



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

**REUTILIZACIÓN DE LA SALMUERA EN LA ETAPA DE SALADO DEL BENEFICIO
ARTESANAL DEL MANÍ (*ARACHIS HYPOGAEA L.*) Y CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO
TÁNICO EN LA TESTA -EPISPERMA- DE LA SEMILLA**

Juan Jacob Girón Morales

Asesorado por el Ing. César Alfonso García Guerra

Guatemala, mayo de 2012

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**REUTILIZACIÓN DE LA SALMUERA EN LA ETAPA DE SALADO DEL BENEFICIO
ARTESANAL DEL MANÍ (*ARACHIS HYPOGAEA L.*) Y CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO
TÁNICO EN LA TESTA -EPISPERMA- DE LA SEMILLA**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

JUAN JACOB GIRÓN MORALES

ASESORADO POR EL ING. CÉSAR ALFONSO GARCÍA GUERRA

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

GUATEMALA, MAYO DE 2012

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL I	Ing. Alfredo Enrique Beber Aceituno
VOCAL II	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL III	Ing. Miguel Ángel Dávila Calderón
VOCAL IV	Br. Juan Carlos Molina Jiménez
VOCAL V	Br. Mario Maldonado Muralles
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
EXAMINADORA	Inga. Dinna Lissette Estrada Moreira
EXAMINADOR	Ing. Jorge Emilio Godínez Lemus
EXAMINADOR	Ing. José Manuel Tay Oroxom
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

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

**REUTILIZACIÓN DE LA SALMUERA EN LA ETAPA DE SALADO DEL BENEFICIO
ARTESANAL DEL MANÍ (*ARACHIS HYPOGAEA L.*) Y CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO
TÁNICO EN LA TESTA -EPISPERMA- DE LA SEMILLA**

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 29 de junio de 2011.



Juan Jacob Girón Morales



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



Nº 25404

Guatemala, 3 de febrero de 2012

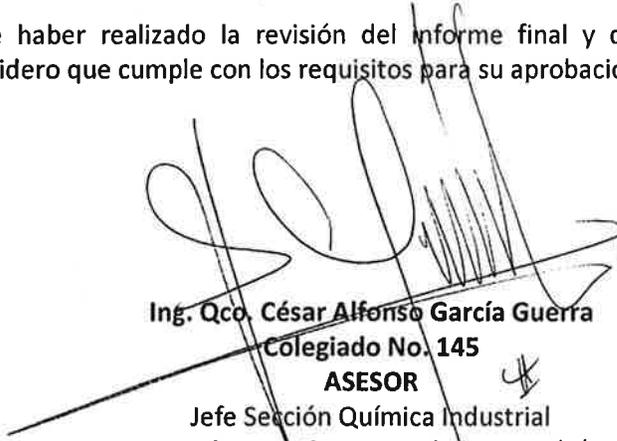
Ingeniero
Williams Guillermo Álvarez Mejía
Director
Escuela de Ingeniería Química
Universidad de San Carlos de Guatemala

Respetable Ingeniero Álvarez:

Atentamente me dirijo a usted para informarle que he revisado el informe final del Trabajo de Graduación titulado: **"REUTILIZACIÓN DE LA SALMUERA EN LA ETAPA DE SALADO DEL BENEFICIO ARTESANAL DEL MANÍ (ARACHIS HYPOGAEA L.) Y CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO TÁNICO EN LA TESTA -EPISPERMA- DE LA SEMILLA"**, desarrollado por el estudiante de Ingeniería Química: Juan Jacob Girón Morales quién se identifica con número de carné 2006-10986.

Luego de haber realizado la revisión del informe final y de realizar las correcciones pertinentes, considero que cumple con los requisitos para su aprobación.

Atentamente,


Ing. Qco. César Alfonso García Guerra
Colegiado No. 145
ASESOR

Jefe Sección Química Industrial
Centro de Investigaciones de Ingeniería/ CII
Universidad de San Carlos de Guatemala





Guatemala, 27 de febrero de 2012
Ref. EI.Q.TG-IF.008.2012

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

Estimado Ingeniero Álvarez:

Como consta en el Acta TG-006-2012-IF le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

Solicitado por el estudiante universitario: **Juan Jacob Girón Morales.**

Identificado con número de carné: **2006-10986**

Previo a optar al título de INGENIERO QUÍMICO.

Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

REUTILIZACIÓN DE LA SALMUERA EN LA ETAPA DE SALADO DEL BENEFICIO ARTESANAL DEL MANÍ (*Arachis Hypogaea* L.) Y CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO TÁNICO EN LA TESTA -Episperma- DE LA SEMILLA

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por el Ingeniero: **César Alfonso García.**

Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Ing. Víctor Manuel Monzón Valdéz
COORDINADOR DE TERNA
Tribunal de Revisión
Trabajo de Graduación



ESCUELA DE
INGENIERIA QUIMICA

C.c.: archivo



ACAAI

Agencia Centroamericana de Acreditación de
Programas de Arquitectura y de Ingeniería



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 del estudiante, **JUAN JACOB GIRÓN MORALES** titulado: "REUTILIZACIÓN DE LA SALMUERA EN LA ETAPA DE SALADO DEL BENEFICIO ARTESANAL DEL MANÍ (*ARACHIS HYPOGAEA L.*) Y CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO TÁNICO EN LA TESTA -EPISPERMA- DE LA SEMILLA". Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.


Ing. Williams Guillermo Alvarez Mejía, C.Dr.
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, mayo de 2012

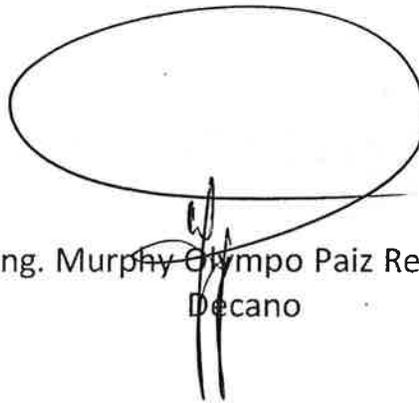
Cc: Archivo
WGAM/ale



DTG. 221.2012

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: **REUTILIZACIÓN DE LA SALMUERA EN LA ETAPA DE SALADO DEL BENEFICIO ARTESANAL DEL MANÍ (*ARACHIS HYPOGAEA L.*) Y CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO TÁNICO EN LA TESTA -EPISPERMA- DE LA SEMILLA**, presentado por el estudiante universitario Juan Jacob Girón Morales, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:



Ing. Murphy Olimpo Paiz Recinos
Decano



Guatemala, 17 de mayo de 2012.

/gdech

ACTO QUE DEDICO A:

- Dios** Que este logro sea de tu agrado y sirva para alabar y glorificar su nombre.
- Mis padres** Eleazar Girón y Zoila Morales, porque estamos logrando uno de los objetivos que trazamos para mí desde mi nacimiento y este triunfo es igual de importante para ustedes que para mí.
- Mis hermanos** José, Abraham y Ana, porque uno al grupo, ya lo logré yo también.
- Mi novia** Vivian Salazar, porque éstas son las primeras metas que alcanzamos juntos y tenemos muchas por cumplir. Te amo preciosa.
- Mis amigos** Bryan, Marvin, Estuardo, Josué, Joselito, Tania y Lizbeth, porque juntos suspirábamos con el momento de nuestra graduación desde el primer día de la universidad. Después de muchos esfuerzos y sacrificios lo logramos.

AGRADECIMIENTOS A:

- Dios** Por sus innumerables bendiciones y permanente protección sobre mi vida, el haberme rodeado en cada momento de las personas que junto a mí, vivieron esta importante etapa de mi vida.
- Mis padres** Eleazar Girón y Zoila Morales, por su esfuerzo, paciencia, guía y apoyo demostrado a lo largo de toda mi vida. Nada hubiera sido posible sin ustedes.
- Mi novia** Vivian Salazar, por su amor sincero e incondicional, su apoyo y palabras de aliento.
- Mis amigos** Bryan, Marvin, Estuardo, Josué, Joselito, Tania y Lizbeth, por todos los recuerdos inolvidables acumulados a lo largo de estos años.
- Ing. César García** Por todo el tiempo invertido en asesorar mi trabajo de graduación, su sabio consejo y sus energías inagotables.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	V
LISTA DE SÍMBOLOS	IX
GLOSARIO	XI
RESUMEN	XV
OBJETIVOS.....	XVII
INTRODUCCIÓN	XXI
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Taninos	3
2.2. Clasificación de los taninos	4
2.2.1. Taninos hidrolizables	5
2.2.2. Taninos condensados	5
2.2.3. Taninos complejos	6
2.3. Estructura y formación de los taninos	6
2.3.1. Taninos hidrolizables	6
2.3.2. Taninos condensados	9
2.4. Función biológica de los taninos	11
2.5. Uso industrial de los taninos	11
2.5.1. Industria tenera	12
2.5.2. Industria farmacéutica	13
2.6. Cuantificación de taninos	14
2.6.1. Precipitación de proteínas y alcaloides	14
2.6.1.1. Absorción en columna de polvo	16

2.6.1.2.	Precipitación e proteínas en solución	16
2.6.1.3.	Difusión en gel	17
2.6.1.4.	Precipitación en papel de cromatografía.....	18
2.6.2.	Reacción con anillos fenólicos.....	18
2.6.2.1.	Determinación de fenoles totales.....	18
2.6.2.1.1.	Acomplejamiento con iones féricos	19
2.6.2.1.2.	Reducción con permanganato	19
2.6.2.1.3.	Reducción de iones féricos.....	20
2.6.2.1.4.	Métodos de Folin: reducción del reactivo de Fosfotungsténico – Fosfomolibdénico	20
2.6.2.1.5.	Reacción con yodo alcalino	21
2.6.2.1.6.	Retro titulación de oxalato.....	22
2.6.2.2.	Reacción con m-Difenoles	23
2.6.2.2.1.	Reacción con vainillina.....	23
2.6.2.2.2.	Reducción con formaldehido (método de Stiasny)	24
2.6.2.3.	Reacción con o-Difenoles	25
2.6.2.3.1.	Reducción de ácido nitroso (método de Bate-Smith)	25
2.6.2.3.2.	Reducción con yodato de potasio	26
2.6.3.	Despolimerización	26
2.6.3.1.	Despolimerización de proantocianidinas.....	27
2.6.3.2.	Despolimerización de taninos gálicos	27
2.6.3.3.	Despolimerización de taninos elágicos	28
2.7.	Maní (<i>Arachis Hypogaea</i>)	29
2.7.1.	Cultivo del maní Guatemala.....	29

2.7.1.1.	Producción de maní en el municipio de Chiquimula	30
2.7.2.	Siembra del maní	32
2.7.3.	Cosecha el maní	33
2.7.4.	Pos cosecha el maní	33
2.7.4.1.	Secado	34
2.7.4.2.	Trillado	34
2.7.4.3.	Almacenamiento.....	34
2.7.5.	Beneficio del maní.....	35
2.7.5.1.	Descascarado	35
2.7.5.2.	Aireado con ventilador.....	35
2.7.5.3.	Salmuera.....	36
2.7.5.4.	Horneado	36
2.7.6.	Caracterización del maní (<i>Arachis Hypogaea</i>)	37
3.	MARCO METODOLÓGICO	41
3.1.	VARIABLES.....	41
3.2.	Delimitación del campo de estudio.....	42
3.3.	Recursos humanos disponibles	43
3.4.	Recursos materiales disponibles.....	43
3.5.	Técnica cualitativa o cuantitativa	45
3.5.1.	Metodología experimental.....	45
3.5.1.1.	Reutilización y análisis de la salmuera.....	46
3.5.1.2.	Extracción de taninos	47
3.5.2.	Procedimientos experimentales	48
3.5.2.1.	Reutilización y análisis de la salmuera.....	48
3.5.2.2.	Extracción de taninos	50
3.6.	Recolección y ordenamiento de la información.....	52

