmente en general en dos hileras. Canales resiníferos son medios en número de 2 a 3, los haces fibrovasculares son dos, aproximados y difíciles para distinguirlos. El hipodermo forma de una a tres entradas triangulares, a veces formando una unión con el endodermo. Esta característica también le separa de la especie de *pseudostrobus*. Endodermo compuesto por células relativamente grandes con

paredes extremas engrosadas. Vainas perennes, apretadas y anilladas de 14 a 18mm de largo y color 2.5 y R 4/2”.

“Contornos oblongos alternados de color moreno rojizo, en grupos de cuatro o cinco. Con escamas resinosas, con puntos gruesos, dirigidas hacia el ápice. Conos oblongos o largamente ovoides, en la base aplanadas, asimétricas de 6.5 a 10cm de largo, de color moreno rojizo claro. Los conos caen con sus pedúnculos”.

“Escamas delgadas y flexibles con ápice redondeado, débilmente aquillada, con una pequeña espina decidua. Las escamas después que los conos se abren (madurez), se reflejan. Maduración y floración en mismo tiempo, enero y febrero. Los conos son pronto caedizos. Esta especie requiere buenos y profundos suelos con precipitación mayor de 900mm por año”.

2.9.3 Distribución natural en Guatemala

La principal distribución natural de *Pinus maximinoi* en Guatemala, se encuentra en Alta Verapaz, El Quiché y en sitios con suelos fértiles, precipitación abundante y clima sub-tropical. Su distribución en Guatemala es bastante amplia, se encuentra en los siguientes lugares: El Quiché, a 2,100msnm; Alta Verapaz, entre 1,300 a 2,300msnm; El Progreso, entre 1,300 a 1,400msnm; Zacapa, sobre 1,500msnm; Chiquimula, a 1,200msnm; Jalapa, a 1,500msnm; y en Guatemala, Sacatepéquez, Sololá, Santa Rosa.

2.9.4 Características y propiedades de la madera

“No hay diferencia entre albura y duramen; la madera es de color amarillo cremoso y de olor ligeramente perceptible, no presenta ningún sabor. El hilo es típicamente recto, de textura fina, brillo alto y veteado suave. La gravedad específica es de 0.41 g/ml (es decir, moderadamente liviana). Su estabilidad dimensional y contracciones son comparables con *Pinus pseudostrobus*.

- Secado, preservado y usos de la madera de *Pinus maximinoi*

Es de rápido secado al aire libre, requiriendo buena ventilación cuando es recién aserrada para evitar la mancha azul. En el secado convencional se puede emplear programas normales o rápidos. La madera es susceptible al ataque de hongos e insectos, es decir, que es de baja resistencia. Es fácil de preservar por los métodos de baño caliente – frío y vacío – presión. Pueden usarse materiales hidrosolubles u oleosos.

Esta madera es fácil de trabajar con herramientas manuales y de carpintería en general. Presenta un excelente pulimiento y es blanda para ser clavada y amartillada. Su comportamiento al engomado es satisfactorio. Algunos de sus usos son: madera aserrada, chapas y contrachapados, ebanistería, decoración de interiores, mesas, puertas y ventanas, muebles finos, sillas y bancos, artesanías, moldura, cajones acústicos, cajas y embalajes, postes, pilotes (cuando está tratada), tejamanil, palillos, fósforos, plataformas, canales, jaulas, sistemas estructurales, pulpa para papel y construcciones en general.

2.9.5 Productos derivados del bosque

Se entiende como producción forestal a la intervención del hombre en el bosque al efecto de obtener satisfactores a sus necesidades, las que están determinadas por las condiciones sociales en la que se desenvuelve. Dado que los productos forestales provienen directamente del bosque, se hace una división de los mismos en:

2.9.5.1 Productos primarios

Los que a su vez se dividen en:

- Directos: todos aquellos que provienen de masas que ya han alcanzado la madurez.
- Inmediatos: constituidos por partes del vuelo que aun no han alcanzado la madurez, tal es el caso de maderas y leñas resultantes de cortas intermedias (podas, aclareos, etc.).
- Mediatos: todos aquellos productos provenientes de árboles en pie, los cuales pueden ser: resinas, gomas, látex, corcho, semillas y frutos.

2.9.5.2 Productos secundarios

Consistentes en plantas menores, leña a partir de árboles muertos o producto de la poda natural, caza y pesca dentro del área boscosa.

La actual ley forestal de Guatemala define los productos forestales como los bienes directos que se aprovechan del bosque. Estos incluyen los

siguientes: trozas rollizas o labradas, sin ningún tratamiento, postes y pilotes sin ningún tratamiento; materiales para pulpa, durmientes sin ningún tratamiento; astillas para aglomerados, leña, carbón vegetal, semillas, gomas, resinas y corteza.

2.9.6 Distribución de biomasa

El conocimiento de la distribución de biomasa en los principales componentes de un árbol individual es la base de una evaluación cuantitativa de la biomasa forestal de un rodal, sitios de aprovechamiento o áreas mayores. El manejo eficiente, la plantación y desarrollo de aprovechamiento, así como el uso de maquinaria, presuponen un conocimiento e identificación de los componentes del árbol, siendo la siguiente:

1. Árbol entero, que incluye la biomasa de todos los componentes del árbol arriba de la sección transversal del tocón, incluyendo el tocón y raíces.
2. Árbol completo incluye el tocón y raíces.
3. Punta no comercial del fuste es definida por prácticas de troceo local.
4. Ramas, incluyen toda la madera y corteza de ramas vivas y muertas, pero sin incluir hojas, yemas y órganos reproductivos de un árbol. Las ramas son con frecuencia divididas en clases diamétricas, pero esta división varía de estudio a estudio de acuerdo a las condiciones y necesidades particulares.
5. Follaje incluye todas las hojas y nuevos brotes. Los órganos reproductivos, en la mayoría de los estudios también son incluidos en la biomasa foliar, aunque existen algunos estudios que los considera como otro componente.
6. Copa está constituida por todas las ramas vivas o muertas, más todo el follaje y órganos reproductivos. Sin embargo, en muchos estudios las ramas muertas se excluyen.

7. Tocón es la biomasa que se encuentra sobre el nivel del suelo y abajo de la base del fuste comercial.
8. Raíces incluyen todas las raíces laterales, pero excluye la raíz principal, la cual se considera parte del tocón como una elongación natural del tallo. Las raíces al igual que las ramas son subdivididas en clases diamétricas.

Figura 13. **Corteza de *Pinus maximinoi***



Fuente: <http://taninos.tripod.com>

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1 Variables

En el presente informe se establecieron las variables de proceso que fueron sometidas a estudio con el fin de determinar en cuál de las cortezas de las dos edades establecidas del *Pinus maximinoi* se encuentra el mayor contenido de taninos. Las variables de proceso son las siguientes:

- Monitoreo e identificación de taninos en la muestra extraída.
- Porcentaje de humedad de las muestras.
- Porcentaje de rendimiento acumulado y relativo de las muestras.

3.2 Delimitación de campo de estudio

- La corteza del pino maximinoi utilizado para la extracción fue obtenida en la finca Río Frío, ubicada en el kilómetro 190 en la carretera que conduce a Cobán, Alta Verapaz, la cual consta de bosque húmedo subtropical.
- La parte experimental se llevó a cabo en la planta piloto del Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería y en las instalaciones del laboratorio de Química y laboratorio de Química Industrial, Centro de investigaciones de la Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala.

3.3 Recursos

3.3.1 Recursos humanos disponibles

Investigadora: Karen Cecilia González Hidalgo

Asesor: Inga. Telma Maricela Cano Morales

3.3.2 Recursos materiales disponibles

- Corteza de *Pinus maximinoi*
- Solución acuosa de bisulfito de sodio al 2%
- Cloruro férrico
- Acetato de plomo
- Ácido acético glacial
- Agua desmineralizada
- Permanganato de potasio
- Indicador de color, índigo de carmín
- Agua grado HPLC
- Acetonitrilo grado HPLC
- Metanol grado HPLC
- Hexano grado HPLC

3.3.2.1 Equipo y cristalería

3.3.2.1.1 Plancha de calentamiento

Marca CORNING, modelo PC-620, 120 voltios, frecuencia de 60 Hz, potencia 1113 Watts.

Figura 14. **Plancha de calentamiento**



Fuente: **Laboratorio Química Industrial**

3.3.2.1.2 Balanza

Marca Adventure, serie G1231202040133, voltaje de 8 – 14.5 voltios, frecuencia de 50-60 Hz, máxima capacidad de 150 gramos, lectura mínima de 0.001.

Figura 15. **Balanza**



Fuente: **Laboratorio Química Industrial**

3.3.2.1.3 Bomba de vacío

Marca Gast, modelo 0523-VAFG588DX, voltaje de 100-115, frecuencia de 50 Hz, potencia de ¼ Hp, revoluciones 1725-1425 rpm.

Figura 16. **Bomba de vacío**



Fuente: **Laboratorio Química Industrial**

3.3.2.1.4 HPLC

Marca Hitachi Elite LaChrom, modelo LC-7820, con detector Ultravioleta a 280 nanómetros, horno calefactor para ajuste automático de temperatura, inyector manual.

Figura 17. **HPLC**



Fuente: **Laboratorios analíticos Donovan Werke Internacional**

3.3.2.1.5 Columnas y pre columna HPLC

Selec B y L1 (RP-18), 4 mm * 250 mm.

Figura 18. **Columnas Selec B y RP-18, pre columna, HPLC**



Fuente: **Laboratorios analíticos Donovan Werke Internacional**

3.3.2.1.6 Balanza de humedad

Marca BOECO.

Figura 19. **Balanza de humedad**



Fuente: **Laboratorio Química Industrial**

3.3.2.1.7 Secador eléctrico de bandejas

Es de contacto directo con flujo transversal, marca PREMLAB.

3.3.2.2 Cristalería

1. Tamiz marca VWR Scientific, A. S. T. M. E-11 Especification, de 300 μm No. 50 y 250 μm No. 60
2. Balones aforados de 50, 100, 500 y 1,000mL
3. Beacker de 100 y 250mL
4. Erlenmeyer de 100 y 500mL
5. Probetas graduadas de 25 y 500mL
6. Varillas de agitación
7. Tubos de ensayo de 1.6 cm de diámetro y 13 cm. de largo

8. Gradillas
9. Termómetro de mercurio
10. Frasco pequeños color ámbar para almacenamiento
11. Membranas de 0.45 μm
12. Unidad filtradora
13. Sonificador ultrasonido G27

3.4 Técnica cualitativa y cuantitativa

3.4.1 Determinación volumétrica del porcentaje de taninos

- a. Tomar un gramo de extracto tánico y colocarlo en un earlenmeyer de 250ml, agregar 100ml de agua destilada y agitar hasta disolver.
- b. Colocar la muestra en una plancha de calentamiento y llevar a ebullición por 4 horas a reflujo. Agregar agua para mantener el volumen. Dejar que la muestra esté a temperatura ambiente.
- c. Tomar 12.5ml de la solución líquida y adicionar 10ml del indicador Índigo de Carmín, luego agregar 375ml de agua destilada.
- d. Titular con permanganato de potasio 0.1 N, hasta observar coloración amarilla.
- e. Preparar un blanco con agua, adicionar todos los reactivos en las mismas condiciones y titular.

- Preparación del indicador índigo de carmín:

Se prepara de la siguiente manera: disolver 6gr de reactivo en 500ml de agua destilada, luego calentar para que se disuelva, enfriar y agregar 50ml de ácido sulfúrico, diluir a un volumen de 1000ml y filtrar.

3.4.2 Reacción de cloruro férrico

Se coloca 5ml de solución tánica al 25% obtenida del procedimiento detallado anteriormente, en un tubo de ensayo, se añadirá gota a gota solución de cloruro férrico al 10%, hasta la aparición de color verde oscuro en la solución.

3.4.3 Reacción a realizar de acetato de plomo

Se coloca 5ml de solución tánica al 25% obtenida con el procedimiento descrito anteriormente, y se añadirá 10ml de ácido acético al 10 % y 5ml de acetato de plomo trihidratado, hasta la formación de precipitado.

3.5 Recolección y ordenamiento de información

Los pinos fueron seleccionados según la edad establecida. La muestra de corteza se obtuvo a partir del DAP (a 1.30 m del suelo). Se tomaron cinco muestras de corteza de cinco pinos diferentes para especies jóvenes y cinco muestras de corteza de cinco pinos diferentes para las especies adultas, por lo que se contó con diez muestras de corteza: cinco de la especie de pino joven y cinco de la especie de pino adulta. La corteza se identificó como: A₁ (adulto No.1).....A₅ (adulto No.5) y J₁ (joven No.1).....J₅ (joven No.5).

Se procedió a secar en el secador eléctrico de bandejas de contacto directo y a moler la corteza previamente identificada, en el molino de martillos ubicado en la Planta Piloto del Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería. La corteza ya molida se sometió de nuevo al proceso de secado.

Luego de realizado estos procedimientos, se guardaron las muestras identificadas en bolsas plásticas bien selladas.

A cada una de estas muestras se les sometió a tres extracciones sucesivas, por lo que al final se obtuvo diez muestras por tres extracciones dando como resultado 30 muestras de extracto tánico. A estas muestras extraídas, se les cuantificó por medio de una titulación colorimétrica con permanganato de potasio, con indicador Índigo de carmín, y se le sometió a una identificación de principio activo por medio de cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

3.6 Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

3.6.1 Extracción con solución acuosa de bisulfito de sodio al 2%

1. Pesar una muestra de 10 gramos de corteza seca y agregarla al beacker que contendrá 70 mililitros de solución acuosa de bisulfito de sodio al 2% a 70 °C, para obtener una relación de corteza – solvente de 1:5.
Realizar la extracción durante 45 minutos a 70 °C, aplicando calentamiento mediante la utilización de la plancha de calentamiento con agitación.
2. Filtrar el producto de la extracción.
3. Someter la corteza residual a dos extracciones más con el mismo solvente para cada una, en iguales condiciones.
4. Evaporar el solvente del filtrado a 70 °C, utilizando la plancha de calentamiento con agitación.
5. Secar el residuo a 70 °C en el secador eléctrico.

3.6.2 Procedimiento de identificación por medio de HPLC

1. Para preparar la fase móvil, medir con probeta 139.5ml de metanol grado HPLC en un erlenmeyer de 500ml.
2. Medir con probeta 139.5ml de acetonitrilo HPLC al mismo erlenmeyer.
3. Medir con probeta de 25ml, 21ml de hexano HPLC.
4. Mezclar, desgasificar y filtrar por membrana 0.45 μ m.
5. Para la identificación en el HPLC, el cromatograma de la muestra es similar al del estándar, mostrando tiempo de retención al minuto 3.08.
6. Para preparar la muestra de taninos, pesar 60mg en un balón volumétrico de 50ml.
7. Agregar aproximadamente 20ml de agua destilada.
8. Agitar manual y vigorosamente por 10 minutos y poner en ultrasonido por 30 minutos, sacándolo cada cinco minutos para agitar un minuto manualmente.
9. Diluir con una mezcla de agua destilada y metanol grado reactivo (50-50) y mezclar.
10. Filtrar las soluciones de las muestras a través de membrana de 0.45 μ m.
11. Para la preparación del sistema cromatográfico y la lectura, correr la fase móvil en el equipo por 30 minutos
12. Determinar el ruido y la estabilidad de la línea base. Si es necesario continuar corriendo la fase móvil.
13. Inyectar las muestras.
14. Verificar la aparición del pico en el cromatograma.

3.7 Análisis estadístico

Se realizó un experimento bifactorial con un arreglo combinatorio de 5X2 con 3 repeticiones mediante un diseño completamente al azar.

Las variables de respuestas que se midieron en el desarrollo del procedimiento fueron las siguientes:

- Porcentaje de extracto tánico.
- Porcentaje de taninos en el extracto tánico.

4. RESULTADOS

Tabla I. **Porcentaje de rendimiento de la corteza de la especie joven de *Pinus maximinoi*, posterior al proceso de maceración dinámica y porcentaje de taninos en el extracto tánico**

Árbol	Muestra	% Rendimiento	% Taninos en extracto tánico
J ₁	1ª. extracción	76	0.83
	2ª. extracción	59	0.73
	3ª. extracción	35	0.63
J ₂	1ª. extracción	72	0.89
	2ª. extracción	52	0.68
	3ª. extracción	32	0.57
J ₃	1ª. extracción	66	0.91
	2ª. extracción	48	0.81
	3ª. extracción	27	0.58
J ₄	1ª. extracción	70	0.85
	2ª. extracción	42	0.82
	3ª. extracción	28	0.51
J ₅	1ª. extracción	78	0.85
	2ª. extracción	50	0.76
	3ª. extracción	27	0.53
Promedio		51	0.73
Desviación estándar		6	0.152
Desviación media		5	0.124

Fuente: Tablas XIII y XIV, sección de datos calculados

Tabla II. **Porcentaje de rendimiento de la corteza de la especie adulta de *Pinus maximinoi*, posterior al proceso de maceración dinámica, y porcentaje de taninos en el extracto tánico**

Árbol	Muestra	% Rendimiento	% Taninos en extracto tánico
A ₁	1ª. extracción	85	0.89
	2ª. extracción	68	0.70
	3ª. extracción	39	0.19
A ₂	1ª. extracción	86	0.92
	2ª. extracción	52	0.88
	3ª. extracción	41	0.30
A ₃	1ª. extracción	80	0.96
	2ª. extracción	48	0.95
	3ª. extracción	24	0.44
A ₄	1ª. extracción	88	0.98
	2ª. extracción	50	0.73
	3ª. extracción	30	0.39
A ₅	1ª. extracción	85	0.92
	2ª. extracción	53	0.82
	3ª. extracción	26	0.35
Promedio		57	0.69
Desviación estándar		8	0.175
Desviación media		6	0.119

Fuente: Tablas XIII y XIV, sección de datos calculados

Tabla III. **Porcentaje de rendimiento absoluto, acumulado y relativo de taninos en la primera extracción del árbol adulto de *Pinus maximinoi***

Árbol	Extracción	% Rendimiento		
		Absoluto	Acumulado	Relativo
A ₁	1	41	41	41
A ₂	1	47.2	47.2	47.2
A ₃	1	50	50	50
A ₄	1	56	56	56
A ₅	1	46	46	46
Promedio		48.04	48.04	48.04
Desviación estándar		5.5143449	5.5143449	5.5143449
Desviación media		121.632	121.632	121.632

Fuente: Análisis estadístico

Tabla IV. **Porcentaje de rendimiento absoluto, acumulado y relativo de taninos en la segunda extracción del árbol adulto de *Pinus maximinoi***

Árbol	Extracción	% Rendimiento		
		Absoluto	Acumulado	Relativo
A ₁	2	29.5	70.5	50
A ₂	2	27	74.2	51.13
A ₃	2	31	81	62
A ₄	2	30	86	68.18
A ₅	2	29.2	75.2	54
Promedio		29.34	77.38	57.062
Desviación estándar		1.4758049	6.1157175	7.7850832
Desviación media		8.712	149.608	242.43008

Fuente: Análisis estadístico

Tabla V. **Porcentaje de rendimiento absoluto, acumulado y relativo de taninos en la tercera extracción del árbol adulto de *Pinus maximinoi***

Árbol	Extracción	% Rendimiento		
		Absoluto	Acumulado	Relativo
A ₁	3	15.6	86.1	52.88
A ₂	3	12.5	86.7	48.45
A ₃	3	10	91	52.63
A ₄	3	12	98	85
A ₅	3	9.1	84.3	36
Promedio		54.992	89.22	54.992
Desviación estándar		2.5244801	5.4897177	18.124662
Desviación media		25.492	120.548	1314.0135

Fuente: Análisis estadístico

Tabla VI. **Porcentaje de rendimiento absoluto, acumulado y relativo de taninos en la primera extracción del árbol joven de *Pinus maximinoi***

Árbol	Extracción	% Rendimiento		
		Absoluto	Acumulado	Relativo
J ₁	1	31	31	31
J ₂	1	37	37	37
J ₃	1	31	31	31
J ₄	1	39.1	39.1	39.1
J ₅	1	33.5	33.5	33.5
Promedio		34.32	34.32	34.32
Desviación estándar		3.6313909	3.6313909	3.6313909
Desviación media		52.748	52.748	52.748

Fuente: Análisis estadístico

Tabla VII. **Porcentaje de rendimiento absoluto, acumulado y relativo de taninos en la segunda extracción del árbol joven de *Pinus maximinoi***

Árbol	Extracción	% Rendimiento		
		Absoluto	Acumulado	Relativo
J ₁	2	19.8	50.8	28.7
J ₂	2	22.1	59.1	54
J ₃	2	21	52	30.4
J ₄	2	26	65.1	42.7
J ₅	2	19.3	52.8	29
Promedio		21.64	55.96	36.96
Desviación estándar		2.6688949	6.0351471	11.157195
Desviación media		28.492	145.692	497.932

Fuente: Análisis estadístico

Tabla VIII. **Porcentaje de rendimiento absoluto, acumulado y relativo de taninos en la tercera extracción del árbol joven de *Pinus maximinoi***

Árbol	Extracción	% Rendimiento		
		Absoluto	Acumulado	Relativo
J ₁	3	8.9	59.7	18.1
J ₂	3	15	74.1	57.0
J ₃	3	10.1	62.1	21
J ₄	3	11.2	76.3	32.1
J ₅	3	18	70.8	37.1
Promedio		12.64	68.6	33.24
Desviación estándar		3.7686868	7.3457471	15.837866
Desviación media		56.812	215.84	1003.352

Fuente: Análisis estadístico

Tabla IX. **Contenido de taninos en la corteza, en extracto tánico y acumulación en la primera extracción del árbol adulto de *Pinus maximinoi***

Árbol	Extracción	Taninos en corteza (TC)	TC acumulado	Taninos en extracto (TET)	TET acumulado
A ₁	1	0.5082	0.5082	0.6197	0.6197
A ₂	1	0.546	0.546	0.5784	0.5784
A ₃	1	0.6216	0.6216	0.6216	0.6216
A ₄	1	0.6294	0.6294	0.5887	0.5887
A ₅	1	0.5418	0.5418	0.59	0.59
Promedio		0.5694	0.5694	0.59968	0.59968
Desviación estándar		0.0533376	0.0533376	0.0196748	0.0196748
Desviación media		0.0113796	0.0113796	0.0015484	0.0015484

Fuente: Datos calculados

Tabla X. **Contenido de taninos en la corteza, en extracto tánico y acumulación en la segunda extracción del árbol adulto de *Pinus maximinoi***

Árbol	Extracción	Taninos en corteza (TC)	TC acumulado	Taninos en extracto (TET)	TET acumulado
A ₁	2	0.3486	0.8568	0.5908	1.2105
A ₂	2	0.2982	0.8442	0.5522	1.1306
A ₃	2	0.2898	0.9114	0.4674	1.089
A ₄	2	0.3108	0.9402	0.5118	1.1005
A ₅	2	0.3402	0.882	0.58	1.17
Promedio		0.31752	0.88692	0.54044	1.14012
Desviación estándar		0.0258223	0.0393524	0.0509767	0.0502986
Desviación media		0.0026672	0.0061944	0.0103945	0.0101198

Fuente: Datos calculados

Tabla XI. **Contenido de taninos en la corteza, en extracto tánico y acumulación en la tercera extracción del árbol adulto de *Pinus maximinoi***

Árbol	Extracción	Taninos en corteza (TC)	TC acumulado	Taninos en extracto (TET)	TET acumulado
A ₁	3	0.084	0.9408	0.2692	1.4797
A ₂	3	0.0126	0.8568	0.0504	1.181
A ₃	3	0.0042	0.9156	0.021	1.11
A ₄	3	0.0756	1.0158	0.315	1.4155
A ₅	3	0.042	0.924	0.23	1.4
Promedio		0.04368	0.9306	0.17712	1.31724
Desviación estándar		0.0359585	0.0571797	0.1329636	0.1615606
Desviación media		0.005172	0.0130781	0.0707173	0.1044073