3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información....	55
3.8. Análisis estadístico	56
4. RESULTADOS	59
5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	65
CONCLUSIONES.....	99
RECOMENDACIONES	101
BIBLIOGRAFÍA.....	103
APÉNDICES.....	107

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1. Concentración de NaCl vs ciclo de reutilización: salado de 12 horas, 500 g de maní crudo, 400 mL de salmuera, temperatura de 19 °C. 59
2. Absorción de NaCl en el maní vs ciclo de reutilización: salado de 12 horas, 500 g de maní, 400mL de salmuera, temperatura 19 °C. 60
3. Comparación de la percepción del grado de salado del maní respecto al primer ciclo de salado C1. 61
4. Concentración de taninos en salmuera vs ciclo de reutilización: salado de 12 horas, 500 g de maní crudo, 400 mL de salmuera, temperatura 19 °C. 62
5. Ahorro de sal y salmuera al año en el beneficio artesanal de maní. Producción anual de 565 quintales de maní salado. Absorción del 27,5% de volumen de salmuera. 66
6. Cambio de concentración de NaCl en la salmuera vs ciclo de reutilización: salado de 12 horas. 67
7. Realización de pruebas hedónicas comparativas del sabor del maní proveniente de cada ciclo. 69
8. Muestra de maní tostado con testa por cada recirculación de salmuera. Tostado de 170 °C por 10 minutos. 70
9. Muestra de maní tostado sin testa por cada recirculación de salmuera. Tostado de 170 °C por 10 minutos. 71
10. Cambio de concentración de taninos en la salmuera vs ciclo de reutilización: salado de 12 horas. 78

11. Monitoreo del pH del solvente de extracción (sulfito de sodio) para la testa cruda de maní: temperatura de extracción = 40 °C, 5 g de testa en 300 mL de solvente, agitación de 600 rpm.....	80
12. Monitoreo del pH del solvente de extracción (sulfito de sodio) para la Testa tostada de maní: temperatura de extracción = 40 °C, 5 g de testa en 300 mL de solvente, agitación de 600 rpm.....	81
13. Monitoreo de la densidad del solvente de extracción para la testa cruda de maní: temperatura de extracción = 40 °C, 5 g de testa en 300 mL de solvente, agitación de 600 rpm.	83
14. Monitoreo de la densidad del solvente de extracción para la testa tostada de maní: temperatura de extracción = 40 °C, 5 g de testa en 300 mL de solvente, agitación de 600 rpm.....	84
15. Monitoreo de los sólidos en solución del solvente de extracción para la testa cruda de maní: temperatura de extracción = 40 °C, 5 g de testa en 300 mL de solvente, agitación de 600 rpm.....	85
16. Monitoreo de los sólidos en solución del solvente de extracción para la testa tostada de maní: temperatura de extracción = 40 °C, 5 g de testa en 300 mL de solvente, agitación de 600 rpm.....	86
17. Coloración de los extractos para monitorear la maceración de la testa cruda del maní con tres solventes: temperatura de extracción = 40 °C, 5 g de testa en 300mL de solvente, agitación de 600 rpm.....	87
18. Curva de eliminación de sulfitos por acidificación con ácido sulfúrico. 2 mL de ácido sulfúrico concentrado, 300 mL de extracto tánico, temperatura ambiente, agitación de 600 rpm.....	91
19. Curva de calibración para el método de Folin – Ciocalteu. Espectrofotómetro Análogo Bosch & Laumb: Spectronic 20. Longitud de onda = 760 nm.	93
20. Reacción de oxidación de los polifenoles catéquicos en la prueba cualitativa de presencia de taninos con FeCl ₃	96

21. Prueba cualitativa para presencia de taninos con FeCl ₃ . Muestra.	96
22. Prueba cualitativa para presencia de taninos con FeCl ₃ . Extracto de testa cruda y testa tostada.	97

TABLAS

I. Métodos de análisis de taninos.	15
II. Clasificación taxonómica del maní	38
III. Composición química porcentual del maní.....	38
IV. Composición porcentual del maní	39
V. Descripción de variables independientes.....	41
VI. Descripción de variables dependientes.....	42
VII. Tratamientos efectuados para la cuantificación de cloruros en la salmuera con el método de Mohr.....	52
VIII. Tratamientos efectuados para la cuantificación de cloruros en el maní con el método de Mohr.....	53
IX. Tratamientos efectuados para la cuantificación de taninos en la salmuera con el método de Lowenthal.....	53
X. Tratamientos efectuados para la cuantificación de taninos en la salmuera con el método de Folin-Ciocalteu	54
XI. Repeticiones efectuadas para la cuantificación de taninos en la testa del maní con el método de Lowenthal	54
XII. Repeticiones efectuadas para la cuantificación de taninos en la testa del maní con el método de Folin-Ciocalteu	54
XIII. Tabla para el monitoreo del tiempo de extracción	55
XIV. Tabulación de los datos obtenidos de las pruebas hedónicas realizadas al maní. Calificación del 1 al 5.	56
XV. Parámetros del ANOVA para un diseño experimental unifactorial de efectos fijos balanceados	57

XVI.	Parámetros del ANOVA para un diseño experimental unifactorial de efectos fijos balanceados.....	57
XVII.	Concentración de taninos en la testa del maní expresados como gramos de ácido tánico por gramo de testa seca. Cuantificación por método de Lowenthal. Maceración dinámica de 5 horas con sulfito de sodio a pH = 10, temperatura de 40 °C.	63
XVIII.	Concentración de taninos en la testa del maní expresados como gramos de ácido tánico por gramo de testa seca. Cuantificación por método de Folin-Ciocalteu. Maceración dinámica de 5 horas con sulfito de sodio a pH = 10, temperatura de 40 °C.....	64

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
At	Ácido tánico
mol	Cantidad de sustancia
n	Ciclo de salado
°C	Grado Celsius
g	Gramo
h	Hora
kg	Kilogramo
lb	Libra fuerza
L	Litro
mg	Miligramo
mL	Mililitro

min

Minuto

%

Porcentaje

q

Quintal

T

Testa cruda o tostada seca

GLOSARIO

Ácido tánico	Ácido polifenólico compuesto por una molécula de glucosa y diez de ácido gálico. Su fórmula es $C_{76}H_{52}O_{46}$.
ANOVA	Siglas en inglés para análisis de varianza.
Beneficio	Lugar donde es procesado un producto agro/industrial para obtener ganancias económicas producto de dicha actividad.
Compuestos fenólicos	Sustancias químicas que poseen anillos aromáticos y grupos hidroxilo, grupos fenol, en su estructura. Generalmente son de origen vegetal, siendo metabolitos secundarios de las plantas.
Cloruro de sodio	Compuesto químico iónico con fórmula NaCl, sal de mesa común.
Episperma o testa	Capa protectora que rodea a las semillas de las plantas espermatófitas.

Espectrofotómetro	Instrumento óptico de análisis instrumental para realizar cuantificaciones de sustancias a distintas longitudes de onda.
Extracción	Procedimiento de separación de una sustancia de un sustrato por medio de un solvente en el cual es miscible.
Maceración dinámica	Operación que consiste en sumergir un sólido vegetal en un líquido con agitación constante para extraer de él sus partes solubles.
Metabolitos Secundarios	Compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es fatal para la planta.
pH	Medida de la acidez o alcalinidad de una solución. Es una medida logarítmica de la concentración de iones hidrógeno presentes en la disolución.
Salmuera	Solución acuosa con altas concentraciones de cloruro de sodio. Utilizada en los beneficios de maní para realizar la etapa del salado.
Solvente	Sustancia líquida de cualquier tipo cuyas propiedades permiten disolver otra sustancia que se desea extraer en menor proporción.

Sulfito de sodio	Compuesto químico sólido conformado por un ion sulfito y dos cationes de sodio. Tiene propiedades de hidrólisis básica en agua, y genera soluciones alcalinas. Su fórmula es Na_2SO_3 .
Taninos	Compuestos polifenólicos de diversas estructuras químicas, capaces de curtir pieles. Son metabolitos secundarios de las plantas que cumplen una función protectora contra el ambiente.
Testa cruda	Episperma del maní que no ha pasado por la etapa de salado y la de tostado.
Testa tostada	Episperma del maní que ya ha sido procesado en las etapas de salado y tostado.
Volumetría	Determinación de concentraciones por medio de valoraciones, es decir, por medio de mediciones de volumen de una sustancia para reaccionar completamente con la sustancia que se desea medir.

RESUMEN

El estudio realizado presenta un análisis de la etapa de salado del beneficio artesanal del maní. El objetivo del estudio fue determinar si es factible la reutilización de la salmuera del beneficio para reducir costos de operación en el procesamiento del maní. También es analizado el mejor método para realizar una extracción de los taninos presentes en la testa cruda y la testa tostada del maní, para luego ser cuantificado. Las muestras de maní fueron obtenidas de un beneficio de la aldea de Xororaguá, Chiquimula.

Para el estudio sobre la reutilización de la salmuera se recurrió a una reproducción a nivel laboratorio del proceso salado que se lleva a cabo en el beneficio artesanal. Esta etapa de salado se realizó por seis ciclos seguidos con la misma salmuera, analizando entre cada ciclo la concentración de cloruro de sodio en la salmuera, la cantidad de cloruro de sodio retenido en el maní y la concentración de taninos en la salmuera. Todas las muestras de maní fueron tostadas para completar su preparación. Finalmente los distintos grupos de maní fueron sometidos a pruebas hedónicas para determinar si la aceptabilidad del maní se veía afectada.

La cuantificación de taninos en el episperma se inició con una evaluación del mejor pH de extracción, para lo cual se monitoreó el agotamiento del substrato (testa de maní), por medio de propiedades como pH, densidad y sólidos solubles. La cuantificación de los taninos extraídos se efectuó por los métodos de Lowenthal y Folin-Ciocalteu, tanto a la testa del maní crudo como la del maní procesado.

Al finalizar el estudio, se concluyó que la cantidad de sal (cloruro de sodio) retenida por cada lote de maní no mostró variaciones significativas. Las pruebas hedónicas realizadas muestran que las personas encuestadas no percibieron un sabor distinto en el maní a pesar de sus múltiples recirculaciones. Se logró calcular el coeficiente de transferencia de masa para el proceso de salado del maní de 12 horas, siendo éste de $2,5 \times 10^{-5} \text{m/h}$.

A partir de los análisis estadísticos realizados se concluyó que el contenido de sal en la salmuera reutilizada aumenta gradualmente con cada ciclo de maní salado. No obstante, esta variación es muy pequeña y no justifica el reemplazo ni la dilución de la salmuera. La concentración de los taninos en la salmuera, también aumentó, pero con un valor muy bajo para justificar su empleo como subproducto. Por tal razón, se recomienda la utilización de la salmuera durante tres ciclos seguidos, tomando en cuenta la aceptabilidad del maní como el factor de ahorro económico.

Las mejores condiciones para la extracción de los taninos del maní fueron a un pH de diez durante cinco horas de maceración dinámica. El contenido de taninos de la testa cruda fue de 0,1441 gAt/gT y de 0,0846 gAt/gT para la testa tostada, determinado por el método de Folin-Ciocalteu. Para el método de Lowenthal los resultados fueron aproximadamente el sesenta por ciento de los datos obtenidos con el método de Folin-Ciocalteu. Los taninos extraídos de la testa del maní fueron del tipo de taninos catéquicos.

OBJETIVOS

General

Evaluar la reutilización de la salmuera de la etapa de salado en el beneficio artesanal del maní (*Arachis Hypogaea L.*) y cuantificar la cantidad de taninos presentes en la testa -episperma- del maní proveniente de la aldea de Xororaguá, Chiquimula.

Específicos

1. Evaluar la concentración de cloruros en la salmuera de la etapa de salado a lo largo de 6 ciclos de reutilización.
2. Determinar si la reutilización de la salmuera afecta la calidad del maní por medio de análisis de retención de cloruros y pruebas hedónicas.
3. Cuantificar la cantidad de taninos presentes en la salmuera sobrante al terminar el proceso de salado en el beneficio del maní a lo largo de sus 6 reutilizaciones.
4. Evaluar el pH de extracción de taninos por extracción sólido – líquido mediante técnica de maceración dinámica en función de pH, densidad y sólidos solubles.
5. Evaluar la cantidad de taninos presentes en la testa del maní al inicio y final del proceso procedentes de su beneficio artesanal.

6. Establecer el tipo de taninos presentes en los extractos obtenidos de la testa –episperma- del maní, identificándolos como hidrolizables o condensados.

HIPÓTESIS

Hipótesis científica

1. Es posible reutilizar la salmuera de cloruro de sodio en la etapa de salado del beneficio artesanal del maní sin alterar las propiedades del producto final.
2. Es posible realizar una extracción efectiva y cuantificar el contenido total de taninos presentes en la testa del maní (*Hypogaea Arachis L.*) proveniente de los cultivos de la aldea de Xororaguá, Chiquimula.

Hipótesis estadísticas

1. **Hipótesis nula**

No existe diferencia significativa entre la cantidad de cloruro de sodio presente en la salmuera a lo largo de sus 6 ciclos de reutilización.

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa entre la cantidad de cloruro de sodio presente en la salmuera a lo largo de sus 6 ciclos de reutilización.

2. **Hipótesis nula**

No existe diferencia significativa entre la cantidad de cloruro de sodio retenido en el maní a lo largo de sus 6 ciclos de reutilización.

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa entre la cantidad de cloruro de sodio retenido en el maní a lo largo de sus 6 ciclos de reutilización.

3. **Hipótesis nula**

No existe diferencia significativa entre la cantidad de taninos presentes en la salmuera a lo largo de sus 6 ciclos de reutilización.

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa entre la cantidad de taninos presentes en la salmuera a lo largo de sus 6 ciclos de reutilización.

4. **Hipótesis nula**

No existe diferencia significativa entre la cantidad de taninos presentes en la testa del maní cruda y la testa del maní ya procesada.

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa entre la cantidad de taninos presentes en la testa del maní cruda y la testa del maní ya procesada.

INTRODUCCIÓN

El departamento de Chiquimula, localizado en la región oriental de Guatemala, cuenta con un potencial de recursos naturales que permiten el desarrollo de diferentes cultivos, presentando condiciones favorables de suelo y clima que hacen posible la explotación de cultivos de granos básicos y hortalizas.

Uno de los cultivos de importancia económica en el oriente del país es el maní (*Arachis Hypogaea L.*) que constituye una fuente de ingresos para los pequeños y medianos agricultores, así como una fuente de trabajo para decenas de familias que participan en su ciclo de cultivo.

Toda actividad agroindustrial se enfrenta con el problema del manejo de los subproductos. En algunos casos, cuando la actividad agrícola ha contado con suficiente apoyo técnico se logra sacar provecho de dichos materiales y tener un impacto positivo en la economía de los productores agrícolas. Sin embargo, una gran parte de las tareas de cosecha y pos cosecha no han sido estudiadas en su totalidad y siguen efectuándose de forma artesanal sin obtener un mayor aprovechamiento de sus subproductos, ni logrando mayores ahorros en costos de procesamiento.

En el presente documento se presentan los resultados obtenidos de una investigación realizada con respecto a la optimización del uso de los recursos con los que cuenta el beneficio, así también, busca analizar los subproductos como posibles fuentes de ingresos.

Se busca determinar si la salmuera de la etapa de salado del beneficio artesanal de maní, puede reutilizarse para múltiples ciclos de salado, analizando así, el contenido de sal en la salmuera, la cantidad retenida por cada lote de maní salado y el contenido de taninos remanentes en la salmuera. A su vez, se realizaron pruebas hedónicas para determinar si la aceptabilidad del maní, por parte del consumidor, se veía afectada al ser procesada con salmuera recirculada.

Se analizaron también las condiciones bajo las cuales una maceración dinámica de la testa de maní obtiene su mejor rendimiento. Para realizar esto, se monitoreó la extracción de la testa del maní crudo y tostado con solventes a distintos valores de pH (8,9 y 10), midiendo periódicamente las propiedades de pH, densidad y sólidos en solución.

Luego de determinar la mejor opción para realizar la extracción de taninos de la testa del maní, se procedió a cuantificar el contenido tánico del extracto. La cuantificación se llevó a cabo por dos métodos distintos, el volumétrico de Lowenthal y el espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. De esta forma se logró comparar el contenido de taninos de la testa cruda con la testa tostada, así también, se logró observar la diferencia en la determinación de polifenoles entre ambos métodos.

1. ANTECEDENTES

En 2004, Edson Gómez realizó las extracciones de taninos con un medio acuoso y cuantifica el contenido tánico de la corteza y la madera del encino (*quercus tristis lebm*) por medio de los métodos de Lowenthal y Stiasny.

En 2004, Madeleine Equité comparó la extracción de taninos de la corteza de melina melina (*gmelina arborea roxb.*) por un solvente acuoso con una solución de sulfito de sodio al 2%. Concluye que el mejor método de extracción de la corteza del árbol es la que utiliza el sulfito de sodio al 2%.

En 2005, Otto Cerezo recomendó el empleo de etanol al 70% para realizar la extracción de taninos del fruto del palo de cera o arrayán (*myrica cerífera l.*) ya que éste aumenta la cantidad de taninos extraídos.

En 2009, Natalia Espinal recomendó la utilización de tamizajes fitoquímicos para la detección de los metabolitos secundarios presentes en el extracto vegetal realizado.

Claudia Montenegro (2009), en su trabajo de graduación detalla las variables que influyen en la operación unitaria de separación sólido-líquido, y propone un monitoreo al proceso por medio de tres parámetros de respuesta como el pH, la densidad y cantidad de sólidos solubles.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Taninos

Es una denominación química muy amplia que abarca una gran variedad de compuestos polifenólicos, no nitrogenados y no volátiles que se encuentran comúnmente en los extractos vegetales y frutas. Anteriormente los taninos eran definidos como compuestos fenólicos hidrosolubles que tienen una masa molecular comprendida entre 500 y 3000 y presentan, junto a las reacciones clásicas de fenoles, la propiedad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas. Esta definición sigue siendo válida, pero ha perdido interés desde que se comienza a tener una idea precisa de la estructura química exacta de estos polifenoles, que son los proantocianidoles y los ésteres de los ácidos gálico y elágico.

Hemingway en 1992, ha definido los taninos como: “productos naturales fenólicos que pueden precipitar las proteínas a partir de sus disoluciones acuosas”¹.

El rápido desarrollo de los métodos de investigación estructural ha permitido grandes progresos en el conocimiento de la estructura de los taninos. Esto ocurre especialmente con la espectrometría de masas por bombardeo de átomos rápidos que permite, a pesar de la polaridad y de la inestabilidad térmica de estas grandes moléculas, determinar su masa molecular y observar las fragmentaciones significativas, sobre todo añadiendo a la matriz sales que permiten la observación de picos.

¹ HEMINGWAY, Richard; LAKS, Pete. *Plant Polyphenols: Synthesis, Properties, Significance*. p.253.

Los taninos son metabolitos secundarios de las plantas, es decir, son compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es fatal para la planta, ya que no intervienen en su metabolismo primario. Los metabolitos secundarios de las plantas intervienen en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente.

Los taninos poseen un comportamiento ácido en soluciones acuosas, siendo solubles en agua, alcohol etílico diluido, acetona, parcialmente solubles en glicerol y acetato de etilo. Tienen un ligero olor característico, sabor amargo y astringente, y su color va desde el amarillo hasta el castaño oscuro. Expuestos al aire se tornan oscuros y pierden su efectividad para el curtido, pero su principal característica es la habilidad para precipitar proteínas y consecuentemente la curtición de cueros.

El resultado del curtido es el establecimiento de enlaces entre fibras de colágeno de la piel, lo que confiere a la misma una resistencia al agua, al calor y a la abrasión. Esta capacidad de los taninos de combinarse con las macromoléculas explica que precipiten celulosa, pectinas y proteínas. También explica su astringencia, ya que al precipitar las glicoproteínas ricas en prolina que contiene la saliva, hacen que ésta pierda su poder lubricante y se perciba la sensación de astringencia.

2.2. Clasificación de los taninos

Hay dos categorías de taninos clasificados, basándose en su vía de biosíntesis y sus propiedades químicas: hidrolizables y condensados.

2.2.1. Taninos hidrolizables

Son oligo - poliésteres de un azúcar (o de un poliol relacionado) y de un número variable de moléculas de ácido fenol. El azúcar, generalmente es la glucosa. El ácido fenólico es el ácido gálico en el caso de los taninos gálicos, o el ácido hexahidroxidifénico (HHDP) y sus derivados de oxidación (dehidrohexahidroxidifénico = DHHDP o ácido chebúlico), en el caso de los taninos clásicamente denominados taninos elágicos. Por tal razón se destacan dos tipos de taninos hidrolizables: gálicos y elágicos.

Por regla general, los taninos gálicos son ésteres del ácido gálico y de la glucosa. Sin embargo, es preciso señalar que las mono- y las digaloiilglucosas no presentan las propiedades clásicas de los taninos, siendo su masa molecular demasiado baja. Estas propiedades, en particular la capacidad de precipitar proteínas, las poseen de hecho los triésteres y sus homólogos superiores, como la pentagaloilglucosa.

Cuando se tratan con soluciones de hierro (III) los taninos hidrolizables tiñen la solución con un color azul oscuro, debido a la formación de complejos coloreados de baja solubilidad, entre los taninos y el hierro catiónico.

2.2.2. Taninos condensados

Los taninos condensados, también son llamados proantocianidoles, haciendo referencia a que en medios ácidos y en caliente estas moléculas dan lugar a los antocianidoles.

Son polímeros sintetizados por la vía biosintética de los flavonoides. Están constituidos por unidades de flavan-3-oles ligadas entre sí por enlaces

carbono-carbono resultantes de un acoplamiento entre un carbono electrofílico y una posición nucleofílica de otro flavan-3-ol. También son llamados taninos catéquicos o catequínicos, ya que el grupo estructural del que se derivan es de la catequina (grupo representativo de los flavan-3-oles).

Los taninos condensados al ser tratados con soluciones de hierro (III) tiñen la solución con un color verde oscuro, debido a la formación de complejos coloreados de baja solubilidad entre los taninos y el hierro catiónico.

2.2.3. Taninos complejos

Son elagitaninos modificados que resultan de la adición de un derivado fenilcromático sobre una molécula del éster HHDP de la glucosa: flavanol (flavano-elagitanino), procianidol (procianidino-elagitanino), flavonol (flavono-elagitanino). Se consideran no hidrolizables, ya que son difíciles de hidrolizar y cuando se tratan con calor y en ácidos minerales originan polímeros de alto peso molecular.

2.3. Estructura y formación de los taninos

Debido a la diferencia en la estructura molecular de los distintos tipos de taninos, es de suponer que todos estos son sintetizados por rutas metabólicas distintas. A continuación se detalla el origen y la formación de los taninos hidrolizables y condensados.

2.3.1. Taninos hidrolizables

Biogenéticamente, el ácido gálico (ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico) es producto del metabolismo del ácido shikímico. Es probable que se forme por

des hidrogenación directa del ácido 3-dehidroskímico y en algunos casos especiales, por oxidación del ácido protocatéquico (que deriva del ácido caféico). Ver apéndice 4.