Fuente: Datos calculados

Tabla XII. **Contenido de taninos en la corteza, en extracto tánico y acumulación en la primera extracción del árbol joven de *Pinus maximinoi***

Árbol	Extracción	Taninos en corteza (TC)	TC acumulado	Taninos en extracto (TET)	TET acumulado
J ₁	1	0.315	0.315	0.508	0.508
J ₂	1	0.348	0.348	0.471	0.471
J ₃	1	0.323	0.323	0.522	0.522
J ₄	1	0.382	0.382	0.489	0.489
J ₅	1	0.365	0.365	0.545	0.545
Promedio		0.3466	0.3466	0.507	0.507
Desviación estándar		0.02805887	0.02805887	0.028679261	0.0286793
Desviación media		0.0031492	0.0031492	0.00329	0.00329

Fuente: Datos calculados

Tabla XIII. **Contenido de taninos en la corteza, en extracto tánico y acumulación en la segunda extracción del árbol joven de *Pinus maximinoi***

Árbol	Extracción	Taninos en corteza (TC)	TC acumulado	Taninos en extracto (TET)	TET acumulado
J ₁	2	0.164	0.479	0.414	0.922
J ₂	2	0.147	0.495	0.332	0.803
J ₃	2	0.134	0.457	0.319	0.841
J ₄	2	0.197	0.579	0.379	0.868
J ₅	2	0.168	0.533	0.435	0.98
Promedio		0.162	0.5086	0.3758	0.8828
Desviación estándar		0.02384324	0.04815392	0.050296123	0.069496
Desviación media		0.002274	0.0092752	0.0101188	0.0193188

Fuente: Datos calculados

Tabla XIV. **Contenido de taninos en la corteza, en extracto tánico y acumulación en la tercera extracción del árbol joven de *Pinus maximinoi***

Árbol	Extracción	Taninos en corteza (TC)	TC acumulado	Taninos en extracto (TET)	TET acumulado
J ₁	3	0.021	0.5	0.118	1.04
J ₂	3	0.046	0.541	0.153	0.956
J ₃	3	0.037	0.494	0.189	1.03
J ₄	3	0.05	0.629	0.225	1.093
J ₅	3	0.1	0.633	0.28	1.26
Promedio		0.0508	0.5594	0.193	1.0758
Desviación estándar		0.02967659	0.06783288	0.062916611	0.1139702
Desviación media		0.0035228	0.0184052	0.015834	0.0519568

Fuente: Datos calculados

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Figura 20. **Distribución de los resultados experimentales del porcentaje de rendimiento acumulado de extracto tánico, en función de las extracciones realizadas a las especies, adulta y joven, del *Pinus maximinoi***

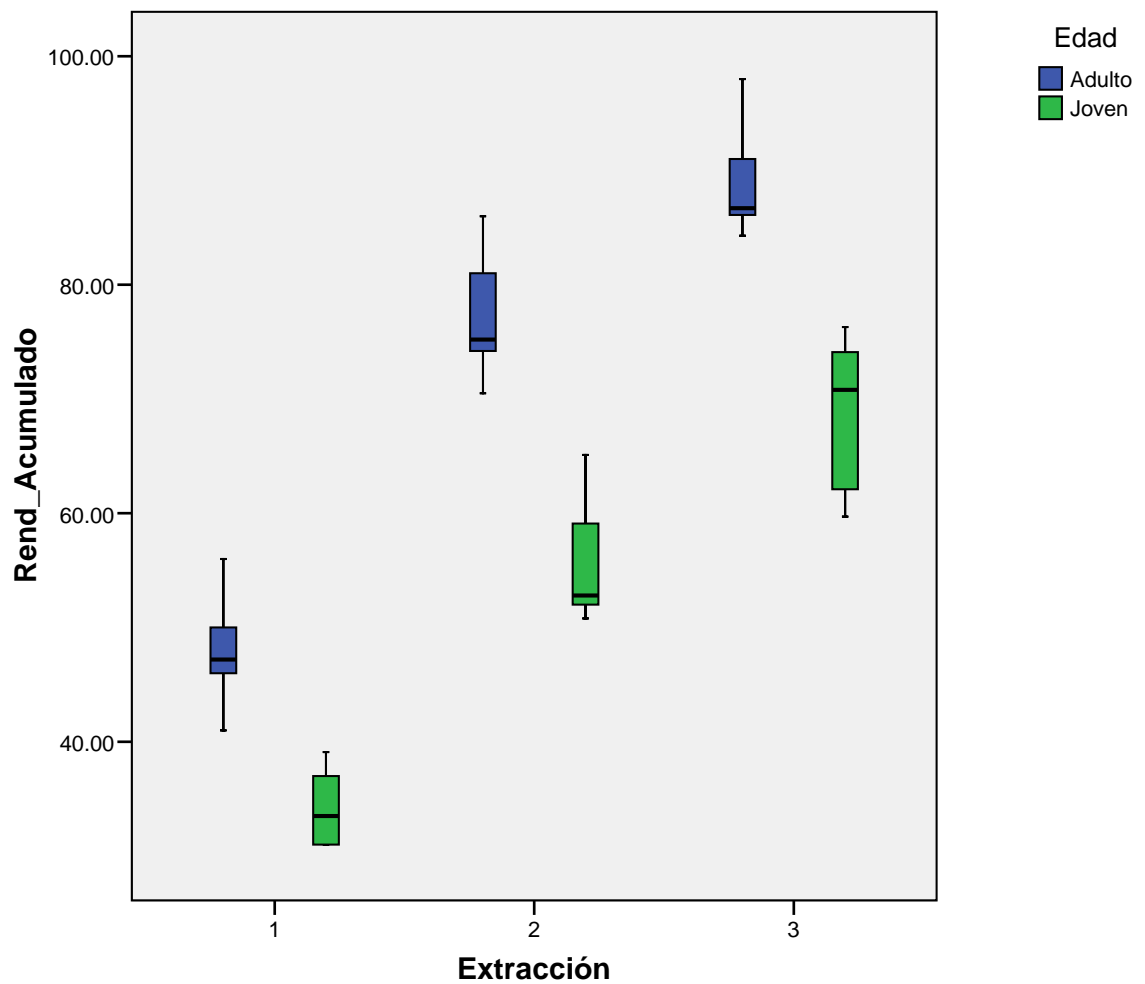


Tabla XV. **Análisis de varianza para el porcentaje de rendimiento acumulado en el extracto tánico**

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Significancia
Edad	2590.981	1	2590.981	77.144	0
Extracción	7410.369	2	3705.184	110.319	0
Edad * Extracción	89.617	2	44.808	1.334	0.282
Error	806.068	24	33.586		
Corregido Total	10897.035	29			

Media	Std. Error	95% Intervalo de confianza	
Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
62.253	1.058	60.070	64.437

Edad	Media	Std. Error	95% Intervalo de confianza	
	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
Adulto	71.547	1.496	68.458	74.635
Joven	52.960	1.496	49.872	56.048

Extracción	Media	Std. Error	95% Intervalo de confianza	
	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
1	41.180	1.833	37.398	44.962
2	66.670	1.833	62.888	70.452
3	78.910	1.833	75.128	82.692

Edad	Extracción	Media	Std. Error	95% Intervalo de confianza	
		Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
Adulto	1	48.040	2.592	42.691	53.389
	2	77.380	2.592	72.031	82.729
	3	89.220	2.592	83.871	94.569
Joven	1	34.320	2.592	28.971	39.669
	2	55.960	2.592	50.611	61.309
	3	68.600	2.592	63.251	73.949

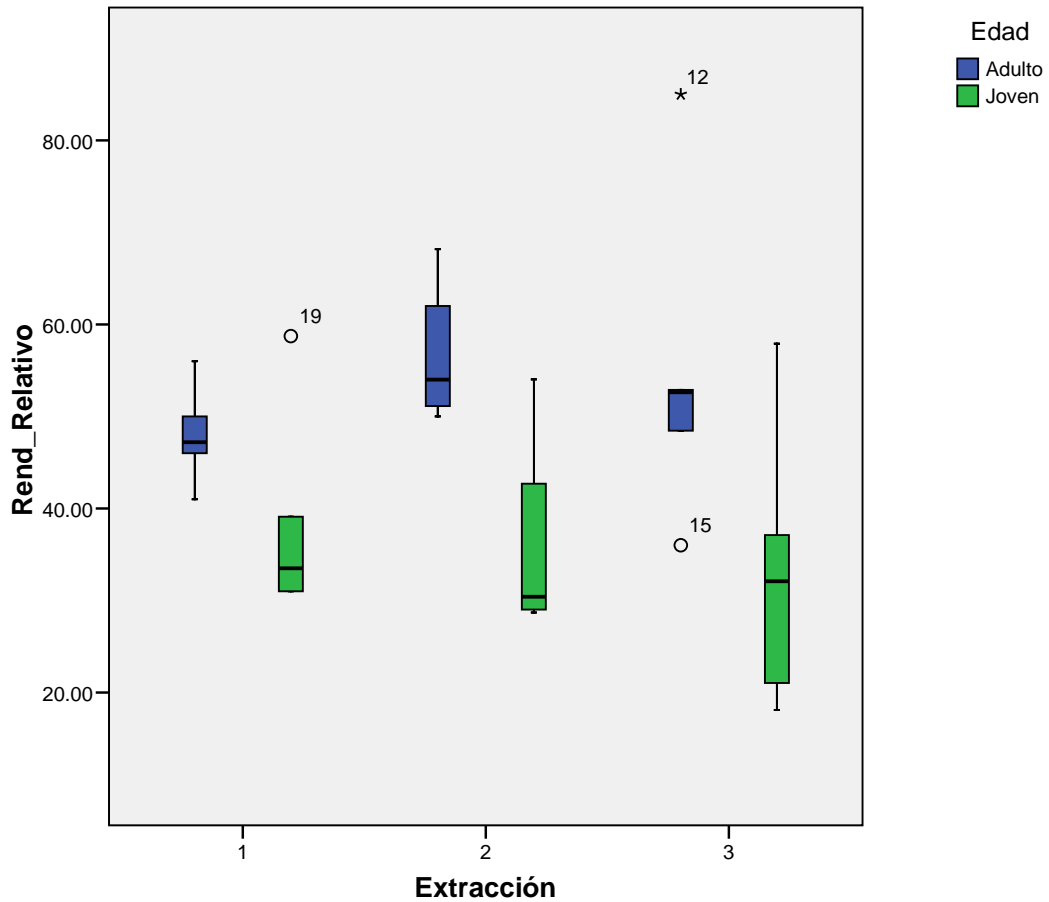
Fuente: Análisis estadístico bifactorial

Tabla XVI. Comparación de Tuckey, según la cantidad de extracciones en el rendimiento acumulado

Extracción	N	Subconjunto		
		1	2	3
1	10	41.1800		
2	10		66.6700	
3	10			78.9100
Significancia		1.000	1.000	1.000

Fuente: Análisis estadístico, prueba de Tuckey

Figura 21. Distribución de los resultados experimentales del porcentaje de rendimiento relativo de extracto tánico, en función de las extracciones realizadas a las especies, adulta y joven, del *Pinus maximinoi*



Fuente: Análisis estadístico

Tabla XVII. Análisis de varianza para el porcentaje de rendimiento relativo en el extracto tánico

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Significancia
Edad	2185.557	1	2185.557	14.074	0.001
Extracción	74.599	2	37.299	0.24	0.788
Edad * Extracción	225.548	2	112.774	0.726	0.494
Error	3726.843	24	155.285		
Corregido Total	6212.548	29			

Media	Std. Error	95% Intervalo de confianza	
Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
44.829	2.275	40.134	49.525

Edad	Media	Std. Error	95% Intervalo de confianza	
	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
Adulto	53.365	3.218	46.724	60.005
Joven	36.294	3.218	29.653	42.935

Extracción	Media	Std. Error	95% Intervalo de confianza	
	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
1	43.353	3.941	35.220	51.486
2	47.015	3.941	38.882	55.148
3	44.120	3.941	35.987	52.253

Edad	Extracción	Media	Std. Error	95% Intervalo de confianza	
		Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
Adulto	1	48.040	5.573	36.538	59.542
	2	57.062	5.573	45.560	68.564
	3	54.992	5.573	43.490	66.494
Joven	1	38.666	5.573	27.164	50.168
	2	36.968	5.573	25.466	48.470
	3	33.248	5.573	21.746	44.750

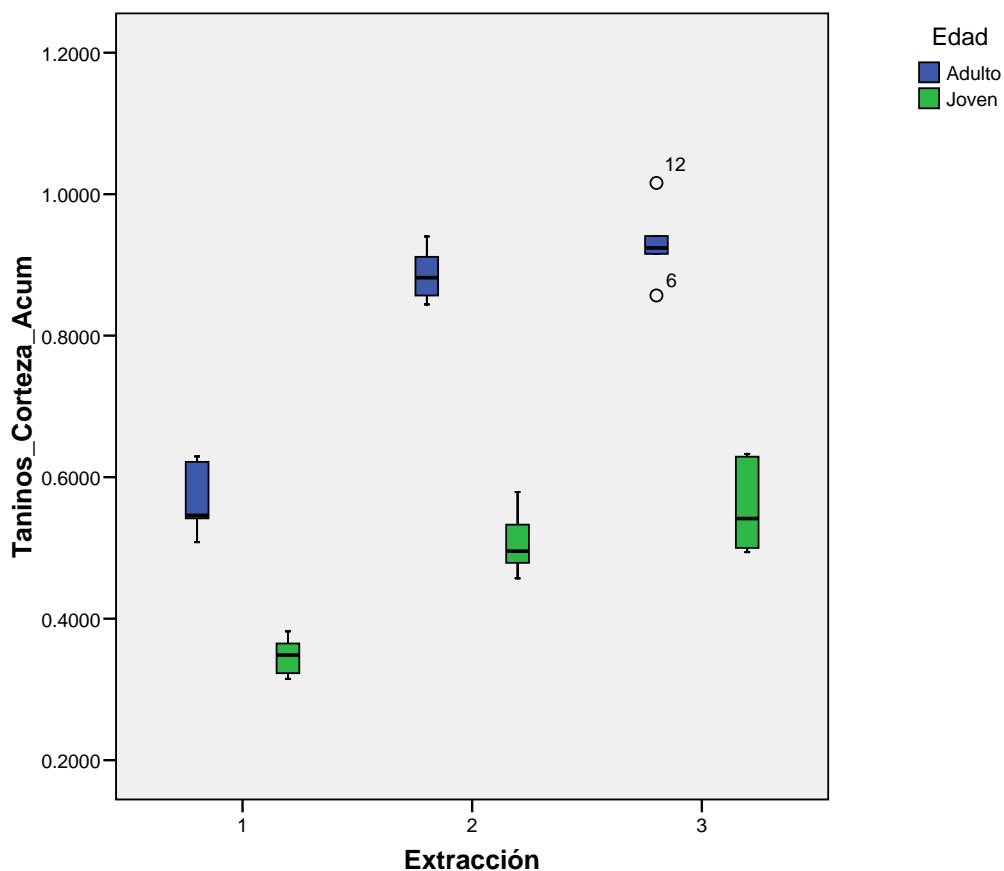
Fuente: Análisis estadístico bifactorial

Tabla XVIII. Comparación de Tuckey, según la cantidad de extracciones de extracto tánico en el rendimiento acumulado

Extracción	N	Subconjunto
	1	1
1	10	43.3530
2	10	44.1200
3	10	47.0150
Significancia		0.790

Fuente: Análisis estadístico, prueba de Tuckey

Figura 22. Distribución de los resultados experimentales del contenido de taninos, en la corteza acumulada, en función de las extracciones realizadas a las especies, adulta y joven, del *Pinus maximinoi*



Fuente: Análisis estadístico

Tabla XIX. Análisis de varianza para el porcentaje de taninos en la corteza acumulada en cada extracción

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Significancia
Edad	0.787	1	0.787	307.492	0
Extracción	0.474	2	0.237	92.495	0
Edad * Extracción	0.039	2	0.019	7.529	0.003
Error	0.061	24	0.003		
Corregido Total	1.361	29			

Media	Std. Error	95% Intervalo de confianza	
Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
0.634	0.009	0.615	0.653

Edad	Media	Std. Error	95% Intervalo de confianza	
	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
Adulto	0.796	0.013	0.769	0.823
Joven	0.472	0.013	0.445	0.499

Extracción	Media	Std. Error	95% Intervalo de confianza	
	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
1	0.458	0.016	0.425	0.491
2	0.698	0.016	0.665	0.731
3	0.745	0.016	0.712	0.778

Edad	Extracción	Media	Std. Error	95% Intervalo de confianza	
		Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
Adulto	1	0.569	0.023	0.523	0.616
	2	0.887	0.023	0.840	0.934
	3	0.931	0.023	0.884	0.977
Joven	1	0.347	0.023	0.300	0.393
	2	0.509	0.023	0.462	0.555
	3	0.560	0.023	0.513	0.606

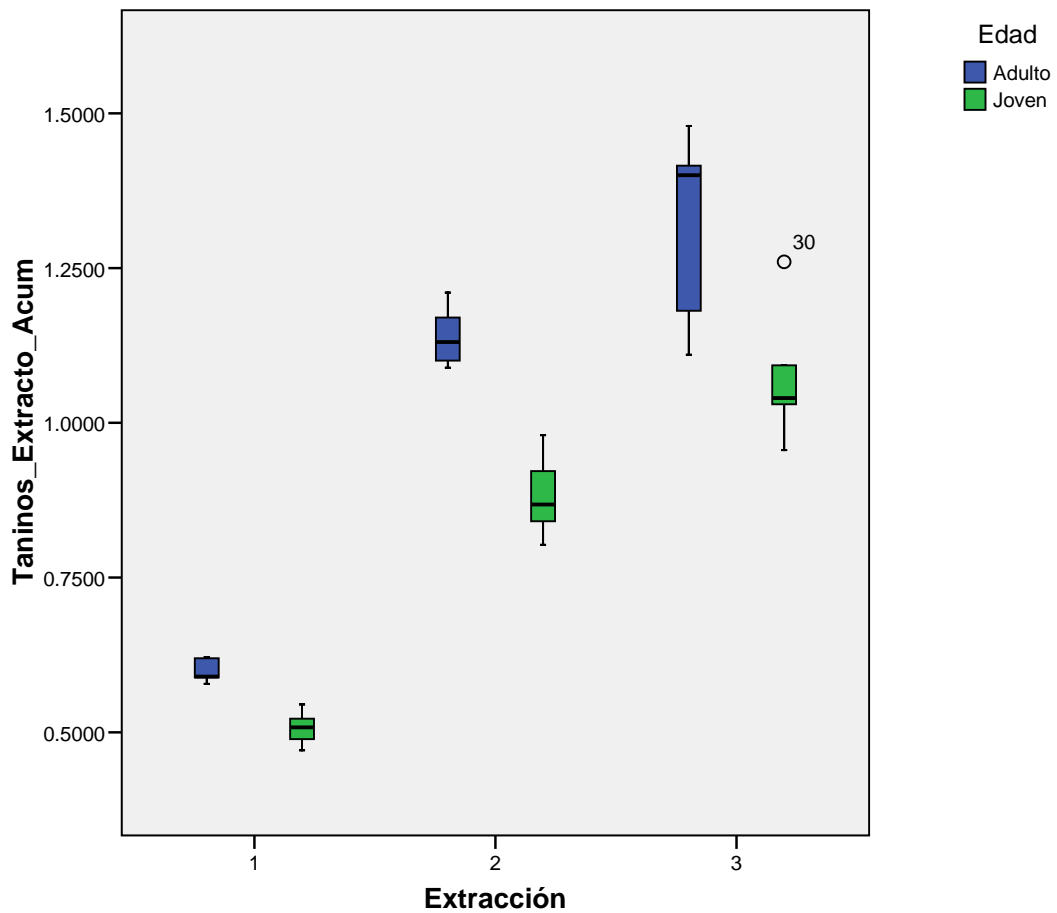
Fuente: Análisis estadístico bifactorial

Tabla XX. Comparación de Tuckey, según la cantidad de taninos en la corteza acumulada de cada extracción

Extracción	N	Subconjunto	
	1	2	1
1	10	0.458060	
2	10		0.697820
3	10		0.745060
Significancia		1.000	0.114

Fuente: Análisis estadístico, prueba de Tuckey

Figura 23. Distribución de los resultados experimentales del contenido de taninos, en la extracción acumulada, en función de las extracciones realizadas a las especies, adulta y joven, del *Pinus maximinoi*



Fuente: Análisis estadístico

Tabla XXI. Análisis de varianza para el porcentaje de taninos en el extracto acumulado en cada extracción

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Significancia
Edad	0.292	1	0.292	36.697	0
Extracción	2.193	2	1.096	138.019	0
Edad * Extracción	0.041	2	0.021	2.596	0.095
Error	0.191	24	0.008		
Corregido Total	2.716	29			

Media	Std. Error	95% Intervalo de confianza	
Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
0.920	0.016	0.887	0.954

Edad	Media	Std. Error	95% Intervalo de confianza	
	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
Adulto	1.019	0.023	0.972	1.067
Joven	0.822	0.023	0.774	0.869

Extracción	Media	Std. Error	95% Intervalo de confianza	
	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
1	0.553	0.028	0.495	0.612
2	1.011	0.028	0.953	1.070
3	1.197	0.028	1.138	1.255

Edad	Extracción	Media	Std. Error	95% Intervalo de confianza	
		Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
Adulto	1	0.600	0.040	0.517	0.682
	2	1.140	0.040	1.058	1.222
	3	1.317	0.040	1.235	1.400
Joven	1	0.507	0.040	0.425	0.589
	2	0.883	0.040	0.801	0.965
	3	1.076	0.040	0.994	1.158

Fuente: Análisis estadístico bifactorial

Tabla XXII. **Comparación de Tuckey según la cantidad de taninos en el extracto acumulado de cada extracción**

Extracción	N	Subconjunto		
	1	2	3	1
1	10	0.553340		
2	10		1.011460	
3	10			1.196520
Significancia		1.000	1.000	1.000

Fuente: Análisis estadístico, prueba de Tuckey

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El presente Trabajo de Graduación tuvo como objetivo determinar el contenido de extracto tánico por medio de la extracción con sulfito de sodio al 2%, entre dos categorías establecidas: corteza de árboles jóvenes y adultos de *Pinus maximinoi*, para establecer en cuál de estas dos clasificaciones se encuentra mayor contenido de taninos. Así como, la identificación de la presencia de taninos por medio de cromatografía líquida de alta presión HPLC.

Las muestras de corteza de *Pinus maximinoi* se obtuvieron de una de las plantaciones ubicadas en la región de Alta Verapaz, del municipio de Cobán, finca Río Frío; para preparar las muestras de una edad establecida para árboles jóvenes de seis a diez años y para árboles adultos de 50 a 60 años de edad; el material obtenido fue limpiado y reducido a trozos para ser sometidos al secador eléctrico a una temperatura aproximadamente de 70 °C. La corteza ya seca fue triturada hasta llegar a un tamaño de partícula, que pasó por un tamiz de 300 micrones (mesh No. 50) y retenidas en uno de 250 micrones (mesh No. 40).

Las muestras trituradas y tamizadas se secaron de nuevo en el secador eléctrico de flujo transversal, donde se procedió a eliminar el contenido de agua de la corteza tamizada hasta obtener humedades de 3% a 6%, para realizar la maceración dinámica del material obtenido.

Por medio de una separación sólido – líquido se le realizaron al extracto tánico maceración dinámica con extracciones sucesivas, acuosas con coadyuvante alcalino para los dos tipos de cortezas referentes, a una

temperatura adecuada de 70 °C, esto para evitar que la estructura del tanino se descomponga.

Al material lixiviado obtenido se le determinó el pH en los diferentes solventes con los que se trabajó, para determinar el rango de pH en el que se encontró el material al ser disuelto en agua desmineralizada, las cuales dieron un resultado de 4.81 para los árboles adultos y 5.01 para los jóvenes; en sulfito de sodio al 2% con resultados de 7.83 y 7.55, respectivamente, observando que en agua la corteza lixiviada se encuentra en rango de pH ácido y en sulfito de sodio hay un cambio de pH de ácido a alcalino, como se observa en la tabla XI. Este cambio de pH da las condiciones adecuadas para realizar la extracción del material por medio de la solución de sulfito de sodio al 2%, para crear una solución alcalina que por medio de hidrólisis permita neutralizar los iones ácidos de los taninos y así permitir la extracción de los mismos.

Para determinar la temperatura óptima para el proceso de lixiviación se estudiaron las propiedades físicas y químicas de las estructuras generales de los taninos, para verificar que la temperatura no fuera a afectar el rendimiento del proceso y para ello se determinó que a una temperatura entre 45 °C y 60 °C el material lixiviado se encuentra con un pH constante, por lo que se estableció que trabajar con una temperatura que no sobrepasara los 70 °C produciría un buen rendimiento, como se observa en la figura XVI y XVIII, donde se muestra el rango de temperatura donde el pH es constante.

Ya establecidas las variables del proceso se procedió a realizar 30 corridas en total, de las dos categorías establecidas de pino; cinco muestras de corteza de árboles adultos, a las cuales se le realizaron tres extracciones sucesivas a cada muestra, al igual que a las otras cinco especies jóvenes de pino *maximinoi*; donde se analizaron los rendimientos de extracto tánico como

se observa en las tablas XV a la XVIII. También se determinó el porcentaje de taninos en cada uno de los extractos, como se observó en las tablas ya citadas, según la sección de resultados.

Para obtener la cuantificación del componente extraído de la corteza (taninos), se realizaron titulaciones colorimétricas con permanganato de potasio e índigo de carmín como indicador de color. Los datos obtenidos de este proceso de cuantificación de la materia prima se utilizaron como herramienta para determinar la eficacia del método de extracción, por medio del análisis estadístico de los datos. Para ello se realizó el análisis de varianza para el rendimiento acumulado y el rendimiento relativo del proceso de extracción de taninos por medio del cual se determinó que categoría de árboles de las dos establecidas tenía mayor rendimiento.

El análisis de varianza indicó que hay diferencia significativa en el rendimiento acumulado de taninos, tanto en entre las dos edades de los árboles como entre las tres extracciones sucesivas que se realizaron.

Respecto a la edad, en la corteza de los árboles jóvenes se encontró significativamente menos rendimiento que en la corteza de los árboles adultos. Mientras que entre las extracciones, el rendimiento acumulado aumenta significativamente de la primera a la segunda extracción y de la segunda a la tercera extracción, como se aprecia en la prueba de Tukey correspondientes a los intervalos de confianza estimados para cada caso.

Con respecto al rendimiento relativo, (este corresponde a la fracción que se logra extraer del residuo que queda en la extracción anterior), también se observa diferencia significativa entre las dos edades de los árboles evaluados ($p=0.001$), en donde nuevamente el rendimiento es mayor en los árboles

adultos que en los jóvenes. Mientras que entre las tres extracciones sucesivas realizadas, el rendimiento obtenido en la extracción de los taninos es el mismo, ($p=0.788$), lo cual significa que la capacidad de extracción de la técnica empleada se mantiene en las tres extracciones sucesivas, independientemente de cuántos taninos hallan en el material sometido al proceso.

Para determinar cual especie tenía el mejor porcentaje de taninos en el extracto tánico, se realizó una comparación de las medias mediante el criterio de Tukey. Como se observa en las tablas IV, VI, VIII, y X, se puede determinar que los árboles adultos del *Pinus maximinoi* es la categoría que mayor porcentaje de taninos posee en el extracto tánico, en comparación con los árboles jóvenes de la misma especie.

En las figuras 20 – 23 se puede observar la distribución de los resultados experimentales del producto entre el porcentaje de rendimiento y el porcentaje de taninos en el extracto tánico en función de la corteza lixiviada de especies jóvenes y adultas del *Pinus maximinoi*, y en las tablas III a la X se observan los resultados del análisis de varianza.

Por medio de la verificación de las variables de proceso se pudo realizar un proceso de lixiviación con altos rendimientos, por lo que se evaluó que tres extracciones sucesivas son las óptimas para obtener la mayor cantidad de material, agotando al máximo la corteza de pino lixiviada, con respecto a los taninos que se desean obtener, tanto en los árboles adultos como en los jóvenes, y se observó que las extracciones sucesivas dan resultados de 31%, en la primera, 19.8% en la segunda y 8.9% en la tercera, teniendo un rendimiento total de 41% para la primera, 29.5% para la segunda, y 15.6% para la tercera, teniendo un rendimiento acumulado de 86.1% en los árboles adultos. Por lo que las extracciones realizadas son independientes de la concentración

del material lixiviado. Por lo que se estableció que tres extracciones sucesivas son suficientes y efectivas para la extracción de taninos, agotando al máximo la corteza lixiviada.

Por medio de separaciones físicas en un sistema de cromatografía líquida de alta presión HPLC, se identificó la presencia de taninos en el extracto tánico obtenido en el proceso de lixiviación. Para ello se prepararon las muestras de cada una de las extracciones sucesivas de las dos categorías de árboles establecidas, para proporcionar las concentraciones adecuadas y ser identificadas en los cromatogramas que se presentan en la sección de anexos.

Se puede observar según los picos obtenidos en cada lectura del equipo, que la especie adulta es la que contiene el mayor contenido de taninos en el extracto tánico, ya que el área por debajo de la curva de los picos del cromatograma es mayor a las áreas de las curvas obtenidas en las especies jóvenes del *Pinus maximinoi*.

Se estableció que por medio de este proceso de separación en el equipo de cromatografía líquida de alta presión, se confirman los resultados obtenidos por medio del análisis estadístico de varianzas, ya que las áreas de las curvas identifican cuál de las dos especies tiene el mayor contenido de taninos en el extracto tánico como se establece en los resultados del análisis estadístico.

Este análisis de separación física determina la calidad y pureza del material extraído en el proceso de lixiviación que vienen determinadas según los estándares establecidos en las farmacopeas, que se tomaron como referencia para realizar el procedimiento de extracción, ya que si el material obtenido no tuviera la calidad y pureza necesarias proporcionadas por el proceso de lixiviación y los métodos de extracciones sucesivas, los

cromatogramas no se podrían identificar según el tiempo de retención, la columna y los solventes extractores que se utilizaron para el proceso de separación por medio del HPLC según la farmacopea USP 25.

Por lo que esta identificación realizada a las muestras establecidas arroja como resultado cualitativo, un buen rendimiento en el proceso de preparación de la muestra, lixiviación del material e identificación para su posterior cuantificación.

CONCLUSIONES

1. El análisis de varianza indicó que existe diferencia significativa en el rendimiento acumulado de taninos en función de las dos edades de los árboles, así como entre las tres extracciones sucesivas que se realizaron.
2. El rendimiento acumulado aumenta significativamente en las extracciones sucesivas entre extracciones, como se aprecia en la prueba de Tukey correspondientes a los intervalos de confianza estimados para cada caso.
3. La especie adulta del pino *maximinoi* es el que tiene el mayor contenido de taninos en la corteza, en función de las extracciones realizadas.
4. La identificación por medio de cromatografía líquida de alta presión HPLC es una prueba confirmatoria de la presencia de taninos en el *Pinus maximinoi*, ya que las áreas del cromatograma expresan contenidos altos de taninos, debido al alto de los picos de las gráficas.

RECOMENDACIONES

1. Realizar análisis preliminares de las condiciones de la extracción, para establecer de manera exacta las variables del proceso y hacer más eficiente los procedimientos para la lixiviación de la corteza.
2. Establecer estándares de calidad que permitan validar el proceso de extracción de taninos a nivel laboratorio.
3. Continuar con estudios para cuantificar los taninos con diferentes métodos de análisis y equipos para establecer cuál es el más eficiente y estandarizarlo, para obtener buenos resultados en el menor tiempo posible.
4. Continuar con los estudios de la especie de *Pinus maximinoi* a diferentes alturas y establecer si hay diferencia significativa de concentración de taninos con esta especificación de procedimiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguilar, José María. **Catálogo ilustrado de los árboles de Guatemala. Primera parte.** Editorial Universitaria. Colección “Mario Dary Rivera”, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala C. A. 1982.
2. Aku Ramírez, Ingrid Liliana. Evaluación del contenido tánico en la corteza de dos especies forestales guatemaltecas, mangle colorado (*Rhizophora mangle*) y pino blanco (*Pinus ayacahuite*), por medio de dos métodos de extracción. Trabajo de graduación. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos. Guatemala: 2000.
3. Álvarez Guadamuz, Constantino. Estudio sobre algunos materiales curtientes de Guatemala. Trabajo de graduación de Ingeniería Química. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería. 1968. 7pp – 42pp.
4. Bluncher. H. **Enciclopedia de Química Industrial.** Versión española de la 18va. edición alemana. Corregido por A. Ernesto y Dr. L. Neumann. Valverde 3º. Madrid, España: Tecnos, S. A. 1958. 1210pp – 1214pp.
5. Domínguez, Jorge Alejandro. **Métodos de investigación fotoquímica.** México: Limusa, 1985.

6. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 25/ NF 20. **The United States Pharmacopeial Convention 12601**. Twwinbrook Parkwwak, Rockville, HD 20852, EE.UU. de América.
7. Gómez Orozco, Edson Daniel. Comparación del porcentaje de extracto tánico de la corteza de la madera de encino (*Quercus tristis Liebm*) proveniente de un bosque natural. Trabajo de graduación de Ingeniería Química. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 2003.
8. Kirk, R. **Enciclopedia de Tecnología Química**. Edición en español. Unión Tipográfica. México: Hispanoamericana .1961. 144pp – 162pp.
9. Montgomery, Douglas. **Diseño y análisis de experimentos**. México: Grupo Editorial Iberoamericana. 1991.
10. Orozco Escobar, Mary Patricia. Determinación de contenido tánico de la corteza de pino de cumbre (*Pinus rudis E.*) y pino triste (*Pinus Pseudostrobus L.*), mediante extracciones alcalinas con sulfito de sodio, a nivel de laboratorio. Trabajo de graduación de Ingeniería Química. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 2003.
11. Saravia Molina, José Mario y otros. Extracción y caracterización de taninos en corteza de tres especies forestales cultivadas en Guatemala, pino ocote (*Pinos oocarpa Schiede*), encino negro (*Quercus brachystachys Benth*) y aliso común (*Alnus jorulensis HBK*). Una alternativa de desarrollo agroindustrial para el uso de taninos naturales. Proyecto DIGI-CII-FAUSAC. 6-27, 2002.

12. Suchini Lieytan, Manuel. Evaluación de los rendimientos de extracción del contenido de taninos (ácido Pinutánico) de la corteza de *Pinus caribae* a nivel laboratorio. Trabajo de graduación de Ingeniería Química. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería.
13. Treybal, Robert E. **Operaciones de transferencia de masa**. 2^a. ed. Traducido por Amelia García Rodríguez. México: McGraw-Hill/Interamericana. 1988. 792pp – 841pp.

BIBLIOGRAFÍA

1. Akú Ramírez, Ingrid Liliana. Evaluación del contenido tánico en la corteza de dos especies forestales guatemaltecas, mangle colorado (*Rhizophora mangle*) y pino blanco (*Pinus ayacahuite*), por medio de dos métodos de extracción. Trabajo de graduación. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos. Guatemala: 2000.
2. **Diccionario Botánica**. Hhttp://www.diccionariobotanica-TDV.NET.htm. Enero 2004.
3. Guerrero Marina, Jaime Guillermo. Polifenoles curtientes en corteza de tres especies forestales peruanas. Trabajo de graduación de Magister en Ciencias Forestales Santiago de Chile, área de Química de la Madera, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Escuela de Postgrado, 1997.
4. Instituto Nacional de Bosques –INAB- **Programa de incentivos Forestales –PINFOR-**. Listado de Proyectos con la especie *Pinus Maximinoi H.E. Moore*. Guatemala 2001
5. Orozco Escobar, Mary Patricia. Determinación de contenido tánico de la corteza de pino de cumbre (*Pinus rudis E.*) y pino triste (*Pinus Pseudostrobus L.*), mediante extracciones alcalinas con sulfito de sodio, a nivel de laboratorio. Trabajo de graduación de Ingeniería Química. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 2003.

6. Saravia Molina, José Mario y otros. Extracción y caracterización de taninos en corteza de tres especies forestales cultivadas en Guatemala, pino ocote (*Pinus oocarpa* Schiede), encino negro (*Quercus brachystachys* Benth) y aliso común (*Alnus jorulensis* HBK). Una alternativa de desarrollo agroindustrial para el uso de taninos naturales. Proyecto DIGI-CII-FAUSAC. 2002.
7. Suchini Lieytan, Manuel. Evaluación de los rendimientos de extracción del contenido de taninos (ácido Pinutánico) de la corteza de *Pinus caribae* a nivel laboratorio. Trabajo de graduación de Ingeniería Química. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería.
8. **Cueronet**, www.cueronet.com. Fecha de consulta: 2007 – 05 – 22.
9. **Taninos**. <http://www.tubilladellago.com/taninos.html>. Mayo 2007.
10. **Taninos**. <http://www.taninos.tripod.com>. Mayo 2007.

APÉNDICE

Figura 24. Diagrama de procedimiento para la elaboración de trabajo de graduación de Evaluación de Contenido de Taninos presentes en la corteza de pino Palo Blanco (*Pinus maximino*), en función de dos etapas de crecimiento

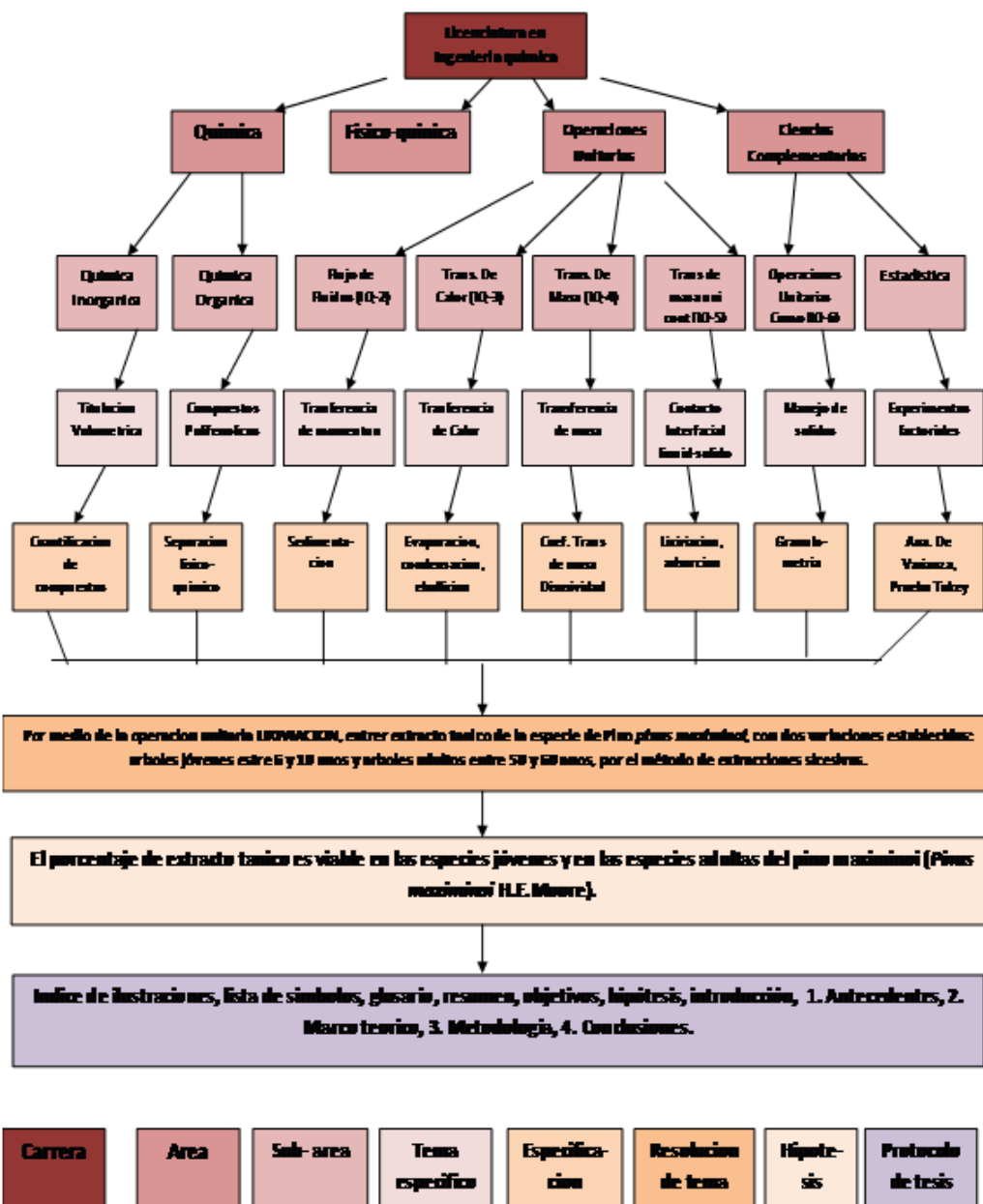
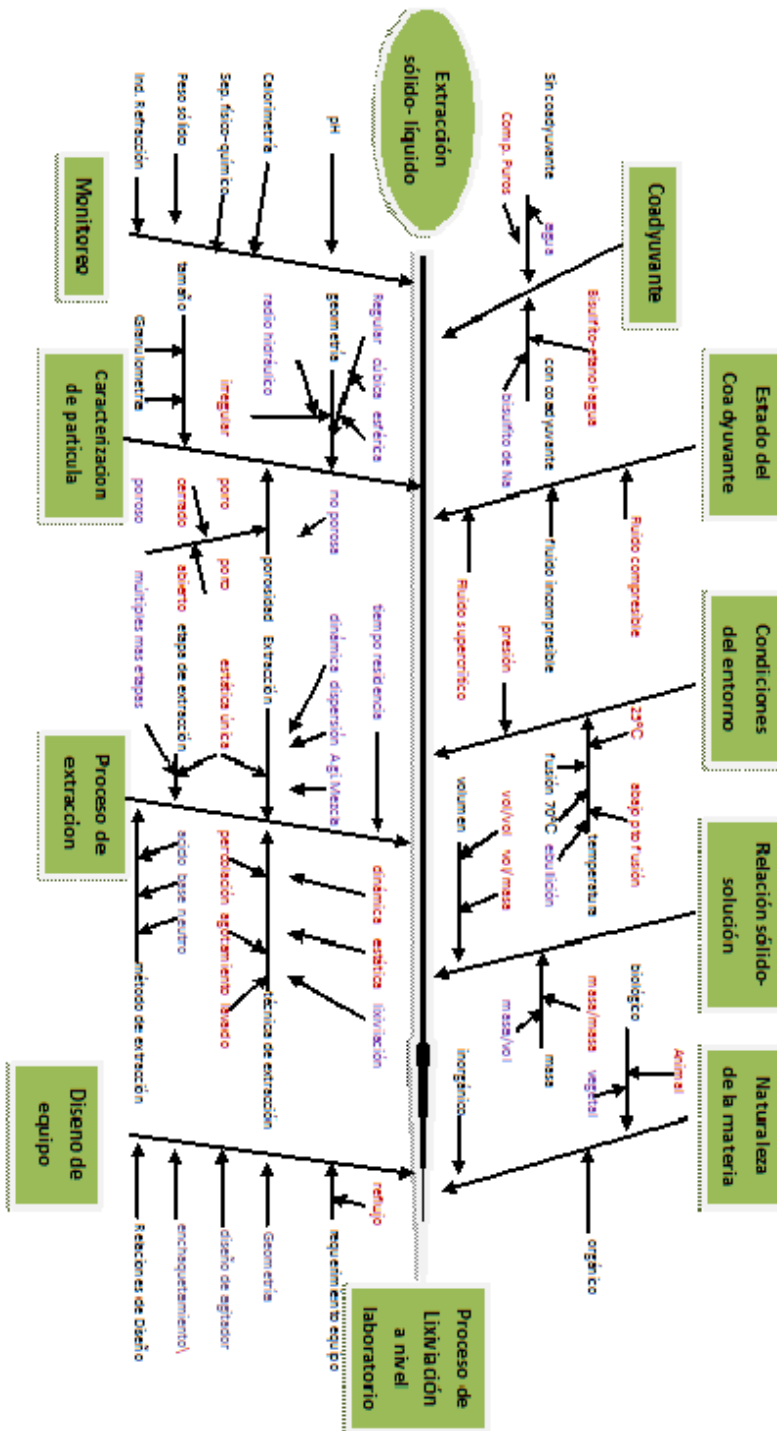


Figura 25. Diagrama de causa y efecto para determinar las variables en el proceso de lixiviación



Fuente: Metodología experimental

APÉNDICE A

Datos calculados

Tabla XXIII. Porcentaje de humedad de la corteza joven de *Pinus maximinoi*, previo a la maceración dinámica

Árbol	Muestra	% Humedad
J ₁	1ª. extracción	4.85
	2ª. extracción	5.12
	3ª. extracción	4.21
J ₂	1ª. extracción	4.75
	2ª. extracción	4.89
	3ª. extracción	3.98
J ₃	1ª. extracción	4.53
	2ª. extracción	5.01
	3ª. extracción	3.88
J ₄	1ª. extracción	4.66
	2ª. extracción	4.95
	3ª. extracción	4.93
J ₅	1ª. extracción	5.45
	2ª. extracción	5.31
	3ª. extracción	4.38
Promedio		4.72667
Desviación estándar		0.45800
Desviación media		2.936733

Fuente: Procedimiento experimental

Tabla XXIV. **Porcentaje de humedad de la corteza adulta de *Pinus maximinoi*, previo a la maceración dinámica**

Árbol	Muestra	% Humedad
A ₁	1ª. extracción	5.90
	2ª. extracción	5.45
	3ª. extracción	4.90
A ₂	1ª. extracción	5.75
	2ª. extracción	5.13
	3ª. extracción	5.21
A ₃	1ª. extracción	4.88
	2ª. extracción	5.32
	3ª. extracción	4.33
A ₄	1ª. extracción	4.57
	2ª. extracción	5.63
	3ª. extracción	4.88
A ₅	1ª. extracción	5.74
	2ª. extracción	5.29
	3ª. extracción	4.73
Promedio		5.180667
Desviación estándar		0.464673
Desviación media		3.022893

Fuente: Procedimiento experimental

Tabla XXV. **Determinación del porcentaje de taninos en la corteza del árbol adulto y en el extracto tánico del *Pinus maximinoi***

Árbol	Extracción	Volumen KMnO ₄ (ml)	% Taninos en la corteza	Extracto tánico seco	% Taninos en extracto tánico
A ₁	1	17.2	1.36	3.38	0.80
	2	13.15	0.96	2.71	0.71
	3	5.2	0.13	1.55	0.16
A ₂	1	16.8	1.34	3.43	0.78
	2	10.2	0.65	2.1	0.62
	3	6	0.19	1.63	0.23
A ₃	1	15	1.15	3.21	0.72
	2	9.6	0.59	1.9	0.62
	3	5	0.09	0.95	0.20
A ₄	1	17.85	1.44	3.21	0.90
	2	15	1.05	2.31	1
	3	7.1	0.3	1.08	0.55
A ₅	1	17.8	1.42	3.1	0.91
	2	13.75	0.99	2.13	0.93
	3	6.3	0.24	1.02	0.47
Promedio		11.73	0.79333	2.24733	0.64
Desviación estándar		4.898789	0.50713	0.88864	0.272633
Desviación media		335.974	3.60053	11.05569	1.0406

Fuente: Aplicación de las ecuaciones 11 y 12 de la muestra de cálculo

Tabla XXVI. Determinación del porcentaje de taninos en la corteza del árbol joven y en el extracto tánico del *Pinus maximinoi*

Árbol	Extracción	Volumen KMnO ₄ (ml)	% Taninos en la corteza	Extracto tánico seco	% Taninos en extracto tánico
J ₁	1	16.1	1.27	3.05	0.83
	2	12.3	0.86	2.35	0.73
	3	8.2	0.44	1.4	0.63
J ₂	1	16.6	1.29	2.9	0.89
	2	11.2	0.71	2.1	0.68
	3	7.9	0.37	1.3	0.57
J ₃	1	15.7	1.21	2.65	0.91
	2	11.6	0.77	1.92	0.8
	3	7.1	0.31	1.08	0.58
J ₄	1	15.8	1.21	2.81	0.85
	2	10.9	0.69	1.69	0.82
	3	7	0.28	1.12	0.5
J ₅	1	16.8	1.32	3.11	0.85
	2	11.3	0.77	2.02	0.76
	3	6.9	0.28	1.07	0.53
Promedio		11.69333	0.7853333	2.038	0.7286666
Desviación estándar		3.747278	0.3950925	0.7451098	0.1373663
Desviación media		196.5893	2.1853733	7.77264	0.2641733

Fuente: Aplicación de las ecuaciones 11 y 12 de la muestra de cálculo

APÉNDICE B

Muestra de cálculo

- Procedimiento de cálculo para determinar el (%) de Rendimiento en la obtención de extracto tánico seguido de la separación sólido – líquido.