La glucosilación del ácido gálico requiere la intervención de la uridindifosfoglucosa (UDP-glucosa) y generalmente se admite con base en experiencias in vitro que la monogaloilglucosa formada – la β glucogalina – puede dar lugar posteriormente, funcionando tanto como dador o aceptor de glucosa, a un diéster, el 1,6-di-O-galoil- β -D-glucosa y así sucesivamente vía los derivados 1,2,6 – tri - O- y 1,2,3,6 – tetra –O - galoilados, hasta llegar a la pentagaloilglucosa. Ver apéndice 4.

En los vegetales la pentagaloilglucosa ocupa una posición central en el metabolismo de los taninos. La mayor parte de los vegetales son susceptibles a proseguir el metabolismo de esta molécula y de sus homólogos en dos direcciones: la evolución hacia una molécula más pesada, o la formación de taninos elágicos. La evolución a un tanino gálico más pesado se da por la unión de cadenas laterales de diversos ácidos gálicos. Ver apéndice 4.

En la formación de taninos elágicos, el acoplamiento oxidativo de los grupos galoílicos de la molécula de pentagaloilglucosa engendra un grupo hexahidroxidifenílico dicarboxílico (HHDP). La pentasustitución de la glucosa permite varios acoplamientos entre los residuos gálicos cercanos para formar ésteres hexahidroxidifénicos. El resto de los carbonos de la glucosa pueden estar libres (unidos a un grupo hidroxilo) o esterificados con otro grupo gálico o un ácido dehidrogálico. Ver apéndice 4.

Diversos elagitaninos poseen en su estructura una cadena trigálica (por ejemplo el valoneil, macaranoil o tergaloil) que procede de la eterificación del grupo HHDP por un ácido gálico.

Posteriormente, el metabolismo de estos ésteres HHDP puede proseguir la oxidación del HHDP a DHHDP (característico de los dehidroelagitaninos), luego la apertura y reagrupamiento de los ciclos HHDP. En algunos elagitaninos se produce una apertura del ciclo piránico de la glucosa que permite la reacción de la función aldehídica liberada sobre un núcleo aromático de un resto galóilico. Finalmente, la condensación de este tipo de molécula (vía su C-1) con el C-8 o el C-6 de un flavano (o de una flavona) conduce a los complejos.

El acoplamiento oxidativo (C-C o C-O-C) intermolecular de las moléculas descritas anteriormente explica la existencia de un gran número de oligómeros elágicos de masa molecular comprendida entre 2000 y 5000. Así, la rugosina D, aislada de la ulmaria (*Filipéndula ulmaria*), con una masa molecular de 1874, es el dímero de la telimagrandina II o 1,2,3-tri-O-galoil-4,6-O-O-hexahidroxidifenoil- β -D-glucosa.

La diversidad de estructuras encontradas ha llevado a algunos autores a proponer su clasificación en función de la naturaleza de los grupos implicados en la unión de las unidades monómeras (ácido gálico, HHDP) y de su forma de enlace. La utilización de estos criterios permite distinguir cinco grupos:

- GOG: la unidad de enlace está compuesta por dos (o tres) residuos galóilo (G) unidos por un enlace éter.
- DOG: la unidad de enlace es de tipo tergalóilo o valoneilo, enlace éter entre un HHDP (D) y un resto galóilo.

- GOD: acoplamiento oxidativo entre el carbono de un HHDP y el oxígeno de un resto galoilo asegura el enlace de los dos monómeros.
- D(OG)₂: la unidad de enlace de los monómeros implica dos enlaces éter entre los hidroxilos de dos restos galoilo y un HHDP.
- Oligómeros de elagitaninos.

2.3.2. Taninos condensados

Las proantocianidinas (taninos condensados) son polímeros de flavonoides. Los flavonoides son un grupo diverso de metabolitos basados en un sistema con un anillo heterocíclico derivado de la fenilalanina. A pesar de que las rutas biosintéticas de los flavonoides están bien estudiadas, los pasos para la condensación y polimerización de estos no han sido elucidados. El esqueleto flavonoide que compone las proantocianidinas se muestra en el apéndice 5. Se muestran las letras estándar para identificar los anillos y el sistema de numeración de carbonos.

Los taninos condensados más ampliamente estudiados están basados en dos flavan-3-oles: la (-)-epicatequina y (+)-catequina. En estas moléculas la adición de un tercer grupo fenólico al anillo B produce epigalocatequina y galocatequina respectivamente. También se pueden encontrar flavan-3-oles mucho menos comunes con un solo grupo fenólico en el anillo B, en posición *para* al C-2 (epiafzelequina y afzelequina respectivamente). Ver apéndice 5.

Los taninos condensados mejor caracterizados poseen una unión carbono-carbono entre el C8 y el C4 de dos flavan-3-oles. Las cuatro formas comunes de esta unión son llamadas B-1, B-2, B-3 y B-4 y se muestran en el

apéndice 5. En adición a estos dímeros, otras uniones entre el C-6 y el C-4 han sido aisladas.

Si se continúa la polimerización lineal entre carbonos 4 y 8 de los flavonoides descritos se obtiene uno de las proantocianidinas más simples. Otros polímeros basados en uniones 4,6 y ramificados con dímeros con enlaces 4,8 y 4,6 son menos comunes. Un grupo importante de los taninos condensados son los polímeros de los 5-deoxi-flavan-3-oles. La ramificación es muy común en estos taninos. Ver apéndice 5.

Las proantocianidinas sufren de una ruptura oxidativa de los enlaces entre los monómeros cuando son tratados con alcoholes calientes, tal es el caso del butanol ácido. Los productos de la reacción con butanol ácido son: un monómero terminal no modificado y antocianidinas coloreadas producidas por las moléculas no terminales del polímero. Los polímeros basados en catequina y epicatequina producen cianidina, por tal razón son llamados procianidinas. Ver apéndice 5.

La reacción con butanol ácido puede realizarse con un agente nucleofílico para producir las unidades monoméricas unidas al nucleofílico. De esta forma se pueden separar y cuantificar por medio de una HPLC para determinar su composición y calcular pesos moleculares promedio. Para este fin pueden utilizarse el floroglucinol.

Los flavan-3,4-dioles son flavonoides monoméricos que producen antocianidinas cuando son tratadas con calor y ácido. Por tal razón, tienen una química similar a la de los taninos condensados pero no poseen la habilidad de interactuar con las proteínas formando complejos insolubles.

2.4. Función biológica de los taninos

Los taninos en el reino vegetal son metabolitos secundarios. A diferencia de los metabolitos primarios como los azúcares, la síntesis de los taninos depende de factores ambientales y genéticos. Por ejemplo, en el caso de las manzanas se ha observado que cuando estas crecen en un entorno con bajo contenido en nitrógeno y condiciones de clima adversos, estas tienden a sintetizar una mayor cantidad de taninos. Los taninos cumplen funciones de defensa y protección y posiblemente intervienen en la regulación del crecimiento. En las plantas cumplen funciones de defensa ante el herbivorismo.

Los taninos pueden inactivar las enzimas digestivas de los herbívoros y crear complejos agregados de taninos y proteínas de plantas que son difíciles de digerir. En general son toxinas que reducen significativamente el crecimiento y la supervivencia de muchos herbívoros cuando se adicionan a su dieta. Además, tienen potencial de producir rechazo al alimento (*antifeedants* o *feeding repellents*) en una gran diversidad de animales. Las frutas no maduras, por ejemplo, con frecuencia tienen altos contenidos de taninos, que pueden estar concentrados en las capas celulares más externas de la fruta.

Los taninos de las plantas también funcionan como defensas contra los microorganismos. Por ejemplo, el corazón de madera muerta de muchos árboles contiene altas concentraciones de taninos que ayudan a prevenir el desmoronamiento por ataques de hongos y bacterias patógenos.

2.5. Uso industrial de los taninos

El empleo de los taninos en la industria está ligado a sus diversas propiedades químicas tales como la precipitación de proteínas, que es usada

tanto en la industria de curtición de pieles como en la farmacéutica por sus propiedades astringentes.

2.5.1. Industria tenera

Durante un proceso de curtición se lleva a cabo la unión entre las fibras de la triple hélice del colágeno para garantizar su resistencia al ataque microbiano y evitar la putrefacción de la dermis de la piel a curtir. Debe de realizarse mediante un agente externo, el cual es llamado agente curtiente. Este agente curtiente debe de ser capaz de unirse a las cadenas polipeptídicas que conforman al colágeno entre dos cadenas distintas a la vez, para realizar esto se necesita que dicho agente tenga una reactividad adecuada y un peso molecular adecuado que permita las uniones mencionadas.

Debido a las propiedades de los taninos, éstos han funcionado como un agente curtiente desde los inicios de la fabricación de cuero por el hombre. Para curtir con taninos es necesario realizar el extracto tánico de una especie vegetal de conocida capacidad curtiente. Entre los extractos curtientes comerciales se encuentran los siguientes:

- Extracto de pino, de gran astringencia, da al cuero un color rojizo.
- Extracto de encina, da cueros firmes de color pardo amarillento.
- Extracto de zumaque, es un extracto suave que penetra rápidamente en la piel, da cuero de tacto suave y flexible y de color muy claro.
- Extracto de valonea, de gran astringencia da cueros de color amarillento bastante impermeables.

- Extracto de castaño, de astringencia elevada, da cueros firmes de color avellana. Este extracto es el más sólido a la luz.
- Extracto de mimosa, fácilmente soluble en agua, da cueros flexibles de color beige amarillento.
- Extracto de quebracho natural da cueros firmes, solubles en frío por bisulfitación da cueros más flexibles y suaves.

2.5.2. Industria farmacéutica

En las plantas medicinales se atribuye a los taninos la capacidad de la curación de heridas y cuidado de la piel. Los taninos cumplen una función cicatrizante al acelerar la curación de las heridas y hemostática, al detener el sangrado. La cicatrización se produce por la formación de las costras al unir las proteínas con los taninos y crear un medio inadecuado para el desarrollo de las bacterias u otros organismos. Al constreñir los vasos sanguíneos ayudan a la coagulación de la sangre, y por tanto, contribuyen a la curación de las heridas. Entre las numerosas aplicaciones se pueden mencionar:

- Tratamiento de hemorroides
- Curación de las úlceras de la boca
- Cuidado de la piel
- Detención de la diarrea
- Antioxidantes
- Antibacterianas
- Antídotos contra venenos
- Reducción del colesterol

2.6. Cuantificación de taninos

Debido a la naturaleza diversa de los taninos, la elección de un método de análisis para cuantificar el porcentaje de estos compuestos en una muestra dada debe ser efectuada cuidadosamente. Debe tomarse en cuenta el tipo de muestra, la disponibilidad de reactivos, disponibilidad de equipo y principalmente el tipo de taninos que se desea cuantificar.

Existe una amplia gama de métodos para realizar el análisis cuantitativo de los taninos presentes en una muestra. Estos métodos se basan en tres propiedades de los taninos:

- Habilidad de precipitar proteínas y alcaloide
- Reactividad de sus anillos fenólicos
- Productos de su despolimerización

En la tabla I presentada por Hemingway (1992), se enlistan algunos de los métodos más comunes para la determinación de taninos.

2.6.1. Precipitación de proteínas y alcaloides

La capacidad de los taninos para precipitar proteínas (relacionada con su capacidad curtiente) es uno de los principales atractivos para el estudio de dichos compuestos. Otra razón, es que se cree que su actividad biológica se debe a su interacción con proteínas.