Ecuación 9

$$\% \text{ Rendimiento} = \left[\frac{\text{gr obtenidos de extracto tanico seco}}{4 \text{ gr de corteza de pino}} \right] \times 100$$

- Sustituyendo datos en Ec. 9:

$$\% \text{ Rendimiento} = \left(\frac{3.05 \text{ gr}}{4 \text{ gr}} \right) * 100 = 76.25\%$$

- Cálculo del (%) de taninos en la corteza de *Pinus maximinoi*

Ecuación 10

$$\% \text{ taninos en la corteza} = \left[(\text{mL KMnO}_4 - \text{mL blanco}) * 4.2 / 4000 \right] * 100$$

Donde:

mL KMnO₄ = mililitros de permanganato de potasio consumidos en la titulación

mL blanco = mililitros de blanco consumidos en la titulación

4000 = miligramos de corteza que se lixiviaron

➤ Sustituyendo datos en Ec. 10:

$$\% \text{ Taninos en la corteza} = \left(\frac{(16.1 - 4.0)(4.2)}{4000} \right) * 100$$

$$\% \text{ Taninos en la corteza} = 1.27\%$$

- Cálculo de (%) de taninos presentes en el extracto tánico

Ecuación 11

$$\% \text{ Tanino en extracto} = \left[\frac{[(\text{mL KMnO}_4 - \text{mL blanco}) * 4.2]}{\text{gr ext tánico} * 1000} \right] * 100/2$$

Donde:

mL KMnO₄ = mililitros de permanganato de potasio consumidos en la titulación

mL blanco = mililitros de blanco consumidos durante la titulación

1000 = miligramos de extracto tánico

➤ Sustituyendo datos en Ec. 11:

$$\% \text{ Tanino en extracto} = \frac{\left[\frac{(16.1 - 4) * 4.2}{(3.05)(1000)} \right] * 100}{2}$$

$$\% \text{ Tanino en extracto} = 0.833\%$$

APÉNDICE C

Gráficas de HPLC para la identificación de taninos

Tabla XXVII. **Identificación de presencia de taninos en las extracciones sucesivas de los árboles adultos de la especie de Pino (*Pinus maximinoi*), por medio de cromatografía líquida de alta presión HPLC**

Árbol	Extracción	Tiempo de retención (min)	Número de inyección	Área	Resultado
A ₁	1	3	1	335383	CUMPLE
	2	3	2	345383	CUMPLE
	3	3	3	325783	CUMPLE
A ₂	1	3	4	365183	CUMPLE
	2	3	5	345983	CUMPLE
	3	3	6	325783	CUMPLE
A ₃	1	3	7	370551	CUMPLE
	2	3	8	371731	CUMPLE
	3	3	9	335781	CUMPLE
A ₄	1	3	10	383751	CUMPLE
	2	3	11	357381	CUMPLE
	3	3	12	353781	CUMPLE
A ₅	1	3	13	325781	CUMPLE
	2	3	14	315781	CUMPLE
	3	3	15	363751	CUMPLE

Fuente: Referencia bibliográfica, núm. 13

Tabla XXVIII. Identificación de presencia de taninos en las extracciones sucesivas de los árboles jóvenes de la especie de Pino (*Pinus maximinoi*), por medio de cromatografía líquida de alta presión HPLC

Árbol	Extracción	Tiempo de retención (min)	Número de inyección	Área	Resultado
J ₁	1	3	16	335383	CUMPLE
	2	3	17	370551	CUMPLE
	3	3	18	345383	CUMPLE
J ₂	1	3	19	345983	CUMPLE
	2	3	20	365183	CUMPLE
	3	3	21	325783	CUMPLE
J ₃	1	3	22	325783	CUMPLE
	2	3	23	370551	CUMPLE
	3	3	24	370551	CUMPLE
J ₄	1	3	25	325781	CUMPLE
	2	3	26	363751	CUMPLE
	3	3	27	370551	CUMPLE
J ₅	1	3	28	365183	CUMPLE
	2	3	29	371731	CUMPLE
	3	3	30	335781	CUMPLE

Fuente: Referencia bibliográfica, núm. 13

Figura 26. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A1, de la especie de *Pinus maximinoi* en la primera extracción sucesiva

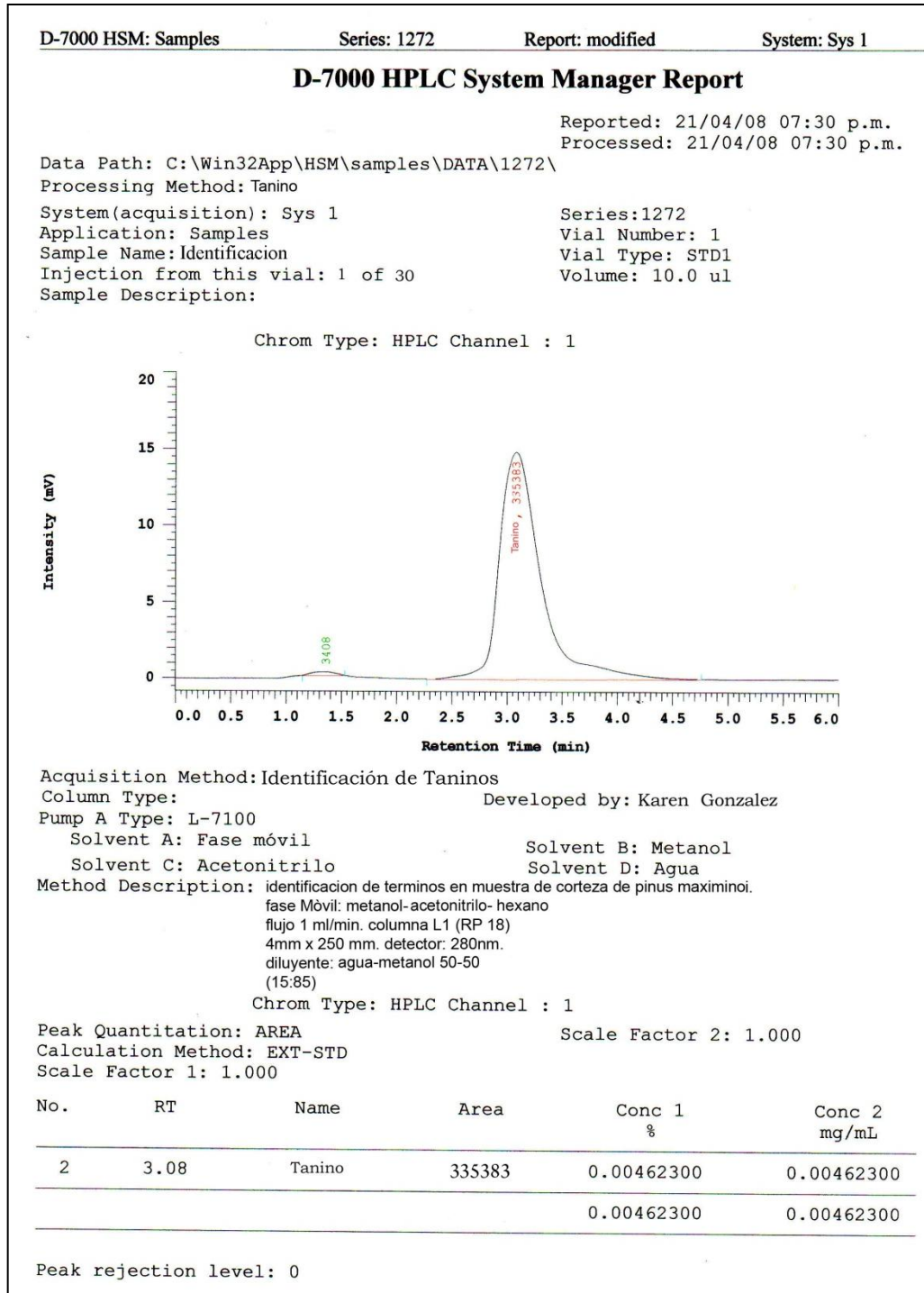


Figura 27. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A1, de la especie de *Pinus maximinoi* en la segunda extracción sucesiva

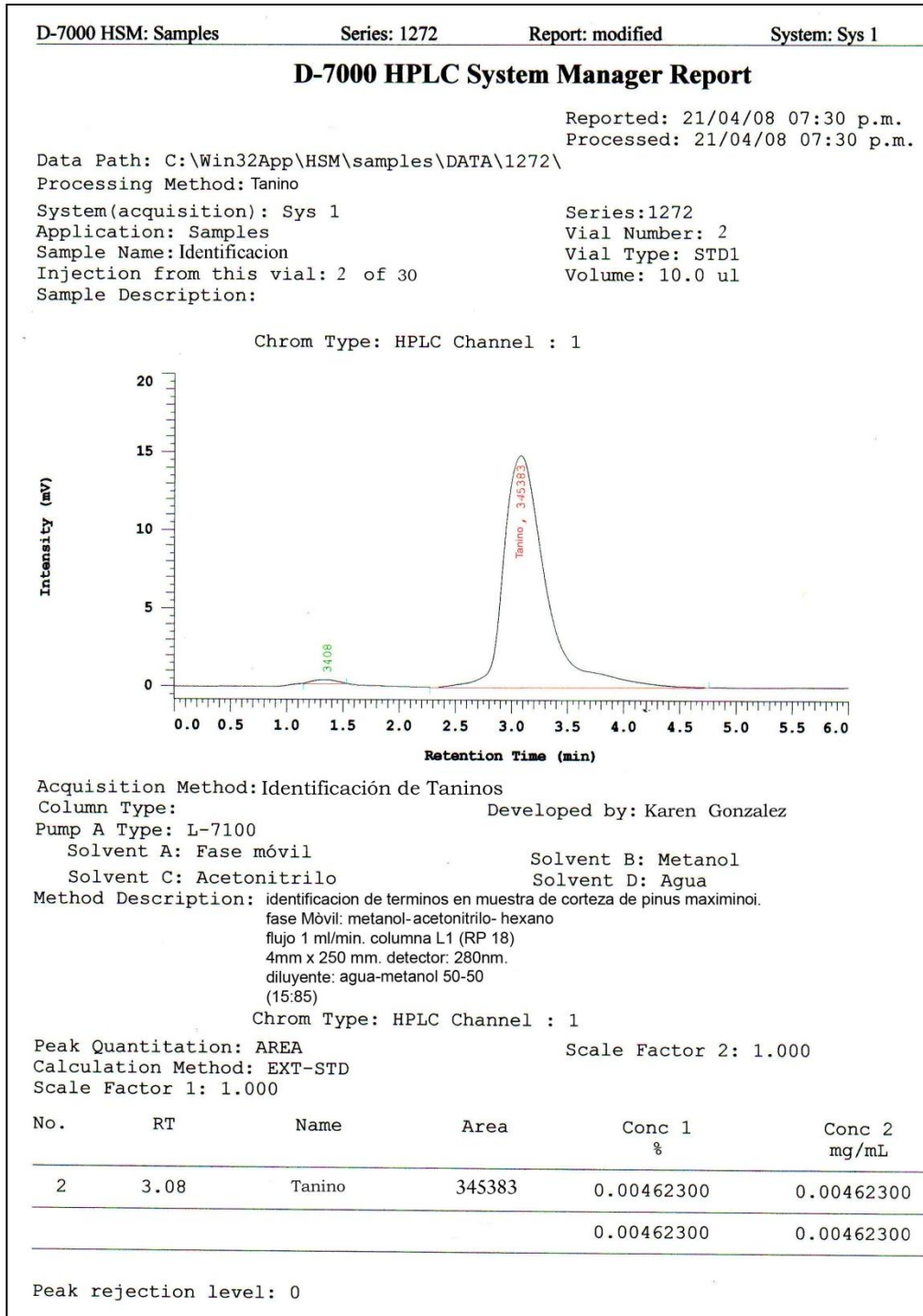


Figura 28. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A1, de la especie de *Pinus maximinoi* en la tercera extracción sucesiva

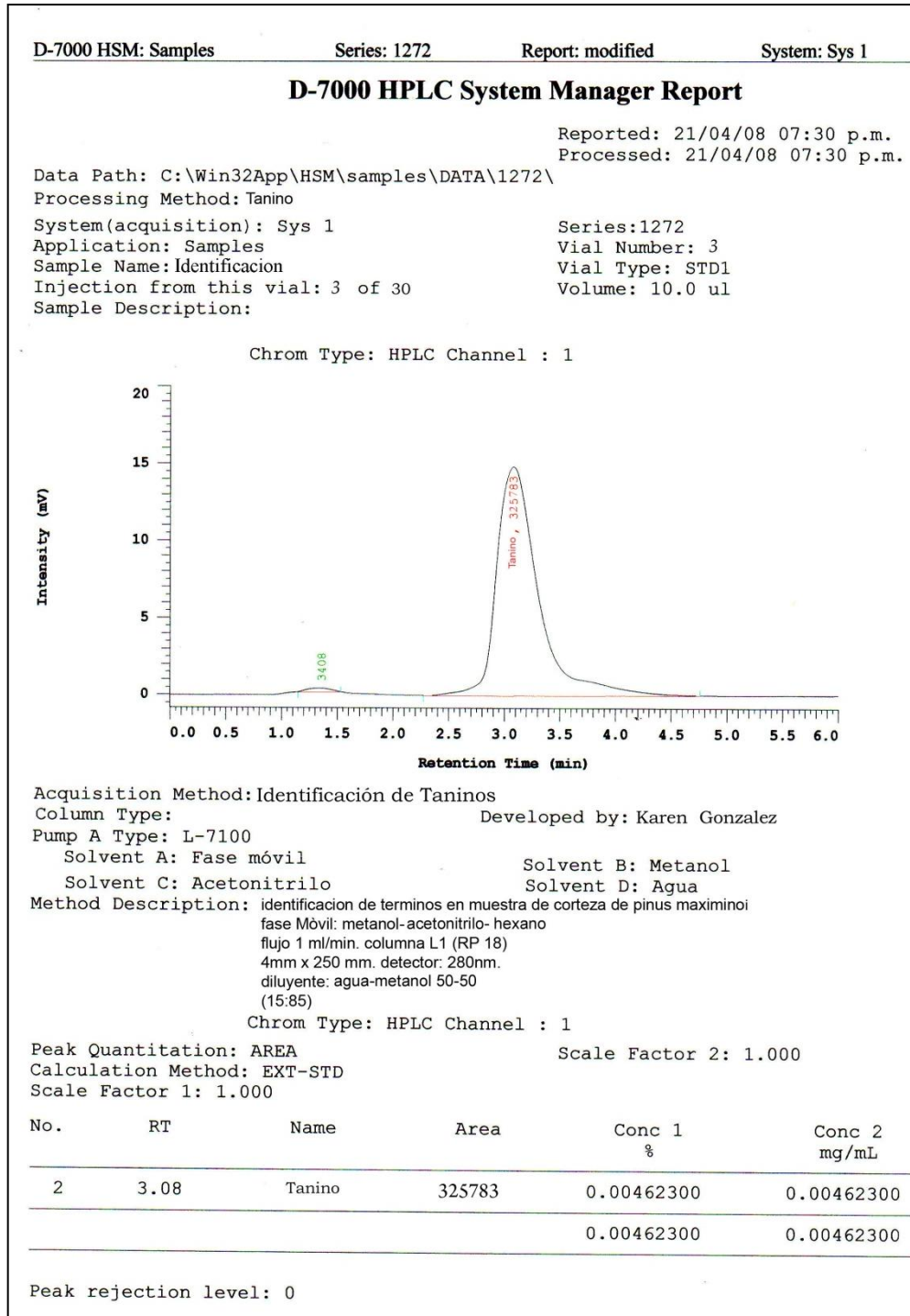


Figura 29. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A2, de la especie de *Pinus maximinoi* en la primera extracción sucesiva

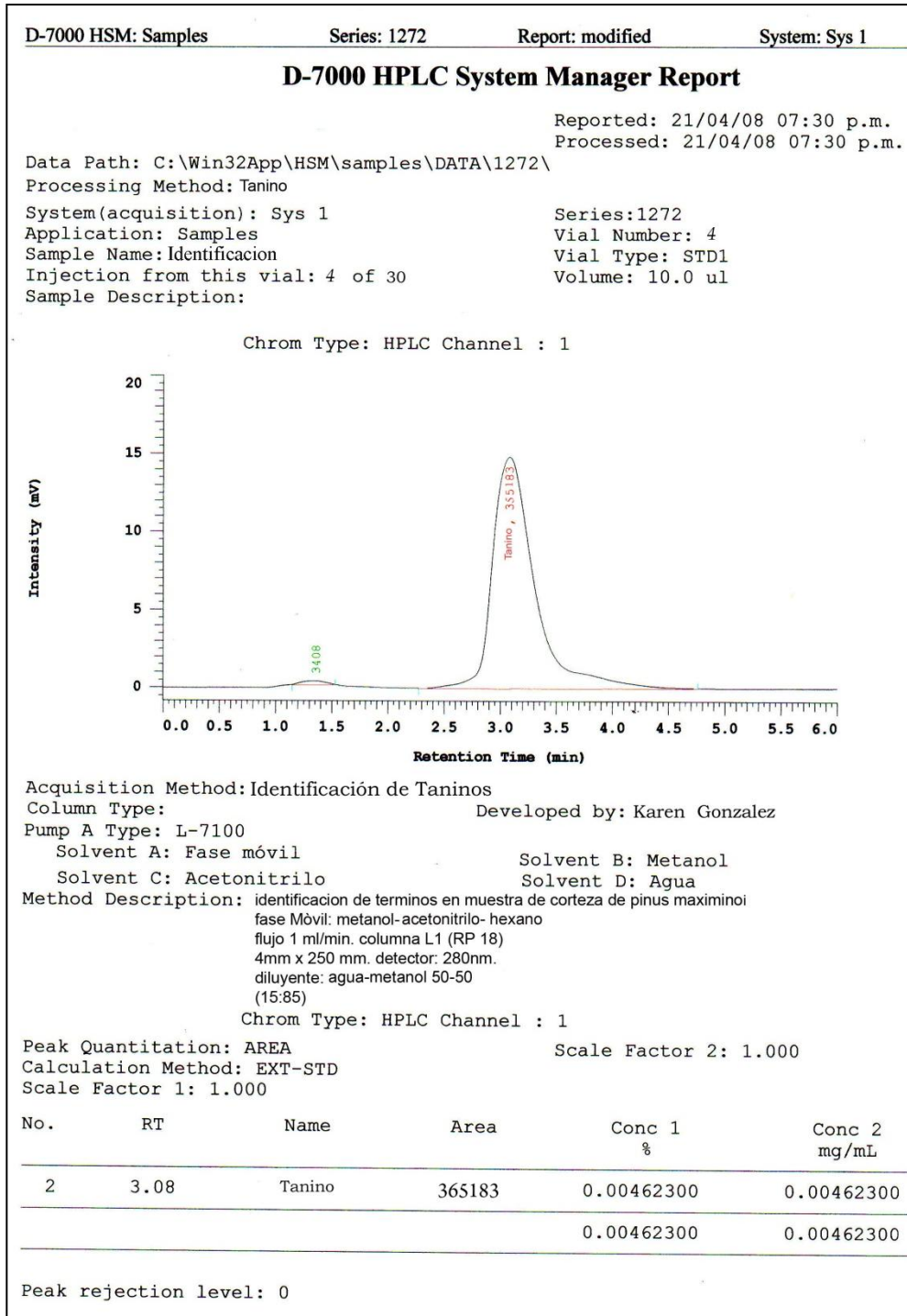


Figura 30. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A2, de la especie de *Pinus maximinoi* en la segunda extracción sucesiva

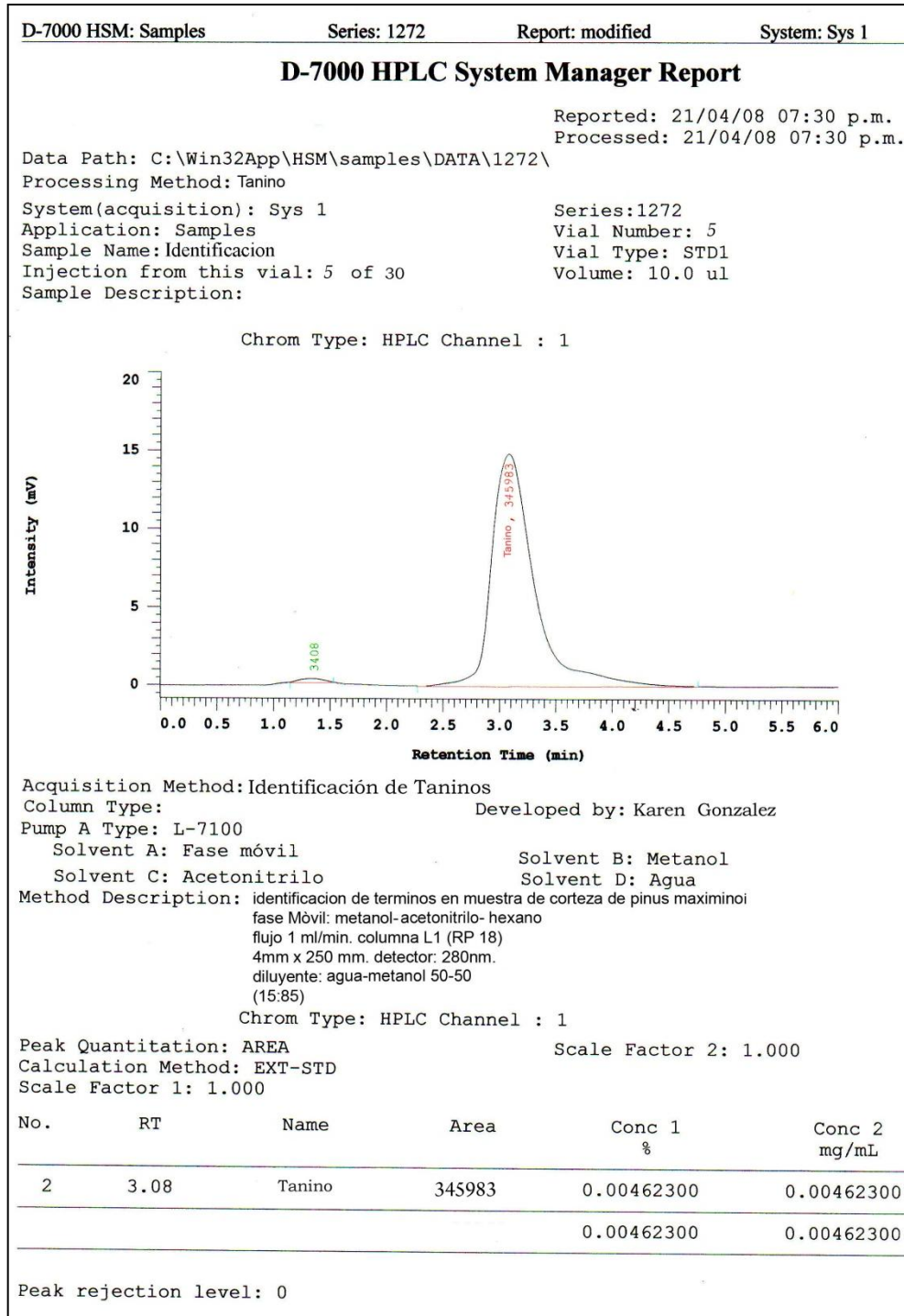


Figura 31. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A2, de la especie de *Pinus maximinoi* en la tercera extracción sucesiva