Tabla I. **Métodos de análisis de taninos**

Tipo de ensayo	T	PA	GT	ET
Precipitación de proteínas y alcaloides				
Absorción en una columna de piel en polvo	X			
Precipitación de proteína en solución	X			
Difusión en gel	X			
Precipitación en papel de cromatografía	X			
Reacción con anillos fenólicos				
<i>Fenoles totales</i>				
Acomplejamiento con iones férricos	X			
Acomplejamiento con iones de titanio	X			
Reducción de permanganato (Método de Lowenthal)	X			
Reducción de iones férricos (ej.: método del azul de Prusia)	X			
Reducción del reactivo fosfotungsténico-fosfomolibdénico	X			
Reacción con iodo alcalino (Método de Shaw)	X			
Reacción de retro titulación de oxalato (Método de Stamm)	X			
<i>m – Difenoles</i>				
Reacción con vainillina	X			
Reacción con formaldehído (Método de Stiasny)		X		
<i>o – Difenoles</i>				
Reducción de ácido nitroso (Método de Bate-Smith)				X
Reducción de yodato de potasio			X	
Despolimerización				
Despolimerización oxidativa en ButOH/HCl		x		
Hidrólisis con estimación de ácido gálico			x	
Hidrólisis con estimación de ácido elágico				X
T = Taninos totales, PA = Proantocianidinas, GT = Taninos Gálicos, ET = Taninos Elágicos				

Fuente: HEMINGWAY, Richard W. *Plant Polyphenols: Synthesis, Properties, Significance. Volumen 1.* p. 260.

2.6.1.1. Absorción de columna de piel en polvo

Se hace pasar una solución tánica a través de una columna de piel en polvo, con el fin de que los taninos se queden adheridos a las proteínas del tejido. La cantidad de taninos absorbidos por la columna de piel es determinada pesando la piel antes y después de la absorción de la solución tánica, seguidamente se efectúa la resta de los valores obtenidos y dicho valor corresponde a la cantidad de taninos absorbidos.

Este método posee algunas desventajas. La primera de ellas es que se necesitan grandes cantidades de solución tánica para efectuar el análisis. Es un procedimiento engorroso y consume grandes cantidades de tiempo. Puede darse una sobre estimación del contenido tánico de la solución, ya que otros compuestos fenólicos como el ácido gálico pueden ser también retenidos por la columna.

2.6.1.2. Precipitación de proteína en solución

Numerosos métodos basados en esta propiedad de los taninos han sido desarrollados por biólogos y ecólogos. Estos métodos difieren entre sí por la forma de medir la proteína precipitada por los taninos, ya sea midiendo su concentración en el sobrenadante o midiendo la cantidad de proteína precipitada, redisolviéndola en soluciones acuosas de NaOH calientes.

También difieren en la proteína elegida para realizar la precipitación. Se han desarrollado métodos en los que se utiliza hemoglobina (proteína esencial en el transporte de oxígeno en el torrente sanguíneo), proteínas marcadas con tinta, proteínas radiomarcadas, enzimas como la β -glucosidasa, albumina de

suero bovino (BSA), etc. Las proteínas en la solución sobrenadante que no han sido marcadas pueden ser cuantificadas por el método de la ninhidrina.

Muchos factores afectan la precipitación de las proteínas en solución. La temperatura no tiene mayor influencia si se mantiene baja o a temperatura ambiente. El pH de la solución es un factor muy importante, ya que la precipitación se maximiza al alcanzar el punto isoeléctrico de la proteína. El solvente utilizado para realizar la extracción de los taninos también puede afectar, tal es el caso de la acetona, el metanol, dioxano entre otros.

Los factores más importantes a tomar en cuenta son: el tipo de polifenoles y la concentración de las proteínas en solución. Cambios en la estructura de los taninos influyen directamente en su capacidad astringente, y por lo tanto, en su habilidad para precipitar proteínas. Por tal razón, los resultados de estos métodos son comúnmente presentados como cantidad de proteína precipitada por unidad de masa de la muestra y no como la cantidad de taninos presentes en el extracto.

2.6.1.3. Difusión en gel

Se prepara un gel que contiene BSA (albúmina de suero bovino) y se introduce en un recipiente circular. Luego se forma un agujero central en el cual se deposita el extracto tánico a analizar. La difusión de los taninos en el gel provoca una precipitación radial de la proteína de la albúmina, y el alcance que esta precipitación tenga será directamente proporcional a la concentración de taninos en el extracto.

Para este método no se requieren grandes cantidades de extracto tánico ni equipos especializados. Tampoco se ve muy afectado por el solvente con el

que fueron extraídos los taninos y los fenoles pequeños como el ácido gálico y catequina no interfieren con los resultados.

2.6.1.4. Precipitación en papel de cromatografía

Una cantidad muy pequeña de solución tánica (5-50 μ g) es aplicada sobre un papel de cromatografía. El papel es rociado con una solución de BSA y luego es lavado con un buffer de acetato. Posteriormente las proteínas fijadas a los taninos son teñidas con solución de tinción de Ponceau S. Después de un nuevo lavado con ácido acético al 0,2%, el color se enjuaga con NaOH diluido y es analizado por medio de un espectrofotómetro.

2.6.2. Reactividad con los anillos fenólicos

Dependiendo del tipo de taninos a determinar se podrán encontrar diversos grupos que conforman la estructura total del tanino. Por tal razón es necesario determinar con que grupos reaccionará el reactivo con el que se realizará la prueba, ya que no todos los reactivos reaccionan con todos los grupos presentes en los taninos.

2.6.2.1. Determinación de fenoles totales

Se han desarrollado variados métodos colorimétricos para la determinación de fenoles totales en extractos tánicos. Están basados en la formación de complejos con metales como el hierro o el titanio, en la reducción de iones férricos a ferrosos o en la reducción del reactivo de Folin (fosfotungsténico-fosfomolibdénico).

2.6.2.1.1. Acomplejamiento con iones férricos

Se han utilizado mezclas de iones férricos con SDS/ trietanolamína para la determinación de taninos. En agua los iones férricos forman complejos coloridos con fenol, resorcinol o floroglucinol pero no con catecol y pirogalol. Estos dos últimos fenoles forman complejos coloridos en metanol. La mayoría de los complejos son inestables, probablemente debido a las reacciones redox. A pesar de que no se han realizado estudios a detalle sobre la estabilidad y el color en las mezclas de SDS/ trietanolamína, se sabe que este método proporciona una tendencia lineal sobre un amplio rango de absorbancia (0 – 3,0), pero es casi ocho veces menos sensible que el ensayo de Folin – Denis.

2.6.2.1.2. Reducción con permanganato

Este ensayo volumétrico es comúnmente llamado método de Lowenthal. Consiste en la determinación de los fenoles totales en un extracto vegetal por medio de una reducción de permanganato de potasio con índigo de carmín como indicador. Este es uno de los métodos más utilizados para la determinación de taninos, ya que no requiere de equipo altamente sofisticado y proporciona una buena reproducibilidad en los resultados obtenidos.

Muchos autores refieren un distinto procedimiento para la realización de este ensayo, pero la mayoría difiere solamente en el método de extracción del extracto vegetal, concordando siempre en el procedimiento de la titulación.

Los productos de la reacción de oxidación de los taninos son compuestos indeterminados, que pueden o no ser aun susceptibles a oxidaciones posteriores. Por tal razón, este análisis puede brindar una buena precisión sólo si se lleva a cabo en condiciones muy bien estandarizadas.

Este método también se puede utilizar en la determinación indirecta de los taninos en el extracto realizando una titulación más. Si se trata el extracto vegetal con una solución de proteína (como la gelatina) y saturada con cloruro de sodio se asegurará la remoción de todos los taninos en solución. Finalmente se vuelve a utilizar el método de Lowenthal para la solución libre de taninos. La cantidad neta de taninos en el extracto original se obtiene entonces por la diferencia entre el valor de la primera y segunda titulación.

Es necesario mencionar que este método de análisis va acompañado, como es de esperarse, por la titulación de una blanca para la corrección de los datos obtenidos, ya sea por el método directo o indirecto de Lowenthal.

2.6.2.1.3. Reducción de iones férricos

Otro método se basa en la reducción de iones férricos a ferrosos y su detección por medio de la formación de azul de prusia (quelato hexacianoferrato II). Este método es muy sensible. La mayoría de los fenoles (excepto el resorcinol), reducen el ión férrico con un rendimiento que depende de su estructura. Este método debe efectuarse bajo estricto control del pH.

2.6.2.1.4. Métodos de Folin: reducción del Reactivo fosfotungsténico – fosfomolibdénico

Este método inicialmente llamado Folin-Denis fue modificado al adicionarle sulfato de litio al reactivo de Folin, para evitar formación de precipitados es llamado Folin-Ciocalteu. Ambos métodos se basan en la reducción del reactivo fosfotungsténico-fosfomolibdénico.

El reactivo de Folin-Ciocalteu es una solución de iones poliméricos complejos formados por poli ácidos de fosfomolibeno y fosfotungsteno. El reactivo oxida los fenolatos, reduciendo los poli ácidos a un complejo azul de molibdeno y tungsteno. Los fenolatos sólo están presentes en soluciones alcalinas pero el reactivo y sus productos son inestables en álcali. Por tal razón se suele utilizar moderadas alcalinidades y concentraciones altas del reactivo.

Los dos métodos han sido comparados. El método Folin-Ciocalteu es ligeramente más sensible y el máximo de absorbancia no es tan amplio como el del método Folin-Denis. La estructura del colorante formado como producto de la reacción es independiente del tipo de fenol y la longitud de onda de máxima absorción es constante (760 nm).

Existen varios parámetros que afectan la reacción. La secuencia y los tiempos de adición de los reactivos debe de ser cuidadosamente controlada. La reacción puede ser llevada a cabo a temperatura ambiente durante dos horas o a 50 °C por 5 minutos. Algunas sustancias interfieren con el ensayo, tales como: el ácido ascórbico, iones ferrosos, dióxido de azufre, algunos aminoácidos fenólicos, entre otros. Los azúcares con grandes concentraciones, también pueden interferir. El método de Folin-Ciocalteu es menos sensible a las interferencias que el de Folin-Denis. Este método es uno de los más apropiados para determinar las concentraciones absolutas de mezclas fenólicas en extractos vegetales.

2.6.2.1.5. Reacción con yodo alcalino

También conocido como método de Shaw, se basa en la oxidación del yodo en medio alcalino. Inicialmente se agrega al extracto tánico un exceso de

solución de yodo y el remanente es retro valorado con cualquier método, para valoración de yodo después de 30 minutos de iniciado el análisis.

El tipo de reacción efectuada en este ensayo, facilita la detección del punto final de la titulación y es mejor apreciable que el método de Lowenthal. Pero al igual que en este método, su principal problema radica en los productos de oxidación indeterminados y es necesario estandarizar el procedimiento y condiciones de análisis para asegurar una precisión aceptable.

Al igual que en el método de Lowenthal, se puede llevar a cabo una determinación indirecta de taninos por medio de una segunda titulación libre de taninos. Cada titulación efectuada debe de realizarse comparándola con una blanca para efectos de corrección de datos.

2.6.2.1.6. Reacción con retro titulación de oxalato

Con este ensayo se busca lograr una oxidación completa de todos los taninos presentes en solución. Para llevar esto a cabo se trata el extracto con un exceso de permanganato de potasio en medio alcalino, se deja reaccionar por 30 minutos y luego se acidifica la solución, para adicionarle otro exceso conocido de ácido oxálico y calentar la solución a 50 °C. Finalmente el exceso de ácido oxálico es titulado con permanganato de potasio sin necesidad de indicadores. Este ensayo toma el nombre de método de Stamm.

La diferencia principal entre el método de Stamm y el de Lowenthal presentado anteriormente radica en los productos de oxidación del ensayo. En el método de Lowenthal los productos de la reacción son indeterminados y son susceptibles a oxidaciones posteriores. El método de Stamm provoca una

oxidación completa de los taninos en solución y por lo tanto es más exacto que Lowenthal.

Por tales razones se puede afirmar que, cuando se desea analizar un extracto con taninos inicialmente oxidados, como es el caso de los taninos en el te fermentado, el método más confiable es el de Stamm, ya que proporciona una mayor exactitud, precisión y seguridad de que todos los taninos fueron oxidados completamente. Cuando se desea analizar la cantidad de taninos que no están inicialmente oxidados por algún proceso fermentativo y no se buscan exactitudes muy altas, el método más aconsejable es el de Lowenthal, por ser menos engorroso que el de Stamm.

Cabe mencionar que para el ensayo de Stamm, también puede hacerse una determinación de taninos indirecta con la ayuda de un análisis a un extracto libre de taninos.

2.6.2.2. Reacción con m-difenoles

Los m-difenoles reaccionan con aldehídos como el benzaldehído o el cinamaldehído en soluciones ácidas. Los alcoholes metílicos formados forman carbocatiónes coloridos en ácido concentrado. Esta reacción ha sido desarrollada como un ensayo cuantitativo para proantocianidinas

2.6.2.2.1. Reacción con vainillina

La vainillina (el aldehído de la vainilla), el aldehído más utilizado, da un color rojo con proantocianidinas y su longitud de onda óptima es de 640 nm. Otro aldehído, el 4-dimetilaminocinamaldehído, da un color verde, el cual es útil

en la estimación de proantocianidinas en extractos coloridos, su longitud de onda óptima es de 500 nm.

El medio ácido puede ser proporcionado tanto por ácido clorhídrico como por ácido sulfúrico. Sin embargo, muchos autores prefieren utilizar el método de vainillina-ácido sulfúrico. Se alcanzan mayores intensidades de color, aumenta la sensibilidad del ensayo, se tiene una tendencia lineal cuando se utiliza catequina como estándar. El aumento en la sensibilidad podría deberse a un aumento en estabilidad del carbocatión.

La mayor parte de los m-Difenoles reaccionan en el método vainillina-ácido sulfúrico en una proporción casi estequiométrica. El ácido gálico, con su anillo de pirogalol desactivado por el grupo carboxilo no reacciona con vainillina, y por tanto los taninos hidrolizables no interfieren en este ensayo para proantocianidinas.

Los polímeros de proantocianidinas son mucho menos reactivos que las catequinas monoméricas de las que se derivan. Por tal razón, el método de la vainillina detectará cualquier monómero o flavonol polimérico pero no detectará adecuadamente las proantocianidinas en un extracto cuando se utiliza catequina como estándar.

2.6.2.2.2. Reacción con formaldehído (Método de Stiasny)

El formaldehído también reacciona con m-difenoles como la catequina dando un precipitado. Esta reacción es comúnmente llamada método de Stiasny, y ha sido utilizada en la determinación de taninos condensados en extractos tánicos. En este ensayo, la precipitación puede ser estimada por

medio de la determinación de fenoles totales (Folin-Ciocalteu), en solución antes y después de la adición del aldehído.

Existe una modificación al método de Stiasny por medio de la adición de floroglucinol, el cual promueve la precipitación completa de fenoles como el resorcinol. Desafortunadamente el floroglucinol también induce a la precipitación de ácidos gálicos y elagitaninos. Por tal razón esta modificación al método no es recomendable cuando existen varios tipos de fenoles simultáneamente en el extracto.

Otra modalidad del método de Stiasny es por medio de gravimetría. Se adicionan el formaldehído en solución de ácido clorhídrico. Se filtra el precipitado luego de calentar a reflujo y se seca el sólido en un horno durante un día. Luego se pesa el producto obtenido para determinar la cantidad de taninos condensados precipitados por medio de la diferencia con la cantidad inicial de extracto en solución.

2.6.2.3. Reacción con o-difenoles

Estos métodos de análisis de taninos se basan en la coloración rosa o roja que se obtiene al reaccionar los o-difenoles con reactivos como el ácido nitroso y el yodato de potasio en solución acuosa.

2.6.2.3.1. Reacción de ácido nitroso (Método de Bate – Smith)

El ácido nitroso, obtenido a partir de nitrito de sodio en un ácido diluido, ha sido utilizado comúnmente como un reactivo para elagitaninos, ya que presenta una coloración rosa o roja instantánea, que cambia lentamente a azul o violeta.

Este color azul es lo suficientemente estable en ausencia de nitrógeno como para realizar un análisis cuantitativo de taninos, a dicho análisis se le conoce como método de Bate-Smith.

No es muy sensible, pero es específico para los grupos hexahidroxidifenílicos (HHDP) de los elagitaninos. Este método ha sido probado en muestras que contienen tanto elagitaninos como proantocianidinas y su especificidad para el HHDP ha sido confirmada. Los parámetros como la concentración de metanol, temperatura y pH afectan el tiempo en que se alcanza la máxima absorbancia del análisis, pero la absorbancia final es la misma independientemente de los parámetros utilizados.

Existen dos métodos muy similares al de Bate-Smith, difieren de éste en que el reactivo contiene hidróxido de sodio en el caso del reactivo de Hoepfner y molibdato de sodio en el reactivo de Arnou. Sin embargo ambos métodos no han sido utilizados para la determinación de taninos.

2.6.2.3.2. Reacción de yodato de potasio

Este método se basa en la formación de un colorante rosa o rojo cuando reacciona yodato de potasio con los galotanimos en cromatografías de papel. Sin embargo, es difícil analizar extractos que contienen otros tipos de polifenoles, ya que se obtienen colores oscuros en vez del color rosa característico.

2.6.3. Despolimerización

Los métodos basados en la despolimerización de los taninos han sido aplicados tanto a proantocianidinas como a taninos hidrolizables. La

confiabilidad que se le pueda atribuir a estos métodos depende que tan bien representen los productos de la despolimerización al compuesto bajo análisis y en el rendimiento de ésta.

2.6.3.1. Despolimerización de proantocianidinas

Cuando las proantocianidinas son tratadas con soluciones calientes de ácido mineral éstas producen antocianidinas coloreadas con una absorbancia máxima en 550 nm. Las antocianidinas provienen del auto oxidación de los carbocatiónes, formados por la ruptura de los enlaces entre los flavonoides. Sin embargo, es común observar reacciones secundarias que conllevan a la formación de polímeros café – rosáceos llamados flobáfenos, los cuales absorben a los 450 nm.

Se han realizado estudios acerca de la proporción del solvente en la mezcla reactiva. Se ha encontrado que reemplazando el agua por alcohol isopropílico o n-butanol se incrementa significativamente la absorbancia a los 550 nm y disminuye a 450 nm.

La adición de iones de metales en transición, los cuales aceleran la auto oxidación, incrementan el rendimiento de los colores. Diferentes metales como Co(III), Cu(II), Fe(III) o Mn(III) han sido comparados y el Fe(III) resultó ser el más eficiente.

2.6.3.2. Despolimerización de taninos gálicos

Los esteres gálicos y de HHDP son ambos hidrolizados fácilmente en ácidos diluidos y producen ácido gálico y elágico respectivamente. La

determinación de ácido gálico y elágico por cromatografía o colorimetría permite la estimación indirecta de galotaninos y elagitaninos.

Los ésteres gálicos pueden ser hidrolizados en una solución 1 M de ácido sulfúrico por 24 horas, y el ácido gálico resultante estimado con cromatografía o por medio de reacción con rodamina en medio ácido. La rodamina es un reactivo selectivo al ácido gálico, no reacciona con esteres gálicos, catequina, gomas, procianidinas, etc. Presenta una coloración roja en solución con un máximo de absorción en 520 nm. La rodamina reacciona con hidroquinona o naftoquinona pero al formar un compuesto de color verde (655 nm) no afecta el ensayo.

2.6.3.3. Despolimerización de taninos elágicos

Muestras sólidas que contienen ésteres de HHDP pueden ser hidrolizados, también con una solución 1 M de ácido sulfúrico. El residuo, junto con el ácido elágico formado por la hidrólisis es lavado y acidificado con acetona acuosa para remover los pigmentos que puedan interferir. El ácido elágico es entonces solubilizado con piridina y analizado por la formación de un aducto de color rojo por la adición de ácido clorhídrico a nitrito de sodio.

Fenoles como el ácido gálico, catequina, gomas, procianidinas, ácido tánico entre otros, dan una coloración amarillo-café que podría interferir con el ensayo, pero se asume que son removidos con la hidrólisis realizada. La duración de la reacción con ácido nítrico debe ser cuidadosamente controlada, ya que la absorbancia máxima se obtiene a los 36 minutos de iniciada la reacción y se reduce rápidamente después.

2.7. Maní (*Arachis Hypogaea*)

El maní o cacahuate es una leguminosa con especiales propiedades nutricionales. Es de origen sur americano y se ha cultivado desde épocas remotas por pueblos indígenas. Fue llevado a Europa y África por los conquistadores españoles y portugueses. Actualmente, sus principales productores a nivel mundial son China y la India.

2.7.1. Cultivo del maní en Guatemala

El maní en Guatemala se encuentra distribuido en regiones de tres zonas, la región de menor altitud sobre el nivel del mar, es decir el bosque muy húmedo subtropical cálido ubicado en la costa sur y parte norte del país; la región de altitud intermedia que constituye el bosque húmedo subtropical templado, y la parte más alta, correspondiente al bosque muy húmedo distribuido en el occidente del país.

Las áreas de mayor producción de maní a nivel nacional, son en donde se encuentra la menor diversidad, lo cual contrasta con el departamento de Huehuetenango, en donde el maní presenta mayor diversidad y no es un cultivo de alta importancia.

La variedad botánica de maní, *Arachis Hypogaea*, es la más distribuida en el país. Dicha variedad es cultivada en los departamentos de: Chiquimula, Baja Verapaz, Huehuetenango, Jutiapa, Zacapa, Escuintla, Suchitepéquez, El Progreso, Quiché, Petén y Guatemala. Entre las áreas de producción comercial más importantes se encuentra: Petén, Chiquimula y Baja Verapaz.

De todas las variedades, la *Hypogaea* es la ampliamente distribuida en el país. Se caracteriza por tener en su mayoría dos semillas de color canela,

rosado, café o rojo. De ésta la mayor producción comercial se da en Petén, Chiquimula y en algunos municipios de Baja Verapaz.

El cultivo del maní no es de mucha importancia económica en Guatemala, siendo desarrollado por agricultores tradicionales que han conservado de alguna manera sus materiales criollos. En Guatemala el maní no forma parte de la canasta básica pero su consumo es tradicional; además constituye un cultivo requerido por la industria del país. Las cadenas de supermercados compran productos provenientes de pocos proveedores pero consistentes.

De acuerdo a datos del Banco de Guatemala se registró que, en el 2003, la producción de maní fue de 1 555 toneladas. Asimismo, reportó que el consumo nacional es de 3 209 toneladas por año. En cuanto a las importaciones del país, se estima que el incremento medio anual de maní es de un 18%, siendo los principales países que exportan maní a Guatemala: Nicaragua y El Salvador.

2.7.1.1. Producción de maní en el municipio de Chiquimula

El municipio de Chiquimula es uno de los principales productores de maní a nivel nacional; se viene cultivando el maní desde 1920 en que fue introducida la semilla del tipo virginia que hoy se conoce como shusho y las técnicas agrícolas se han ido mejorando de acuerdo a la experiencia que han adquirido los agricultores. En 1993 este municipio produjo aproximadamente el 20% de la producción nacional de maní. En este departamento se considera que uno de los lugares principales de producción de maní, es la aldea Xororaguá, en la cual el cultivo más importante es el maní.

En el municipio de Chiquimula el maní es procesado por pequeños y medianos agricultores, los cuales realizan todo el proceso de forma artesanal y luego lo comercian principalmente en mercados locales.

La aldea Xororaguá está localizada a 6 kilómetros de la cabecera municipal de Chiquimula; ubicada a una longitud norte de 14° 45' 47" y latitud occidental de 89° 34' 43". Su altitud es de 570 metros sobre el nivel del mar. La época seca abarca desde el mes de noviembre a abril y la lluviosa de mayo a octubre. La humedad relativa promedio anual es de 66%, con intervalos de 61% a 73% entre la época seca y lluviosa.