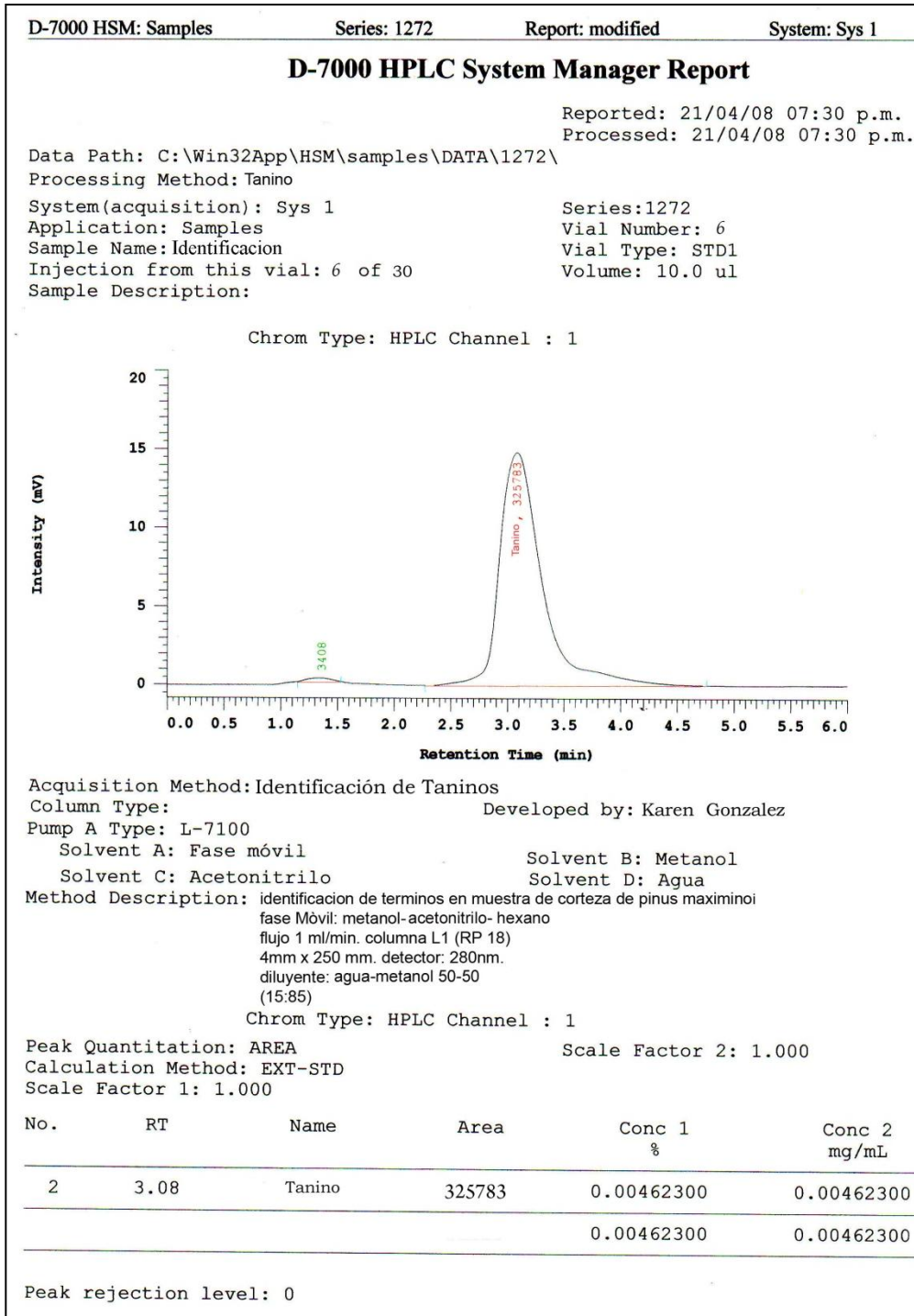


Figura 32. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A3, de la especie de *Pinus maximinoi* en la primera extracción sucesiva

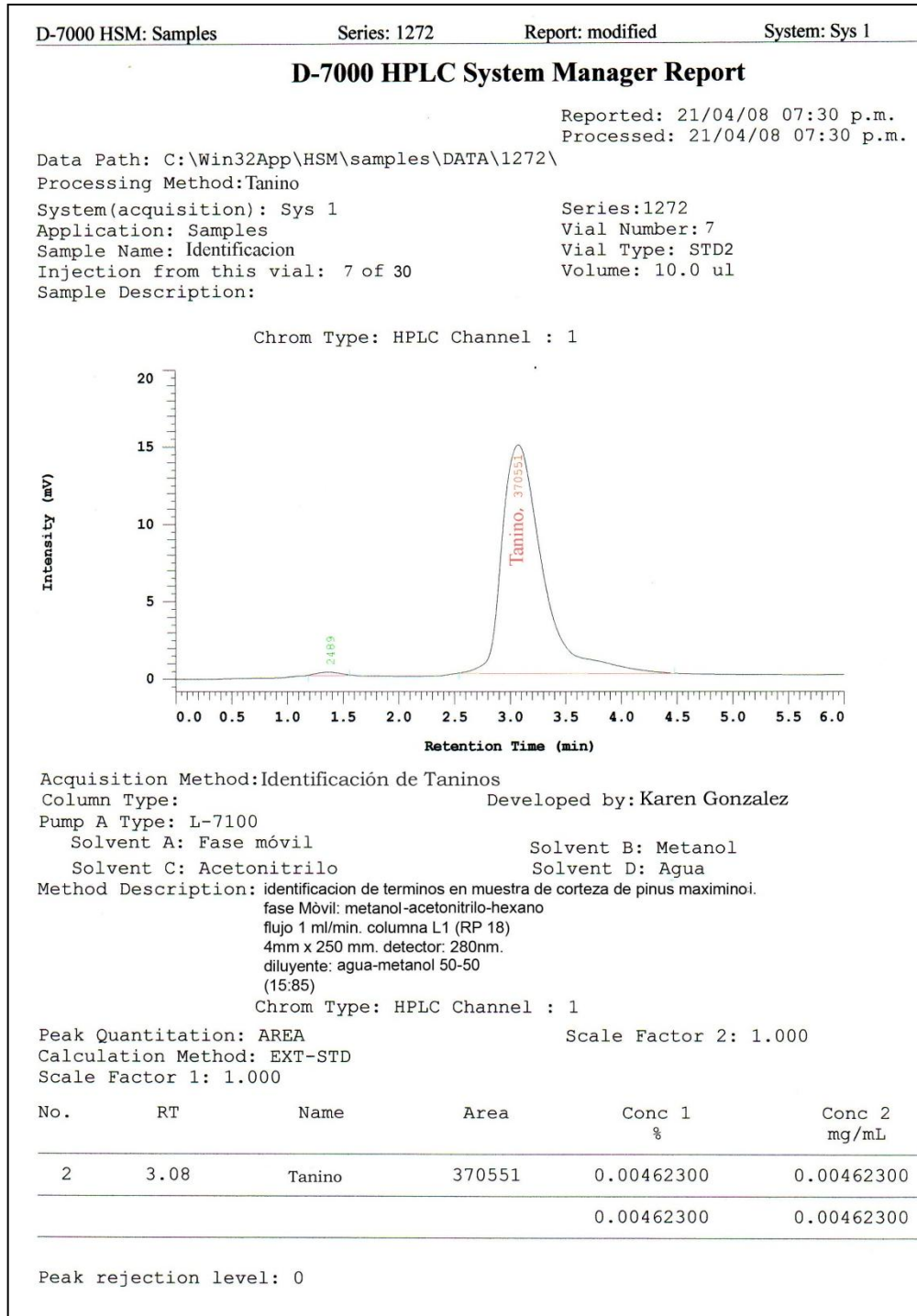


Figura 33. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A3, de la especie de *Pinus maximinoi* en la segunda extracción sucesiva

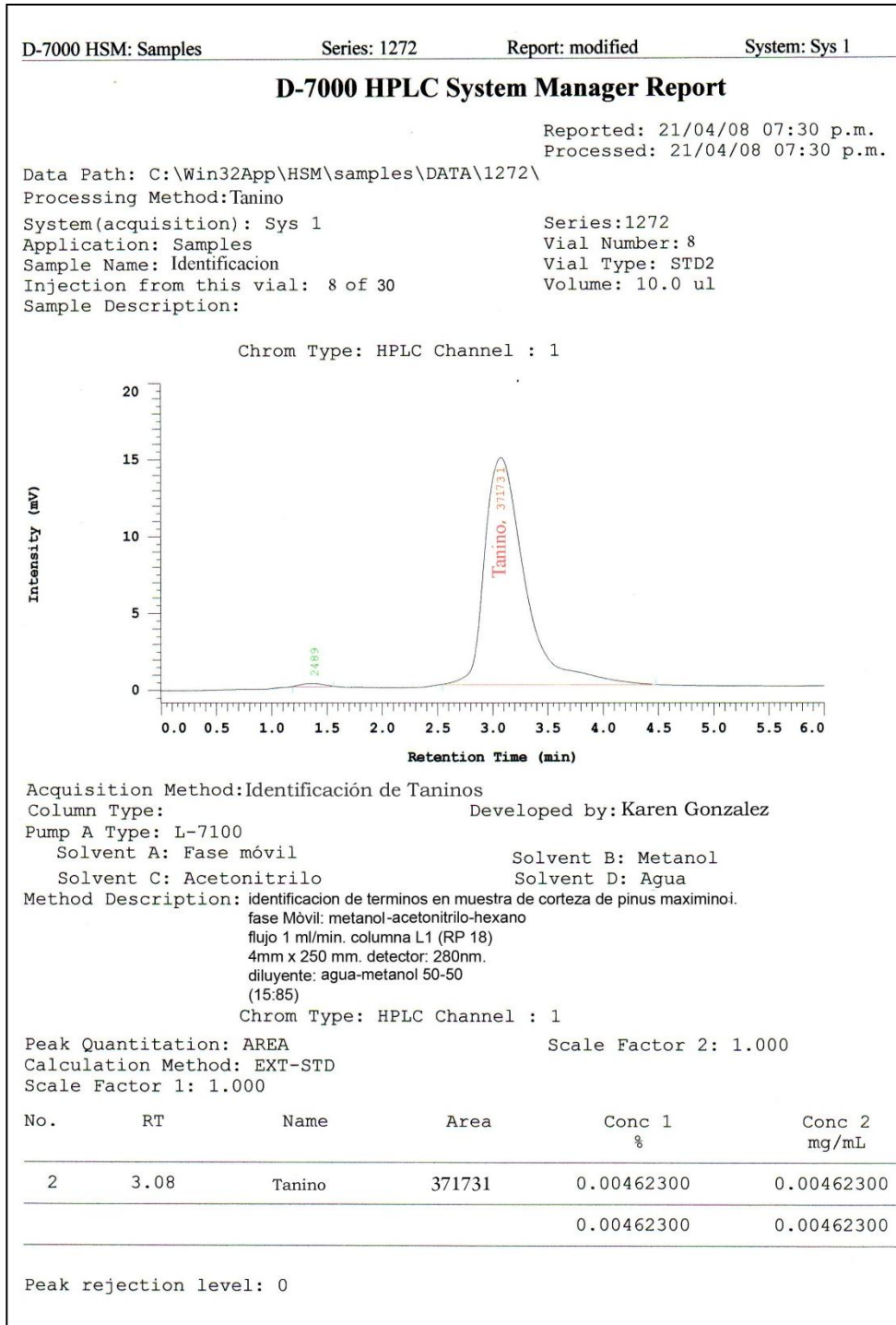


Figura 34. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A3, de la especie de *Pinus maximinoi* en la tercera extracción sucesiva

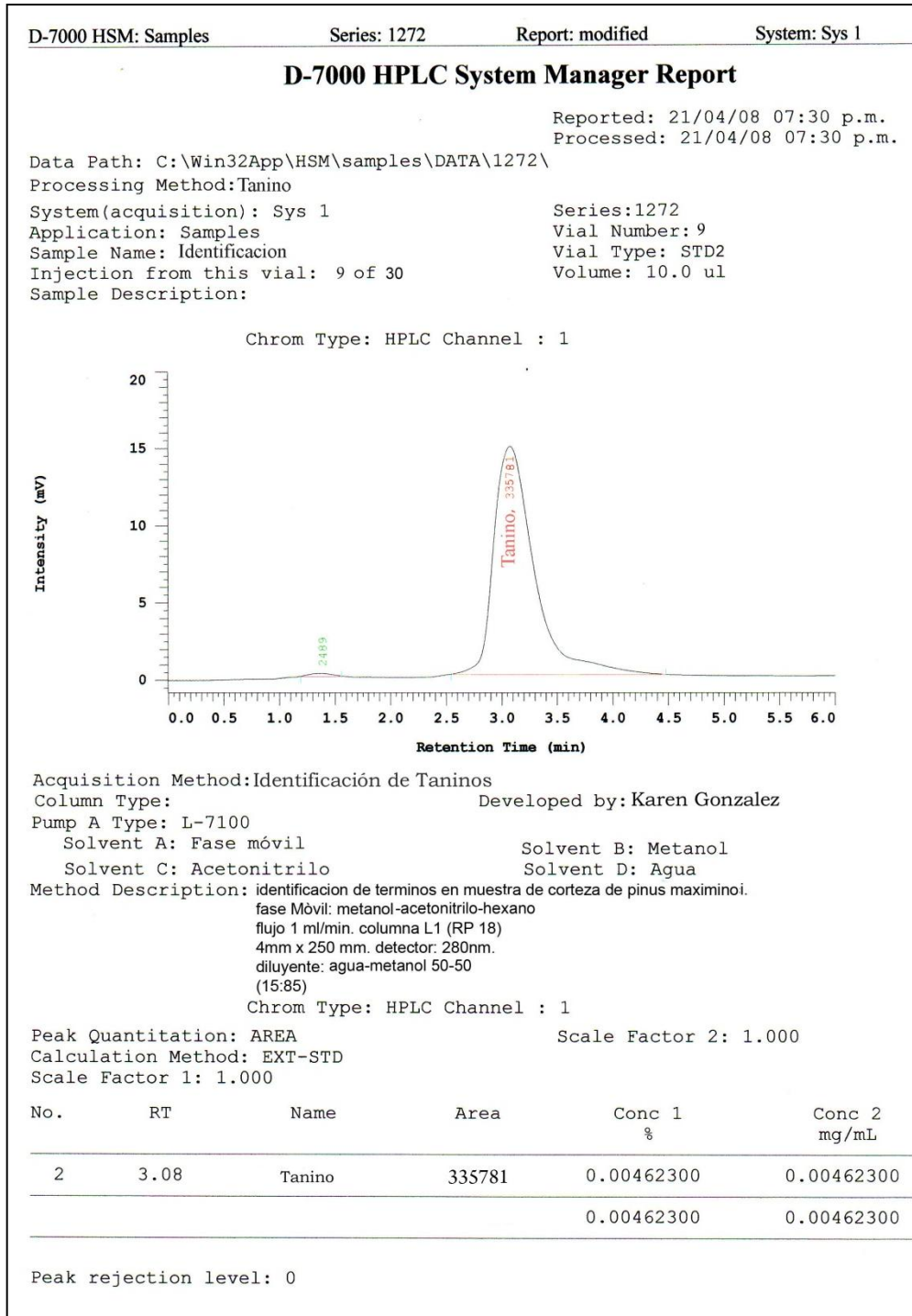


Figura 35. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A4, de la especie de *Pinus maximinoi* en la primera extracción sucesiva

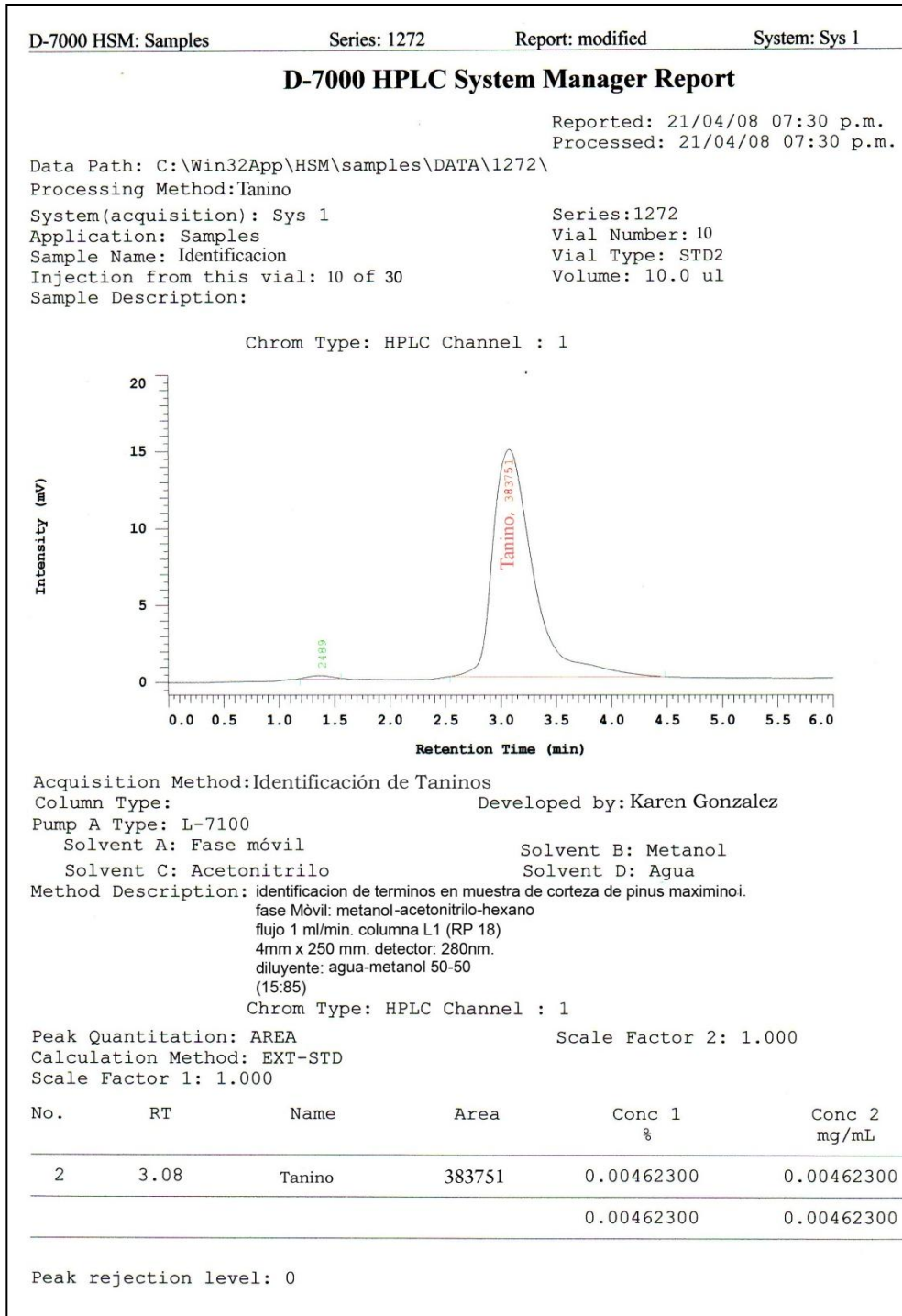


Figura 36. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A4, de la especie de *Pinus maximinoi* en la segunda extracción sucesiva

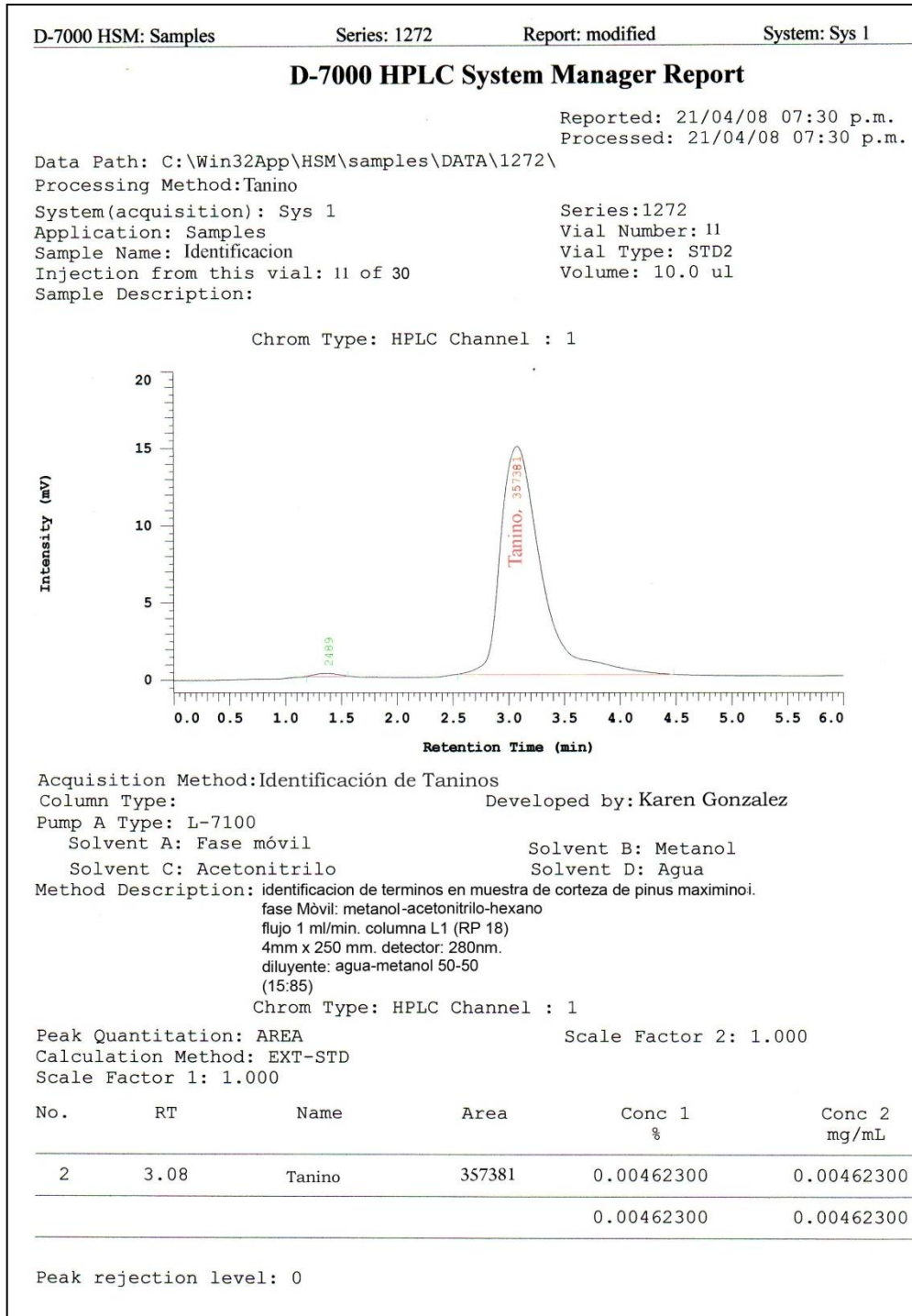


Figura 37. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A4, de la especie de *Pinus maximinoi* en la tercera extracción sucesiva