Para la realización del presente estudio se utilizó el maní proveniente de la aldea de Xororaguá, debido a que es uno de los principales productores de maní en el departamento de Chiquimula. También se seleccionó el maní de Xororaguá, ya que según algunos distribuidores de la leguminosa consultados, el maní de mejor calidad del territorio guatemalteco es el proveniente de dicha aldea.

De la aldea Xororaguá fue seleccionado uno de los beneficios de un pequeño productor para la realización de la investigación de campo, en la cual fue posible la recaudación de información de la producción mensual y datos técnicos sobre el procesamiento.

En el beneficio seleccionado se procesan de 30 a 50 quintales de maní al mes, de enero a octubre, en función del requerimiento por parte de los clientes. En los meses de noviembre a diciembre la producción se incrementa de 45 a 75 quintales al mes aproximadamente. Esto resulta en una producción promedio equivalente a 47,08 quintales mensuales y a 565 quintales al año (26,63 TM).

2.7.2. Siembra del maní

El cultivo del maní resulta exitoso si se ha realizado un programa de fertilización. Esto es de suma importancia por el hecho de que los suelos para la producción de maní, generalmente son bajos en contenido de materia orgánica y tienen poca capacidad de absorber nutrientes esenciales.

El nitrógeno para la fertilización del suelo, es utilizado en forma amoniacal como sulfato de amonio. El fósforo en forma soluble es el abono más importante para el maní. La aportación de potasa al abono mejora las condiciones sanitarias del cultivo, sobre todo al finalizar el ciclo vegetativo, además, aumenta el número de granos por vaina, asegurando una mejor fecundación de los óvulos. La presencia de azufre en los fertilizantes interviene de una forma relativamente importante en la nutrición; si es aplicado de forma elemental, será absorbido con menor rapidez que aplicado en forma de sulfato.

En cuanto a los oligoelementos, los más importantes para el maní son el molibdeno y el boro. El molibdeno actúa sobre el desarrollo de la planta y la coloración de las hojas, e incrementa el contenido de nitrógeno de la planta. El molibdeno se aplica como molibdato amónico o como molibdato sódico. El boro evita los accidentes de fecundación y mejora la calidad de los granos.

Previo a la siembra, también es necesario verificar el pH del suelo, ya que de ser menor a 5,8 o tener un contenido bajo en calcio es necesaria la aplicación de piedra caliza o carbonatos de calcio-magnesio para mejorar el desarrollo de la planta. Es oportuno mencionar que el calcio es esencial en la formación de los granos del maní.

Los granos se siembran en camellones con una altura de 25 cm aproximadamente, y evitando su exposición a la luz del día. La profundidad de la siembra no debe de sobrepasar los 5 cm y la humedad del suelo debe de ser la necesaria. El riego se realiza cada 20 ó 25 días para suelos francos y cada 5 días para suelos arenosos.

Es necesario realizar muestreos durante los últimos quince días del período vegetativo, debido a que la fructificación se produce en el interior del suelo. El período de cosecha se identifica cuando la vaina se endurece y presenta manchas oscuras en las paredes internas, y cuando los granos de maní presentan su típica coloración.

2.7.3. Cosecha del maní

Se define como el corte de la planta con sus vainas. Para facilitar esta actividad es necesario humedecer el terreno. El arranque consiste en seccionar el pivote radicular de la planta, por debajo del plano de fructificación y por medio de un instrumento en forma de hoja que pasa entre ocho y quince centímetros de profundidad bajo tierra, sin seccionar las vainas. Luego la planta es levantada, sacudida y depositada en el suelo para que se seque.

2.7.4. Pos cosecha del maní

Seguido de la cosecha vienen las tareas de secado, trillado y almacenamiento, lo cual provee la materia prima lista para su procesamiento en el beneficio del maní.

2.7.4.1. Secado

Luego de la cosecha del maní, sus tejidos contienen de un sesenta a un ochenta por ciento de agua. Sus vainas, en este momento, contienen aproximadamente treinta por ciento de humedad, por lo que es necesario secarlas al sol al menos durante una semana, pues de lo contrario las semillas se deterioran rápidamente.

El principio del secado de los granos del maní es disminuir con rapidez el contenido de agua hasta un quince por ciento aproximadamente, y luego reducirlo con progresión hasta un ocho a diez por ciento. Además, no se debe desecar con excesiva brusquedad ni a una temperatura demasiado elevada, si se hace por medios artificiales.

2.7.4.2. Trillado

Cuando los frutos alcanzan una humedad cercana al diez por ciento, se procede a la trilla. Esta es una operación que consiste en separar las vainas de las hojas y tallos secos; es efectuado con bastón o a mano. Con bastón las hojas y los tallos son desmenuzados y después, de las hojas y las vainas mezcladas, se separan las vainas más densas. En la trilla manual se separan las vainas una por una. Finalmente se separan los materiales no deseables como tierra, piedras o ramas por medio de una máquina limpiadora.

2.7.4.3. Almacenamiento

El maní es almacenado en vainas, dentro de sacos con una capacidad de 50 a 60 kilogramos de maní con cáscara. La cubierta del grano de maní constituye una barrera natural que preserva la semilla contra los agentes de

alteración, por eso se acostumbra a efectuar el almacenaje en vainas. El almacén se realiza en grandes locales secos y ventilados, cuyo suelo y paredes estén tratados previamente con un producto insecticida.

2.7.5. Beneficio del maní

El proceso del beneficio del maní abarca las etapas desde separación de la cáscara o epicarpio hasta que es horneado y listo para el consumo. El siguiente proceso describe la elaboración de maní salado y horneado, para otros tipos de preparación de maní, el proceso seguido es distinto.

2.7.5.1. Descascarado

Para el descascarado el maní es dejado en agua durante 24 horas para ablandar la cáscara y al mismo tiempo, para que el agua funcione como lubricante de la máquina peladora.

La máquina peladora es un equipo con motor que funciona a 110 V. Originalmente era un sistema manual hasta ser mejorado por medio de un motor, esto provocó un aumento significativo en la eficiencia del proceso. El equipo contiene unas aspas de hule que giran y golpean el maní hasta separar la cáscara. El pelado por medio de este equipo trabaja a una velocidad promedio de 1 quintal cada 15 minutos.

2.7.5.2. Aireado con ventilador

De la etapa anterior se obtiene maní con testa y cáscara separadas. Luego el maní es trasladado a una zaranda de malla metálica de 5 mm y se somete a un soplado por medio de un ventilador para remover la mayor

cantidad de cáscara y material extraño de la leguminosa. En esta etapa se separa también de forma manual todo material extraño y no deseable que no pasó a través del tamiz.

2.7.5.3. Salmuera

La etapa del salado tiene como objetivo principal el dar sabor al maní por medio de un contacto prolongado con una solución concentrada de cloruro de sodio. Luego de la selección del maní, éste es depositado en recipientes con salmuera previamente preparada y dejados en reposo durante 24 horas.

La salmuera para esta etapa del beneficio del maní se prepara de forma empírica. Se disuelven 10 libras de sal de mesa comercial en una cubeta de agua y luego se vierte el contenido en 100 libras (1 quintal) de maní crudo, luego se agrega suficiente agua para cubrir por completo el volumen de maní dentro de un recipiente plástico. Luego de homogenizar la mezcla de maní y agua se deja en reposo por 12 horas y luego se escurre el maní. Finalmente se seca el maní salado bajo el sol durante dos días.

Al final del período de la salmuera, el agua residual es una solución de color rojizo semejante al color de la testa del maní, pero mezclado con otros materiales como la tierra. El contenido del recipiente se hace pasar por una cesta para escurrir el agua de salmuera durante 24 horas.

2.7.5.4. Horneado

El horneado es una de las partes más críticas de la preparación del maní, ya que dependiendo de su buena realización, así serán las propiedades organolépticas del maní procesado. El maní es horneado en hornos artesanales

calentados con leña y elaborados de adobe. Para cada horno se utiliza una bandeja de hierro de capacidad de un quintal. Este proceso se realiza durante una hora. Luego del horneado se obtiene un maní tostado listo para su consumo. Cuando es requerido, una parte de la producción de maní se hace pasar por un molino de maíz después de ser removida la testa.

2.7.6. Caracterización del maní *Arachis Hypogaea*

El maní es una planta anual, en la mayoría de las variedades es erecta, su altura puede variar de 15 a 70 cm. Produce ramas desde la base que pueden producir raíces al tener contacto con el suelo, el tallo es ligeramente pubescente. El fruto posee cáscara coreácea en forma de vaina de 1 a 7 cm de largo con 1 a 4 semillas de color café y amarillento en su interior.

La semilla del maní está compuesta por tres partes con una función determinada: el embrión, una fuente de nutrientes para el embrión y una cubierta para la semilla o testa. El embrión es una planta inmadura de la que crecerá una nueva planta bajo condiciones apropiadas. La fuente de alimentos para el embrión varía dependiendo el tipo de planta y su formación comienza como un tejido llamado endosperma.

La cubierta para la semilla o cubierta seminal o testa se desarrolla de los tegumentos que rodean originalmente al óvulo. En el caso del maní, la cubierta seminal es muy delgada. La estructura de la cubierta seminal o episperma guarda una estrecha relación con las funciones que desempeña: protección, dispersión y absorción de agua. Es la primera defensa de la semilla contra las condiciones adversas del medio que la rodea, no sólo la protege de las tensiones mecánicas y la invasión de organismos patógenos, sino también de las fluctuaciones de humedad y temperatura. Por esta razón, la integridad de

la cubierta seminal juega un rol importante en la conservación de la calidad de la semilla.

Las semillas son ligeramente redondas a óvalo-alargadas con hilum puntiagudo. Posee dos cotiledones blancos de aspecto aceitoso, de 0.5 a 1.3 cm de longitud. En las tablas II y III se presenta la clasificación taxonómica del maní y su composición química promedio:

Tabla II. **Clasificación taxonómica del maní**

Reino	Plantae
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Sub-clase	<i>Rosidae</i>
Orden	<i>Fabales</i>
Familia	<i>Fabaceae</i>
Subfamilia	<i>Faboideae</i>
Tribu	<i>Aechyomeneae</i>
Género	<i>Arachis</i>
Especie	<i>Arachis Hypogaea</i>

Fuente: COY, Edwin. *Evaluación de ocho genotipos de maní con tres densidades de siembra, en el municipio de Chiquimula, departamento de Chiquimula*, p. 7.

Tabla III. **Composición química porcentual del maní**

Componentes	%
Agua	5,0
Proteína	28,5
Lípidos	46,3
Fibra cruda	2,8
Extracto libre de nitrógeno	13,3

Continuación tabla III.

Cenizas	2,9
Azúcares reducidos	0,2
Azúcares disacáridos	4,5
Almidón	4,0
Pentosas	2,5

Fuente: COY, Edwin. *Evaluación de ocho genotipos de maní con tres densidades de siembra, en el municipio de Chiquimula, departamento de Chiquimula*, p. 8.

En cuanto a la composición porcentual del maní crudo (con epicarpio) se presentan la tabla IV con datos obtenidos de forma experimental:

Tabla IV. **Composición porcentual del maní**

Componentes	%
Cáscara (epicarpio)	24,67
Semilla	72,66
Testa (episperma)	2,67

Fuente: elaboración propia.

A partir de esta tabla y el dato de la producción anual de maní de 25,63 TM, se estima que aproximadamente se obtienen 15,14 quintales de testa al año del beneficio seleccionado de la aldea Xororaguá.

3. METODOLOGÍA

3.1. Descripción de variables

Las principales variables involucradas en ambas partes del estudio se detallan a continuación, separadas en las tablas V y VI, según su carácter dependiente o independiente.