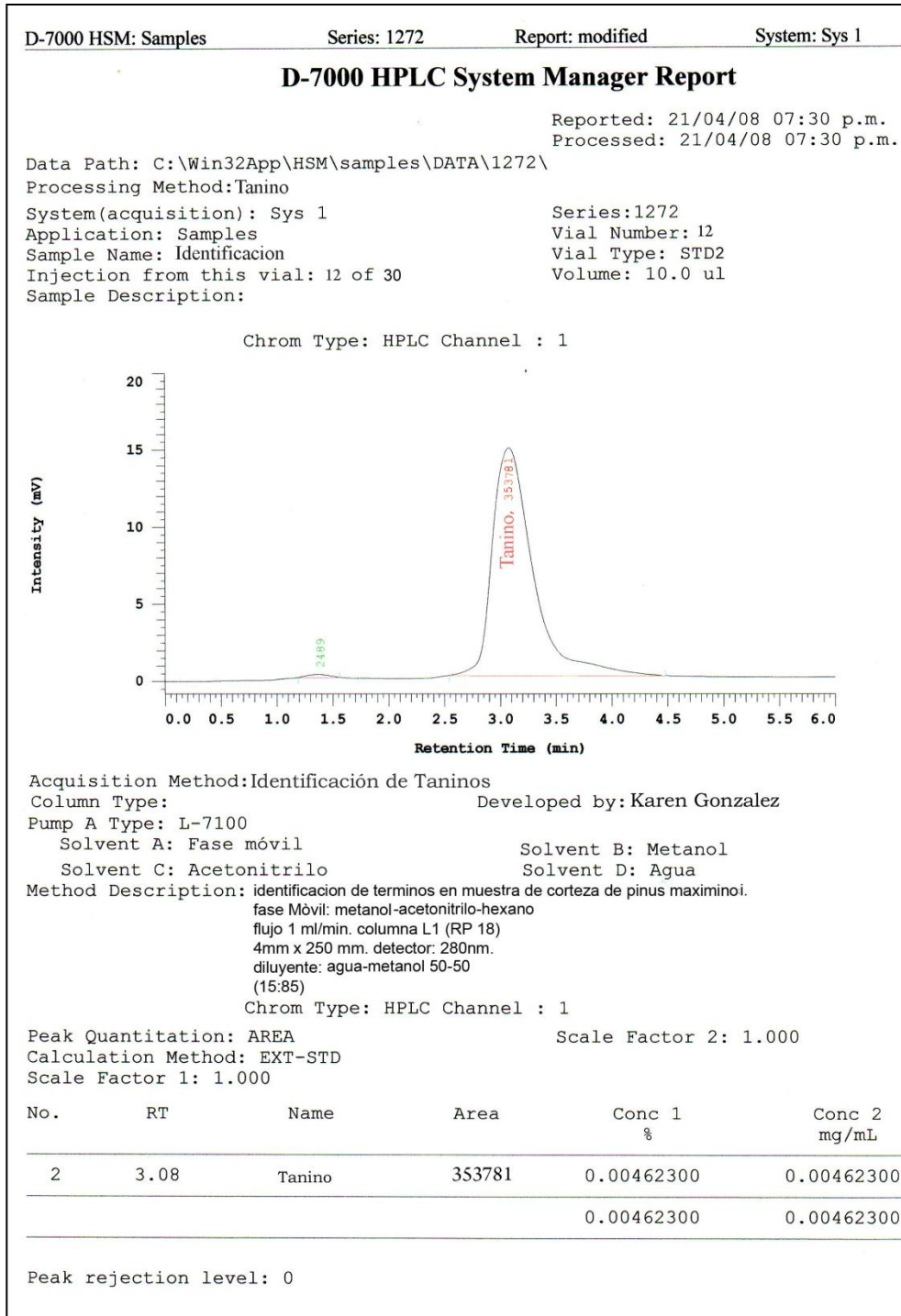


Figura 38. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A5, de la especie de *Pinus maximinoi* en la primera extracción sucesiva

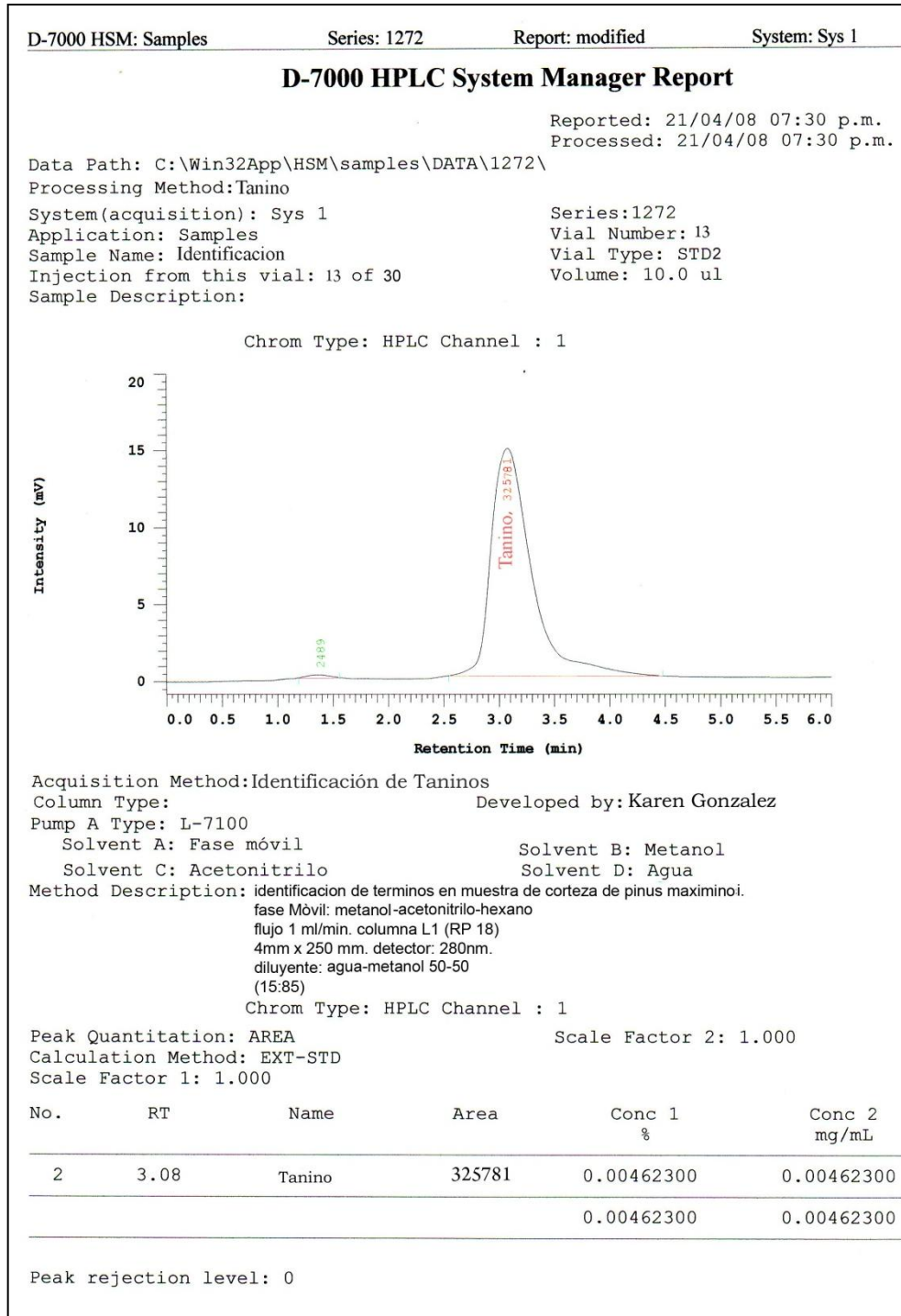


Figura 39. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A5, de la especie de *Pinus maximinoi* en la segunda extracción sucesiva

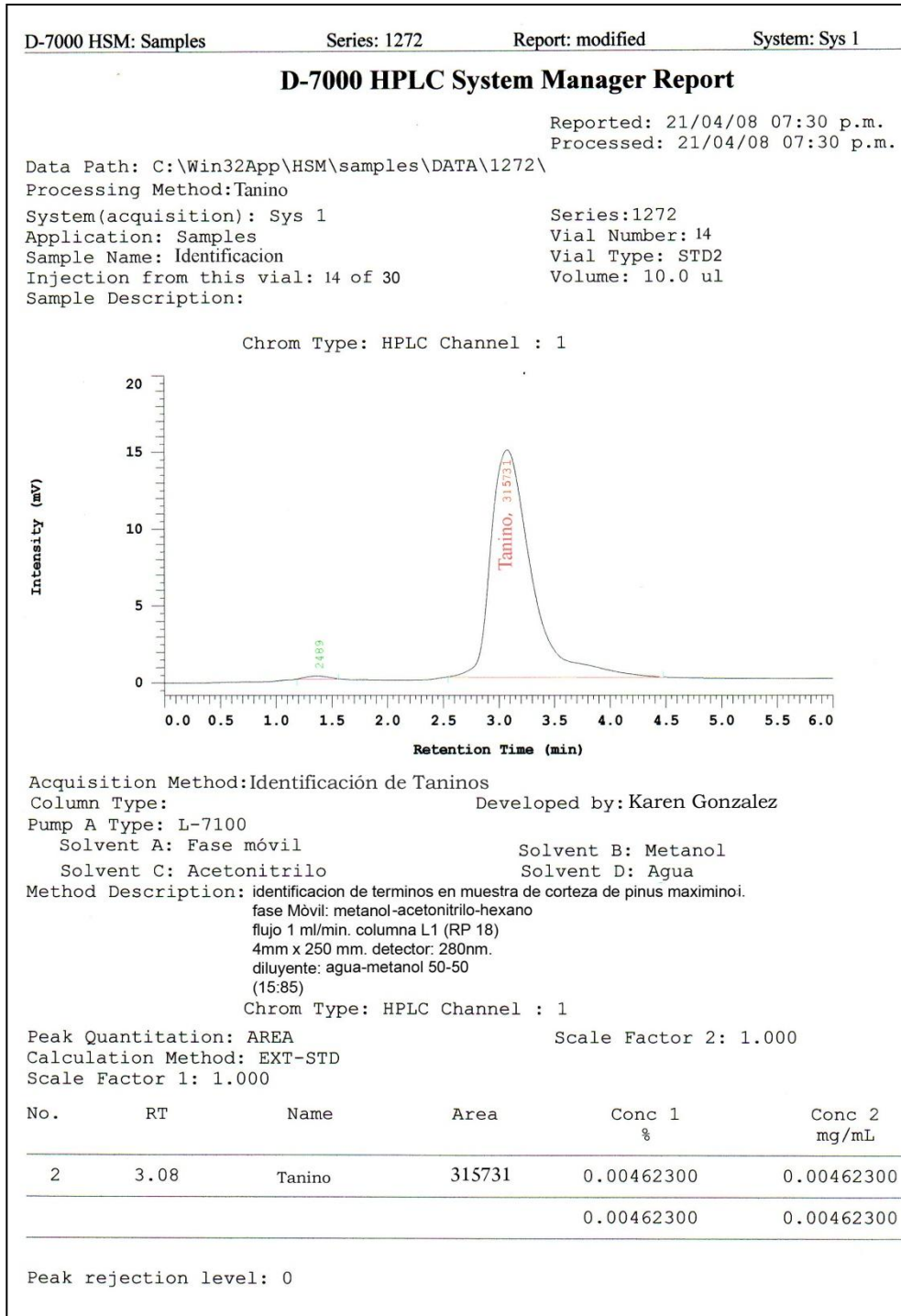


Figura 40. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol adulto A5, de la especie de *Pinus maximinoi* en la tercera extracción sucesiva

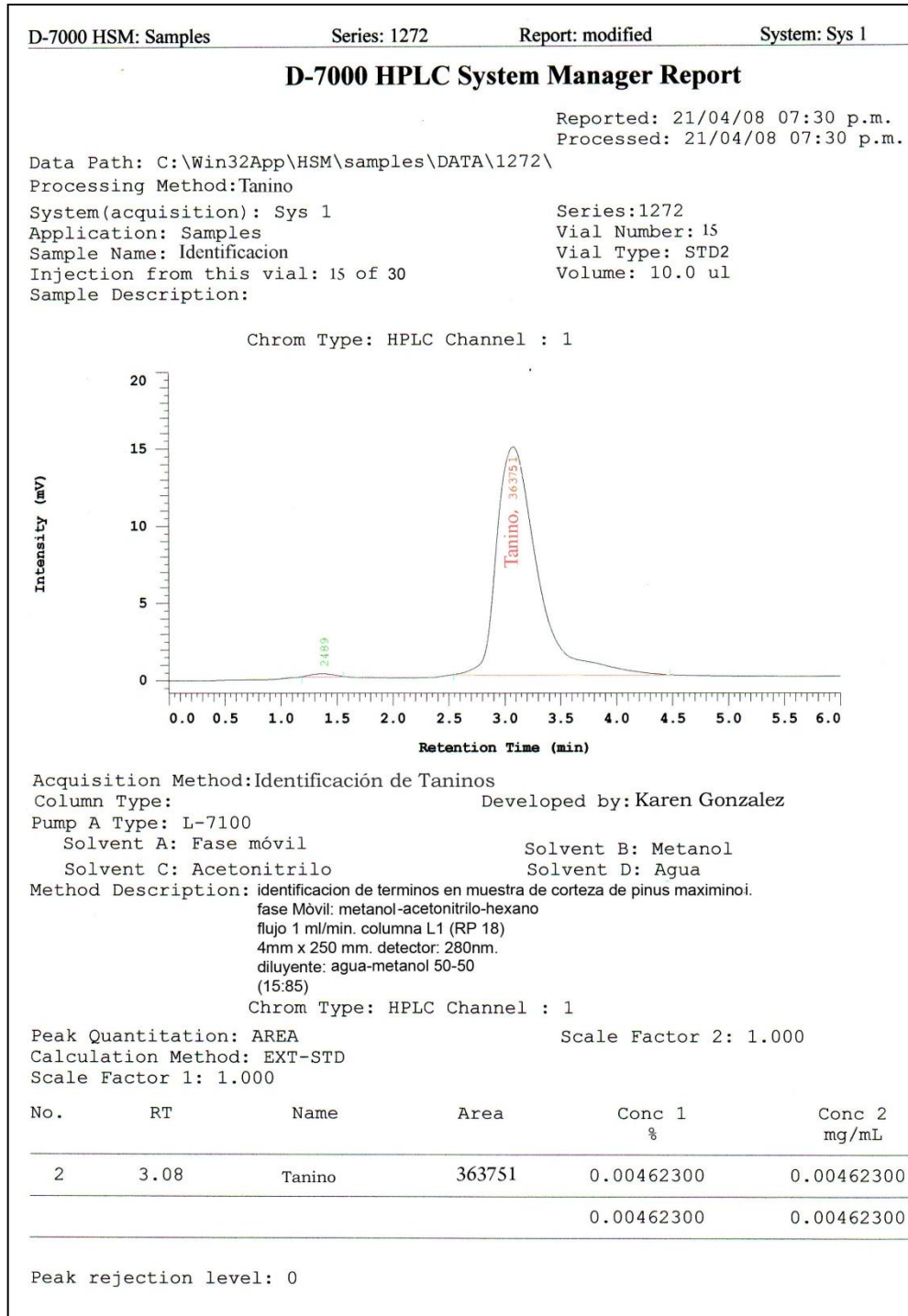


Figura 41. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J1, de la especie de *Pinus maximinoi* en la primera extracción sucesiva

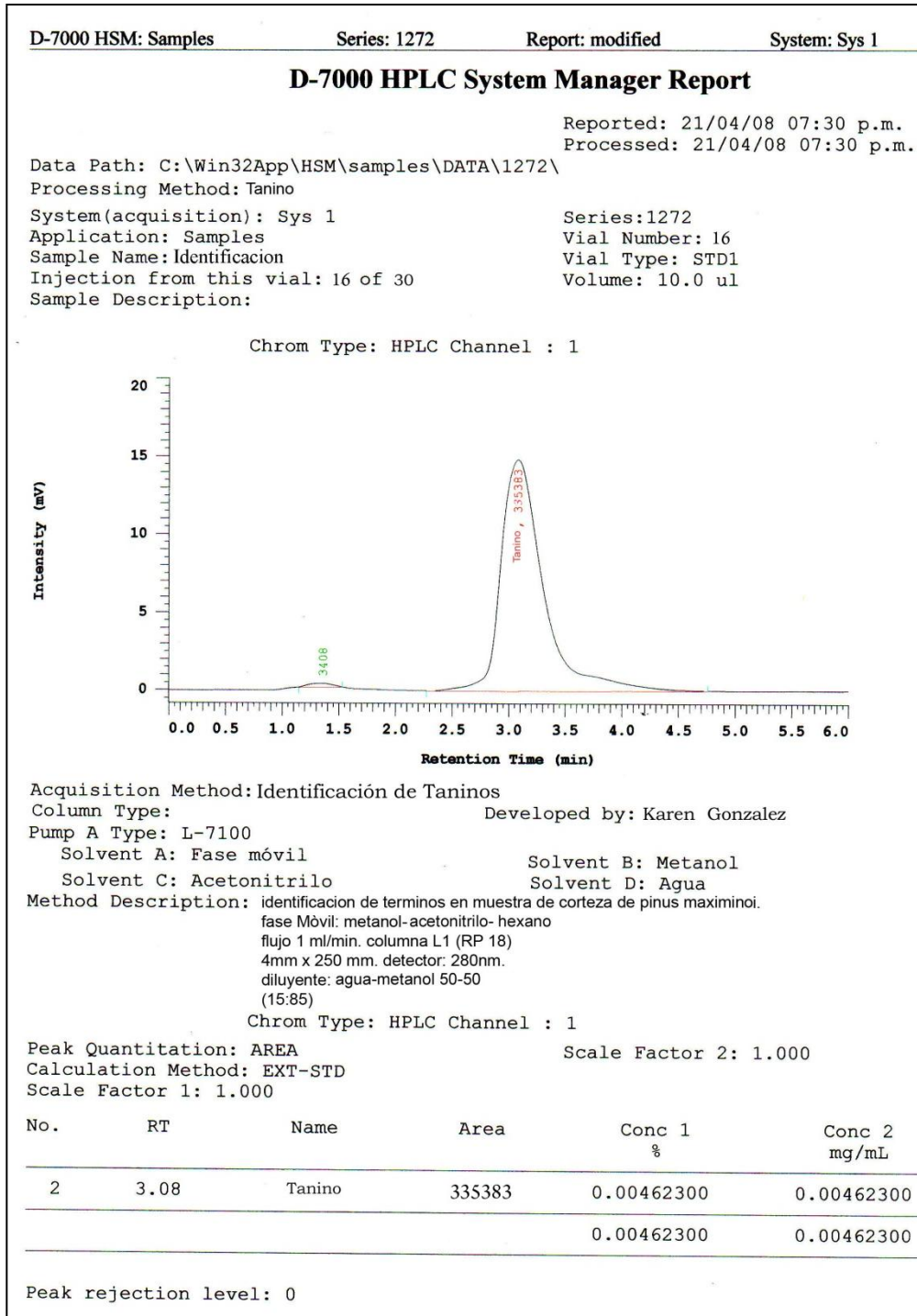


Figura 42. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J1, de la especie de *Pinus maximinoi* en la segunda extracción sucesiva

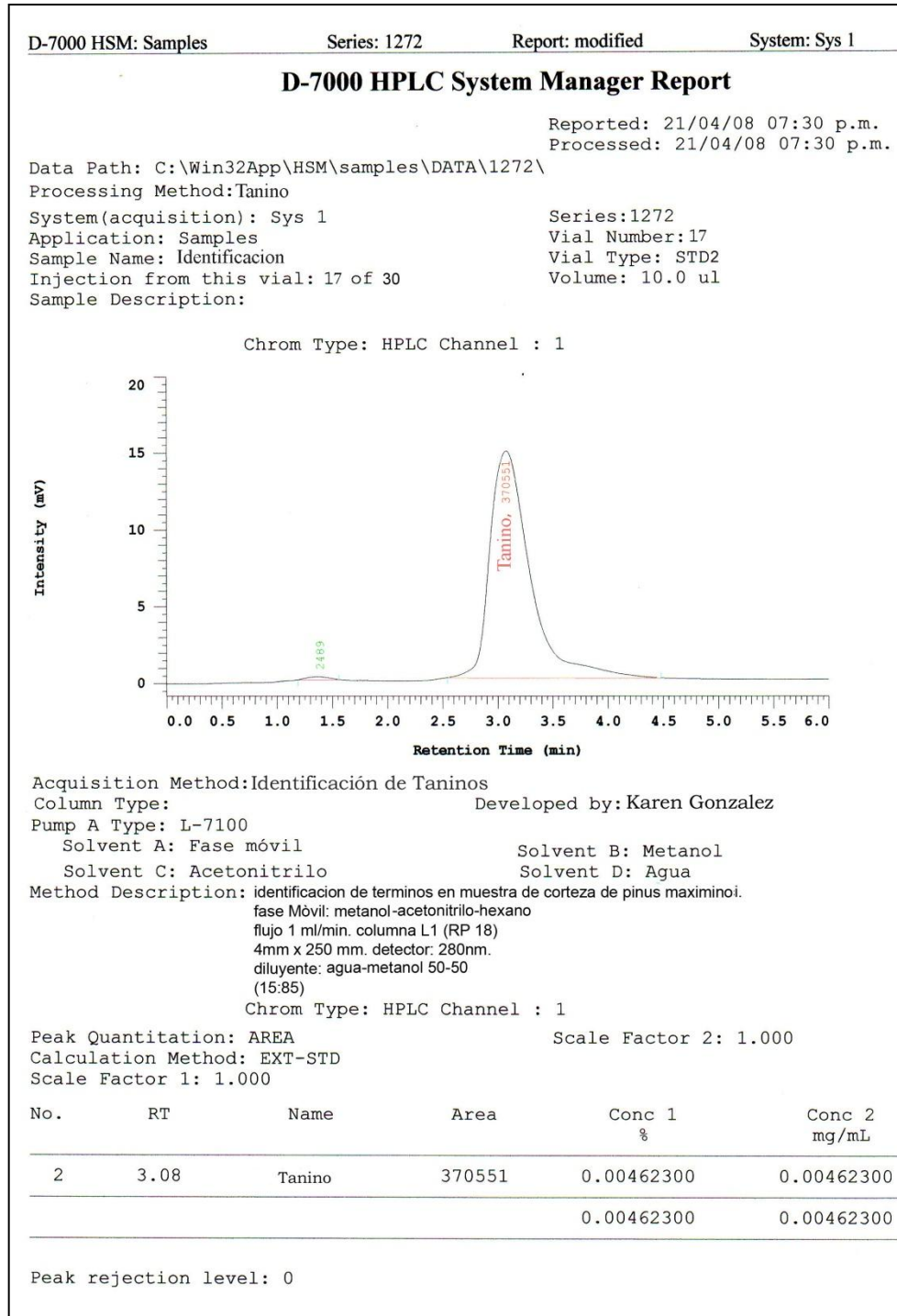


Figura 43. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J1, de la especie de *Pinus maximinoi* en la tercera extracción sucesiva

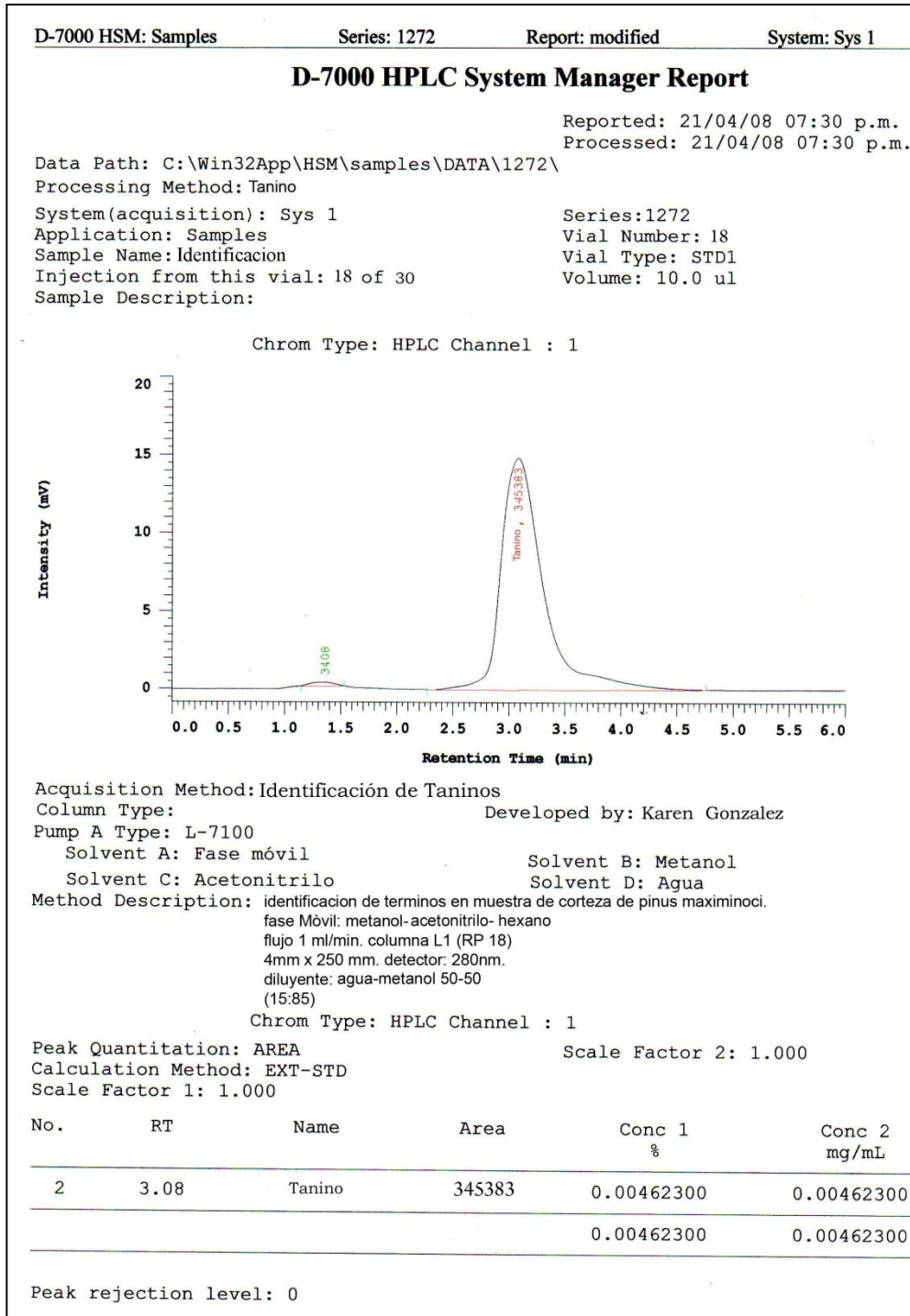


Figura 44. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J2, de la especie de *Pinus maximinoi* en la primera extracción sucesiva

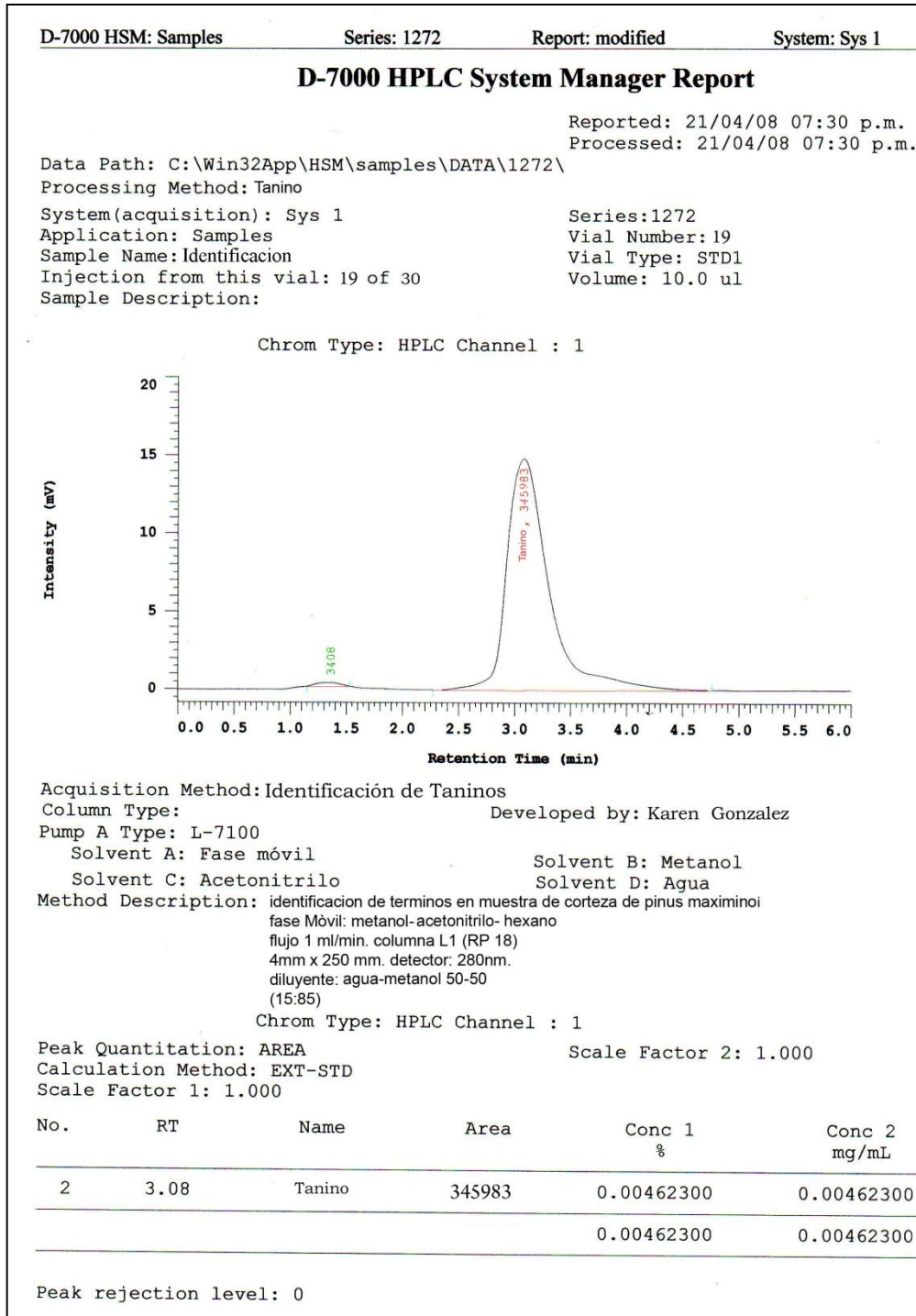


Figura 45. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J2, de la especie de *Pinus maximinoi* en la segunda extracción sucesiva

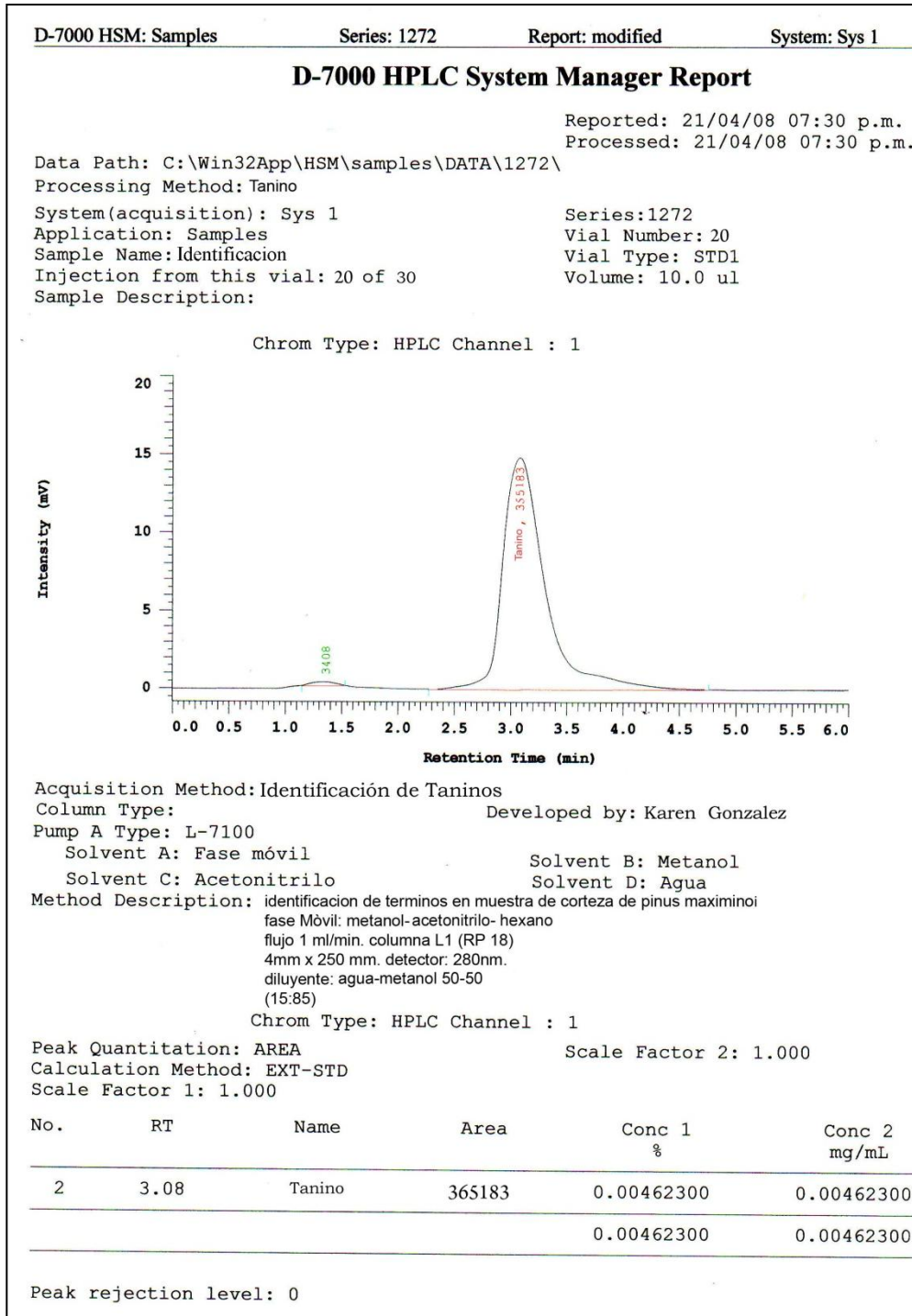


Figura 46. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J2, de la especie de *Pinus maximinoi* en la tercera extracción sucesiva

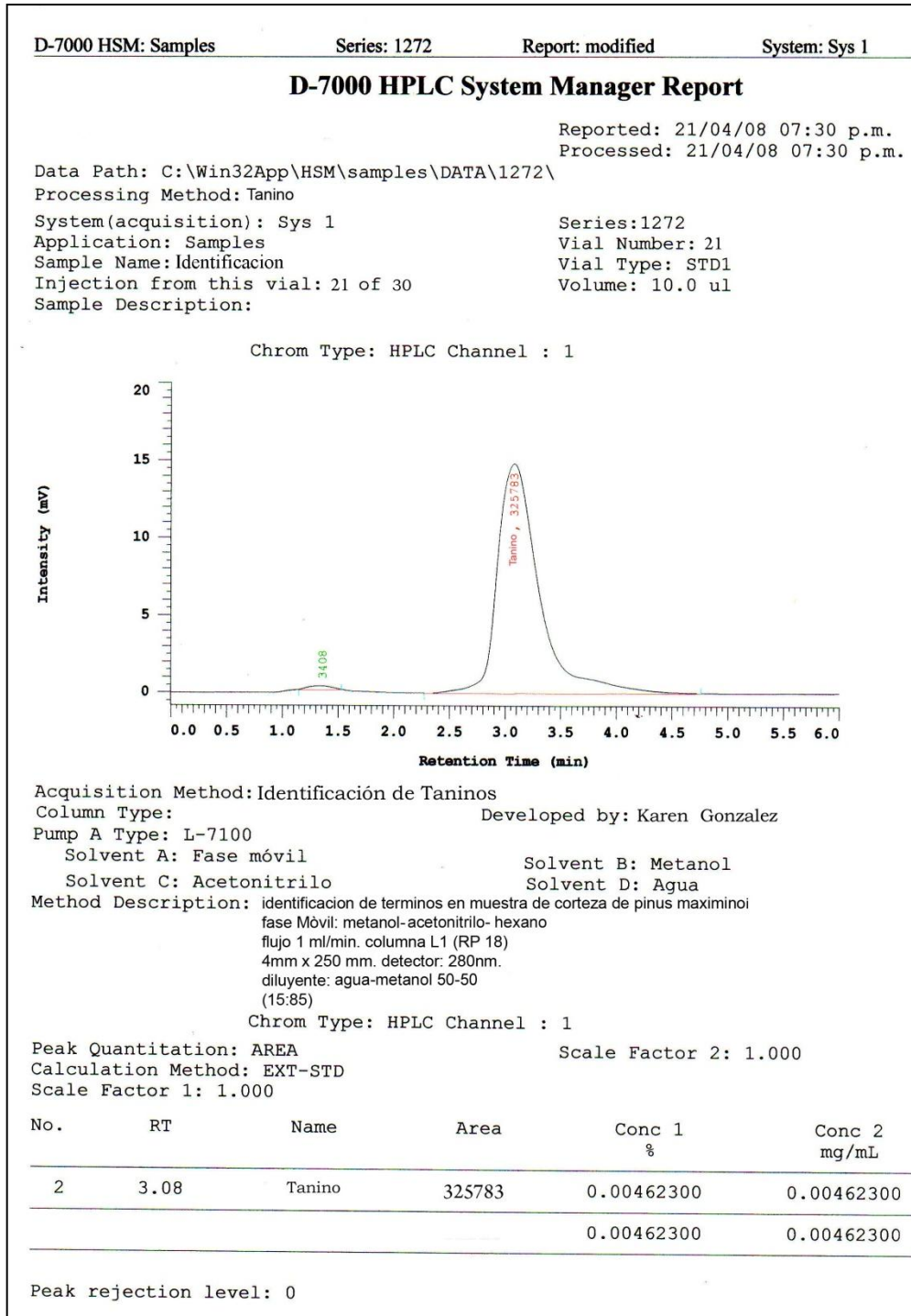


Figura 47. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J3, de la especie de *Pinus maximinoi* en la primera extracción sucesiva

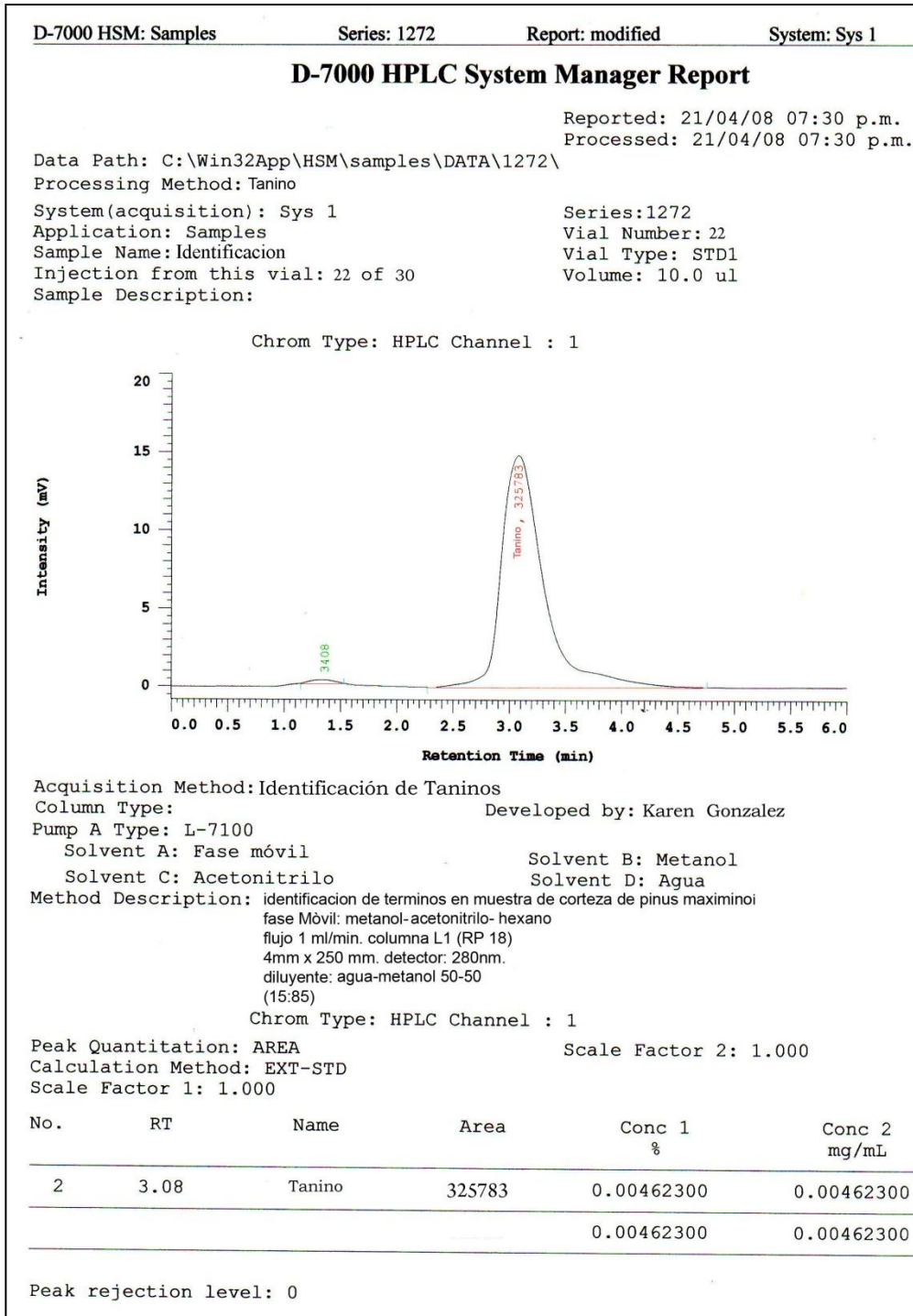


Figura 48. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J3, de la especie de *Pinus maximinoi* en la segunda extracción sucesiva

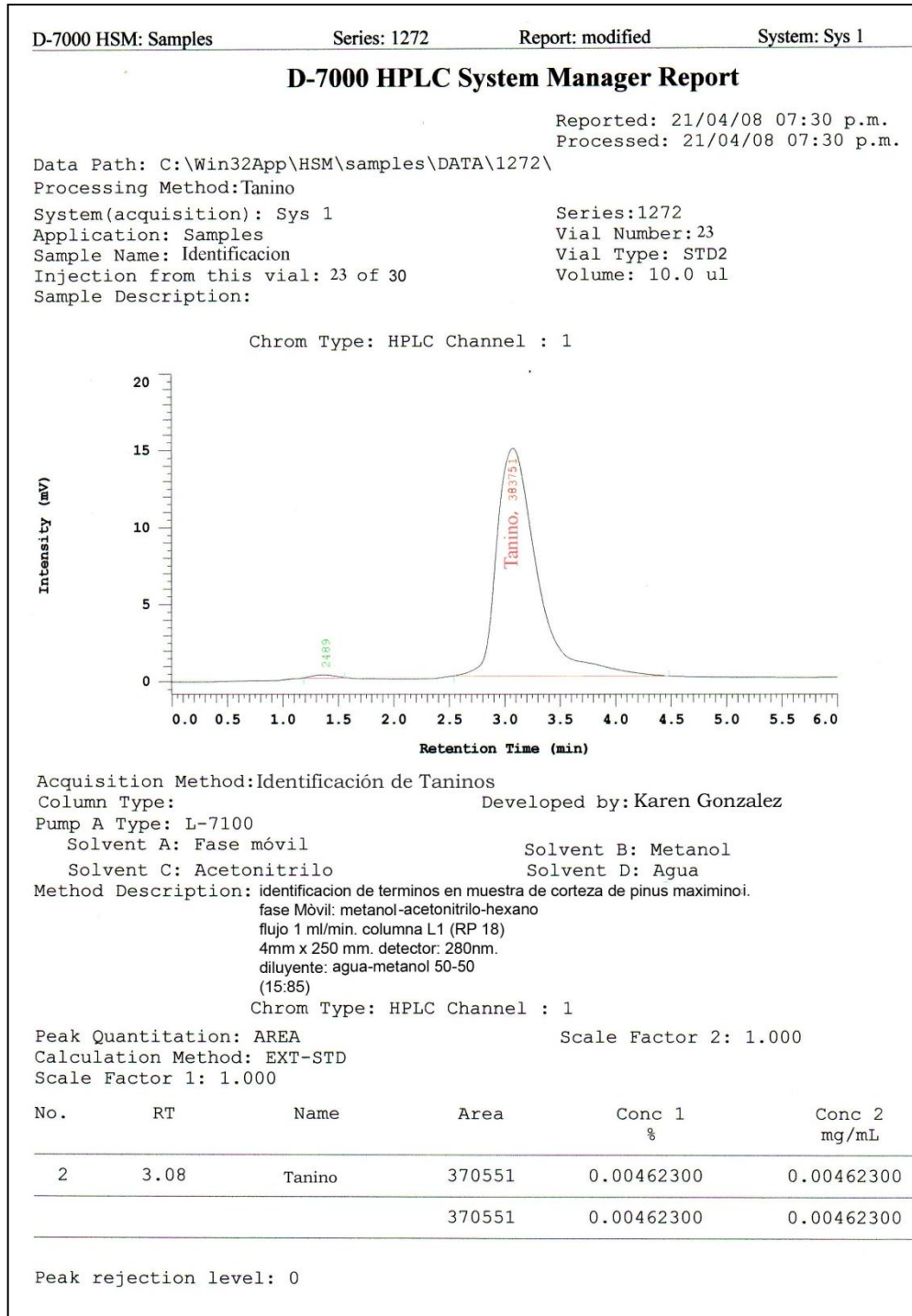


Figura 49. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J3, de la especie de *Pinus maximinoi* en la tercera extracción sucesiva

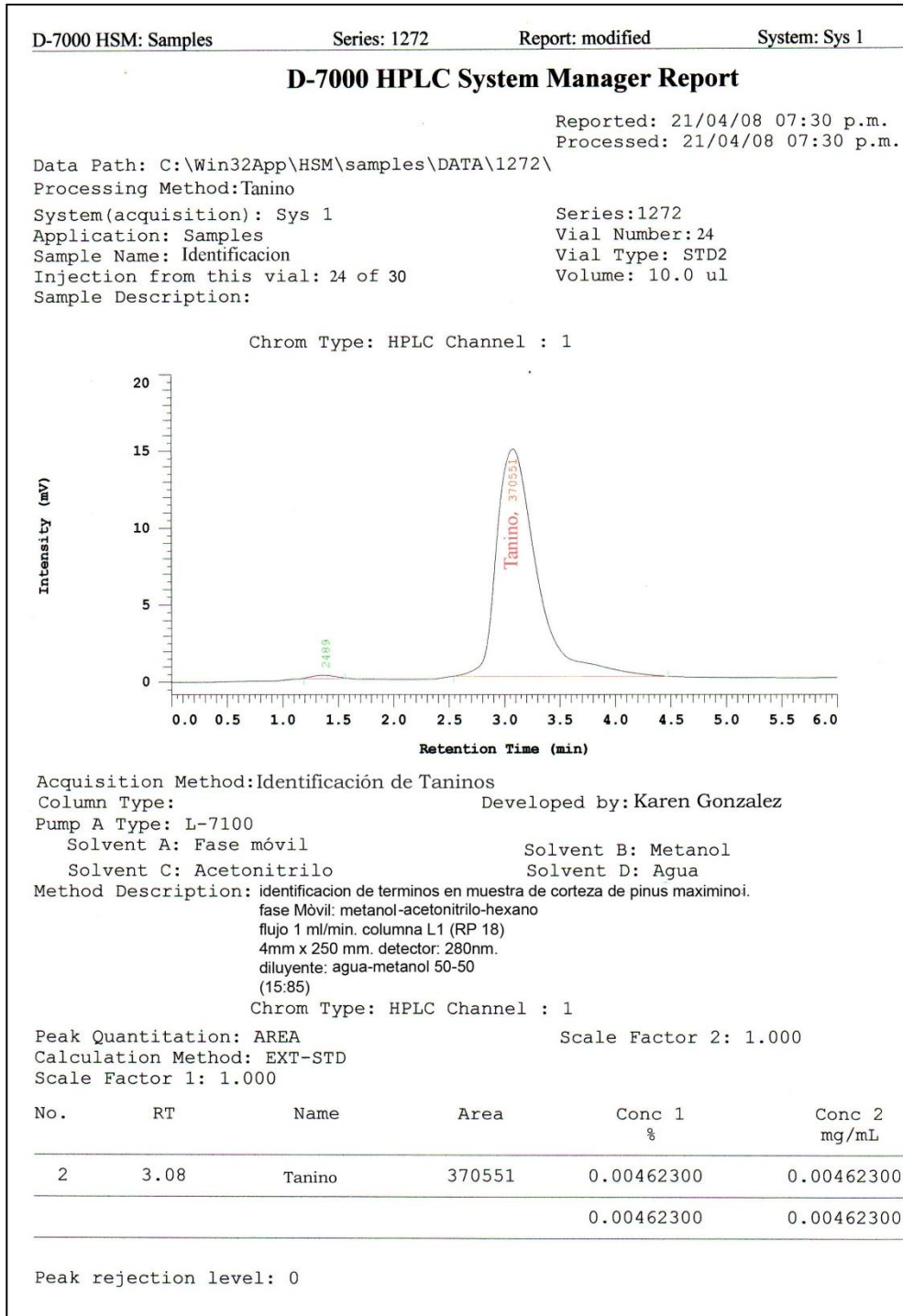


Figura 50. **Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J4, de la especie de *Pinus maximinoi* en la primera extracción sucesiva**

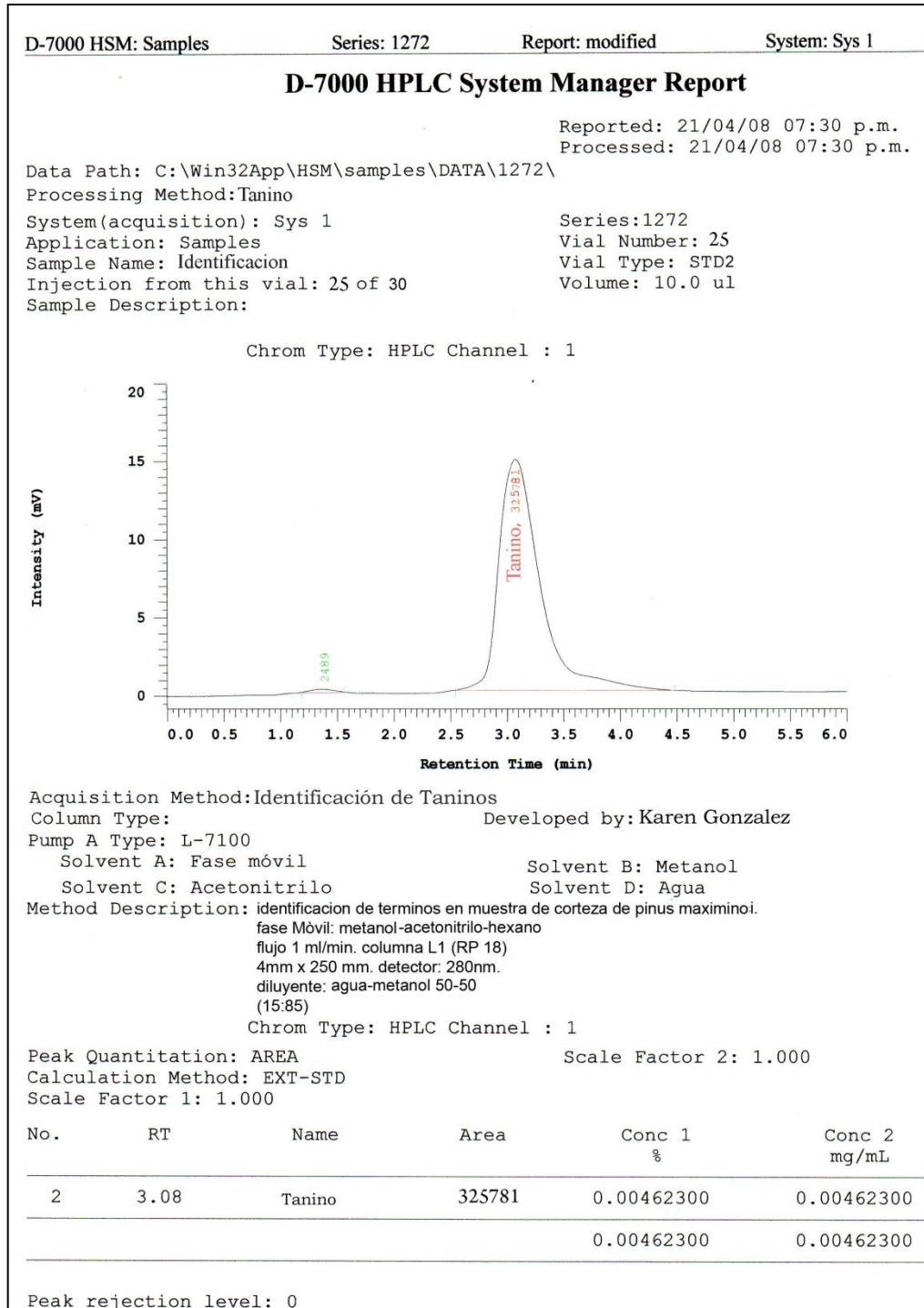


Figura 51. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J4, de la especie de *Pinus maximinoi* en la segunda extracción sucesiva

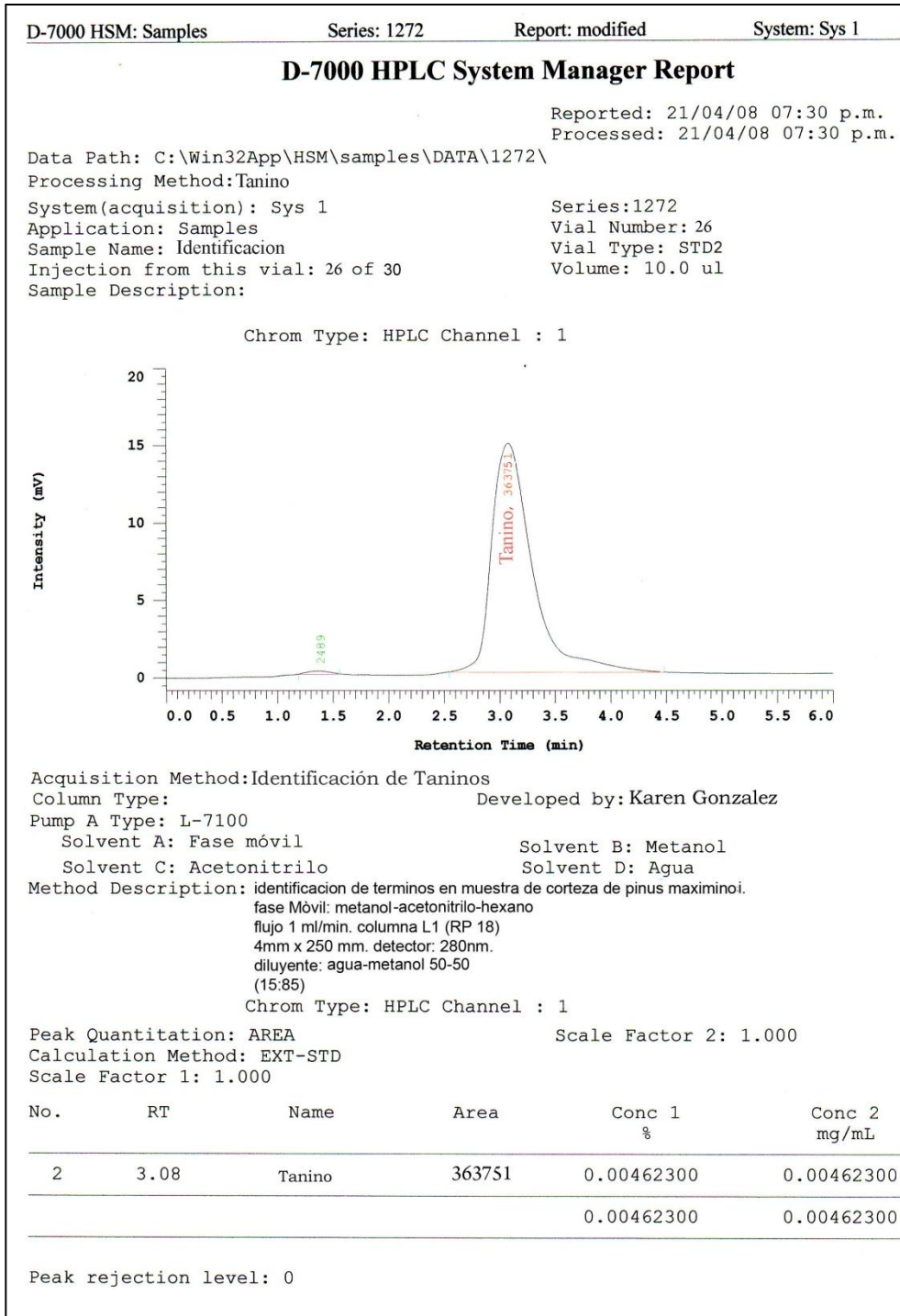


Figura 52. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J4, de la especie de *Pinus maximinoi* en la tercera extracción sucesiva

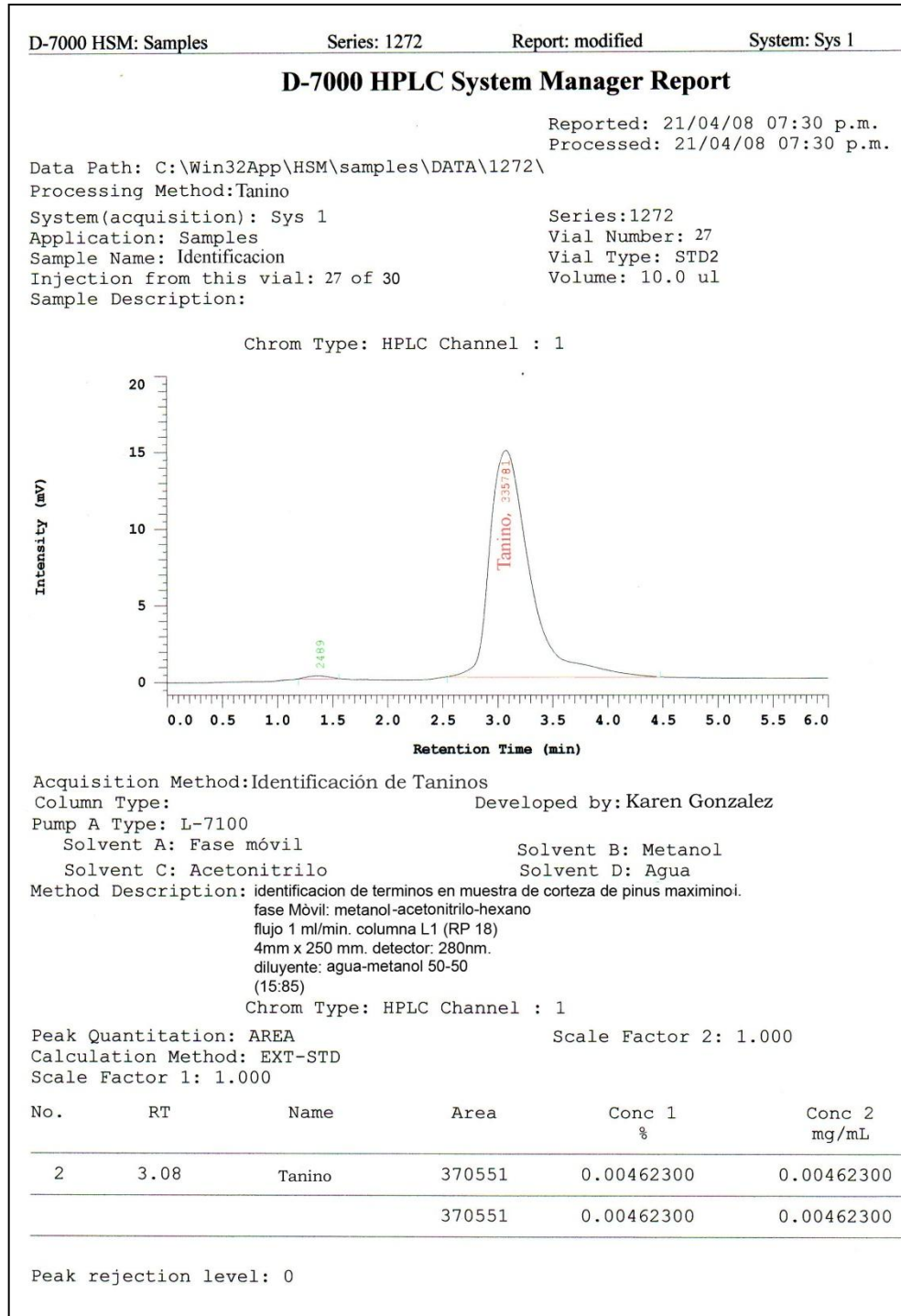


Figura 53. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J5, de la especie de *Pinus maximinoi* en la primera extracción sucesiva

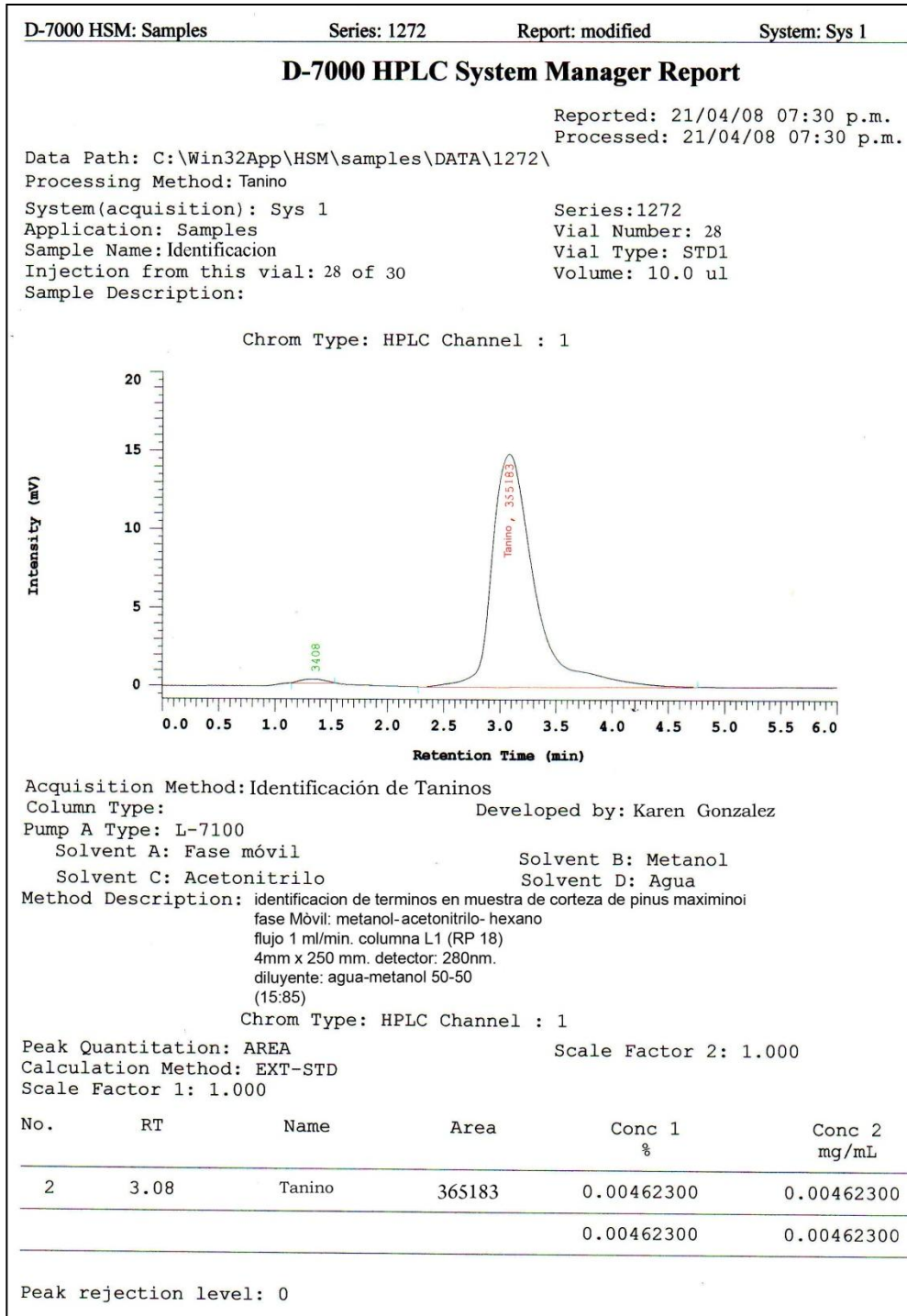


Figura 54. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J5, de la especie de *Pinus maximinoi* en la segunda extracción sucesiva

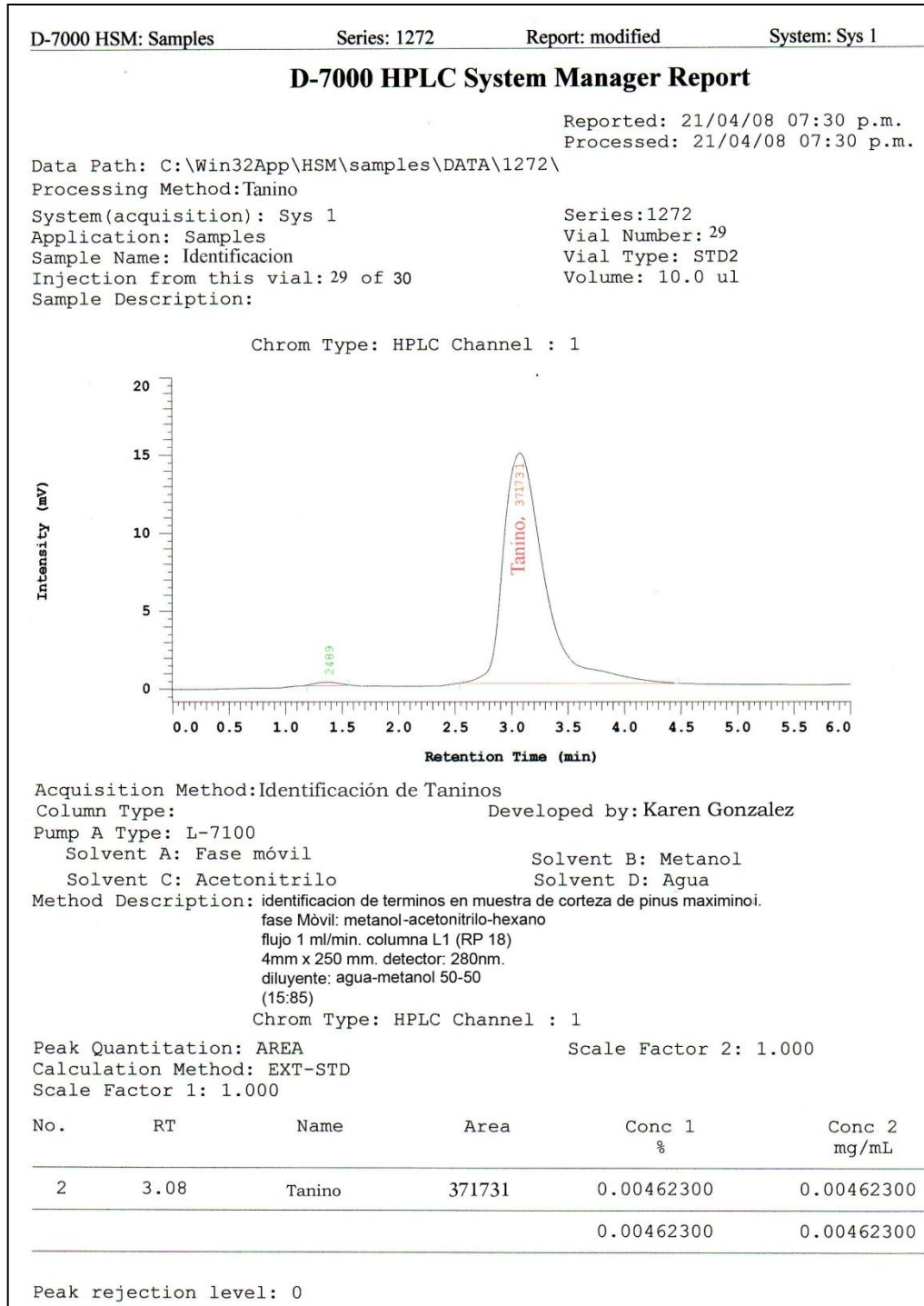


Figura 55. Monitoreo de la presencia de taninos en el árbol joven J5, de la especie de *Pinus maximinoi* en la tercera extracción sucesiva