Tabla V. Descripción de variables independientes

Nombre	Símbolo	Unidades	Descripción
Peso de maní	m_m	g (gramos)	Peso inicial de maní para el salado
Volumen de salmuera	V_s	mL (mililitros)	Volumen de salmuera para el salado
Tiempo de salado	T_s	h (horas)	Duración de salado del maní
Peso de testa	m_t	g (gramos)	Cantidad de testa para la extracción
Tiempo de extracción	T_e	h (horas)	Duración para la etapa extractiva
Acidez del solvente	pH	Sin unidades	Acidez provocada por sulfito de sodio

Fuente: elaboración propia.

Tabla VI. Descripción de variables dependientes

Nombre	Símbolo	Unidades	Descripción
Cloruros en la salmuera	C_{CS}	M (molaridad)	Concentración de cloruro de sodio en la salmuera de cada recirculación
Cloruros en el maní	C_{CM}	M (molaridad)	Concentración de cloruro de sodio en el maní para cada recirculación
Taninos en la salmuera	C_{TS}	mgAt/L	Concentración de taninos en la salmuera de cada recirculación
Taninos en la testa	C_{TT}	gAt/gT	Concentración de taninos cuantificados en la testa

Fuente: elaboración propia.

3.2. Delimitación del campo de estudio

Para delimitar la amplitud del estudio realizado se siguió la siguiente línea de razonamiento:

- Campo de investigación: agroindustria artesanal guatemalteca.
- Área de investigación: beneficio del maní (*Arachis Hypogaea*).
- Línea de investigación: eficiencia de procesos y aprovechamiento de subproductos.

- Proyecto: reutilización de la salmuera de la etapa de salado del beneficio artesanal del maní (*Arachis Hypogaea L.*) y cuantificación del contenido tánico de la testa -episperma- de la semilla.
- Delimitación del universo de estudio: la investigación realizada se centró en la producción de maní proveniente, únicamente, de la aldea de Xororaguá, Chiquimula, ya que se cuenta con varias fuentes de información acerca de esta actividad agrícola en el departamento.
- Unidad de análisis y observación: las observaciones del estudio realizado, se hicieron directamente sobre las muestras de maní y testa recolectadas de la aldea de Xororaguá, Chiquimula.

3.3. Recursos humanos disponibles

- Investigador principal: Br. Juan Jacob Girón Morales.
- Asesor de la investigación: Ing. Qco. César Alfonso García Guerra.

3.4. Recursos materiales disponibles

- Instalaciones
 - Laboratorio del área de Química de la Escuela de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC).
 - Laboratorio de la sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería. Facultad de Ingeniería, USAC.

- Materia prima
 - Maní crudo: sin pasar por salmuera ni hornos
 - Testa de maní crudo: sin pasar por salmuera ni hornos
 - Testa de maní procesado: después de la salmuera y el horneado

- Reactivos:
 - Agua desmineralizada (H_2O)
 - Sulfito de sodio anhidro ($NaSO_3$)
 - Cloruro férrico grado reactivo ($FeCl_3$)
 - Indicador índigo de carmín ($C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$)
 - Permanganato de potasio ($KMnO_4$)
 - Reactivo de Folin-Ciocalteu (fosfotungsteno-fosfomolibdeno)
 - Carbonato de sodio (Na_2CO_3)
 - Ácido tánico patrón ($C_{76}H_{52}O_{46}$)
 - Nitrato de plata ($AgNO_3$)
 - Indicador de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$)
 - Cloruro de sodio ($NaCl$)

- Equipo de laboratorio
 - Balanza analítica (precisión de 0,001 g)
 - Plancha de calentamiento con agitación
 - Horno para altas temperaturas
 - Espectrofotómetro análogo Bausch & Lomb: Spectronic 20

- Cristalería de laboratorio
 - *Beackers*
 - *Earlenmeyers*
 - Micro pipetas
 - Varillas de agitación
 - Tubos de ensayo
 - Balones de aforo
 - Micro picnómetro
 - Bureta
 - Micro bureta

3.5. Técnica cualitativa o cuantitativa

En la presente sección se detalla la metodología a seguir en la realización del estudio, así como los procedimientos experimentales necesarios para llevarla a cabo.

3.5.1. Metodología experimental

La metodología de la investigación realizada, está comprendida por dos partes independientes:

- Reutilización y análisis de la salmuera
- Extracción de taninos de la testa del maní

3.5.1.1. Reutilización y análisis de la salmuera

Esta parte de la investigación se centró en las propiedades de la salmuera y el maní en cada una de las etapas de su reutilización:

Realizándose un análisis al contenido de cloruros en la solución de salado preparada inicialmente, para tener un punto de referencia en el cambio de su concentración a lo largo de su reutilización. También se efectuó un análisis de contenido de cloruros al maní crudo.

Seguidamente, se replicó el proceso de salado del maní tal y como se realiza en el beneficio artesanal, desde el salado del maní hasta el tostado en horno. Realizándose un análisis al contenido de cloruros y taninos (por dos métodos cuantitativos) a la salmuera remanente del proceso de salado. Así también se analizó el contenido de cloruros en el maní proveniente del salado con el fin de establecer la cantidad de sal retenida por medio de una comparación con el valor inicial determinado anteriormente. El método utilizado para cuantificar el contenido de cloruros fue el de Mohr y los métodos para cuantificar taninos fueron los de Lowenthal y Folin-Ciocalteu.

Procediéndose entonces, el proceso de salado y horneado de otra muestra de maní, y analizar el contenido de cloruros y taninos remanente en la salmuera y el maní.

La viabilidad de las recirculaciones de la salmuera fue observada por medio de un análisis del contenido de cloruros y taninos a lo largo de dichas etapas y por medio de una comparación en la cantidad de sal retenida por la semilla en cada etapa. También se realizaron pruebas hedónicas para determinar el grado de aceptabilidad de las personas hacia el sabor del maní.

Las pruebas hedónicas fueron realizadas por 50 personas sin experiencia en la catación de maní y calificaron el sabor del maní en una escala de 1 a 5, donde 1 representa un maní con muy poca sal y el número 5 representa un maní con mucha sal. Se utilizaron 50 personas para la prueba de aceptabilidad con el fin de obtener un 90% de confiabilidad en los resultados y un error aceptable menor al 5%.

3.5.1.2. Extracción de taninos

Esta parte de la investigación se centró en la obtención del contenido tánico de la testa del maní. Para realizar esto fue necesario encontrar el mejor pH y tiempo de extracción, el cual garantice el mayor agotamiento posible de los taninos en la muestra de testa de maní. El solvente utilizado para las extracciones fueron soluciones acuosas de sulfito de sodio en distintas concentraciones para dar el pH de interés por medio de su hidrólisis básica.

La extracción de los taninos fue evaluada para tres distintos valores iniciales de pH: 9, 10 y el pH inicial de la salmuera. Dicha evaluación consistió en el monitoreo de tres propiedades de la solución en el transcurso de la extracción el pH de la solución, la densidad de la solución y el contenido de sólidos solubles en la solución extractiva.

El monitoreo se realizó durante 8 horas seguidas con mediciones a las tres propiedades mencionadas cada hora, con el fin de obtener una curva que describa el comportamiento de la extracción. Con este monitoreo se determinó el tiempo en el que las tres propiedades de la solución están constantes, y se asumió entonces, que se ha logrado el mayor agotamiento posible de la testa del maní. Se evaluaron las condiciones de la extracción tanto para la testa del maní crudo como a la del maní procesado.

Finalmente, se procedió a la cuantificación de los taninos en la testa del maní obtenidos por una nueva extracción realizada al pH y tiempo determinados con el monitoreo de las propiedades mencionadas. La cuantificación de los taninos se realizó por dos métodos cuantitativos distintos: el volumétrico de Lowenthal y espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu.

3.5.2. Procedimientos experimentales

Todos los procedimientos experimentales presentados a continuación, pueden consultarse en el apéndice 6 en donde son descritos de forma operacional y se presentan las ecuaciones para realizar los cálculos pertinentes y los criterios necesarios para ser aplicados.

3.5.2.1. Reutilización y análisis de la salmuera

- Determinación de cloruros en salmuera

El método de Mohr fue utilizado para la determinación de iones cloruro en la salmuera. Éste se basa en la coloración del precipitado que forma el cromato de potasio, el indicador, cuando se cuenta con un exceso de cationes plata. El viraje en el punto final de este análisis volumétrico es de un color amarillo a uno ligeramente rosado.

- Determinación de cloruros en el maní

Al igual que con la salmuera, se utilizó el método de Mohr para la determinación de iones cloruro retenidos en el maní. Previo a la cuantificación de cloruros en el maní se realizó una extracción con agua del maní procesado en estudio. El método se basa en la coloración del precipitado que forma el

cromato de potasio, el indicador, cuando se cuenta con un exceso de cationes plata. El viraje en el punto final de este análisis volumétrico es de un color amarillo a uno ligeramente rosado.

- Reutilización de la salmuera

Se reprodujeron las condiciones de salado del maní a nivel laboratorio en un proceso en el cual se utiliza la salmuera para 6 recirculaciones. Cada recirculación consistió en: un salado de 12 horas, un filtrado de la salmuera, secado al sol y el horneado del maní salado. Luego del salado se tomaron las muestras de salmuera necesarias para analizar la cantidad de taninos y cloruros presentes, según los métodos descritos anteriormente. A cada lote de manía procesada se le practicó un análisis de contenido de cloruros al finalizar las recirculaciones.

La viabilidad de la reutilización de la salmuera fue evaluada en función de la concentración de cloruros en la salmuera y la cantidad de sal retenida por el maní en su etapa de salado y las pruebas hedónicas realizadas al maní procesado.

- Determinación cualitativa de la presencia de taninos en el maní

Utilización de una de las propiedades características de los taninos para determinar la presencia de dichos compuestos en la testa del maní, esta propiedad es la de formar compuestos coloridos con sales de hierro (III).

La técnica consiste en realizar un extracto del contenido tánico de la testa y luego agregar unas gotas de cloruro férrico al 2%. Si se nota la formación de un precipitado de color violeta oscuro se asegura la presencia de taninos

hidrolizables. Por otro lado, si el precipitado es de color verde oscuro se cuenta con taninos condensados en el extracto.

3.5.2.2. Extracción de taninos

- Monitoreo del pH en la solución extractiva

La extracción de taninos se llevó a cabo con dos soluciones de sulfito de sodio a dos distintas concentraciones, éstas corresponden a dos distintos pH's provocados por la hidrólisis básica del soluto (sulfito de sodio). Los pH's utilizados fueron de 9 y 10. Aparte, se realizó otro monitoreo para otra extracción tomando la salmuera como el solvente extractor.

Preparación de una extracción de taninos de la testa con el solvente a evaluar y se medirá su pH inicial, cada 60 minutos durante 8 horas de maceración continua. Para la extracción se utilizó un tamaño de partícula entre 2,68 mm y 1,38 mm, una temperatura de 40 °C, relación peso muestra/volumen solvente de 1:60 y velocidad de agitación de 600 rpm. Con esta curva se evaluó el efecto que la extracción de taninos tiene sobre la acidez del solvente.

- Monitoreo de la densidad en la solución extractiva

Con una muestra de la solución extractiva cada 60 minutos, se midió su densidad con un micro picnómetro. Posteriormente se graficó la relación entre ésta y el tiempo de extracción.

- Monitoreo de los sólidos solubles en la solución

Tomando una muestra de la solución extractiva cada 60 minutos, se midió la cantidad de sólidos solubles por medio de evaporación a completa sequedad. Posteriormente se graficó la relación entre ésta y el tiempo de extracción.

- Extracción de taninos de la testa del maní

Utilización de una sola extracción del contenido tánico de la testa por medio de una maceración continua bajo las condiciones (proporción sólido-líquido, tiempo de extracción, pH y agitación), determinadas en los datos obtenidos anteriormente.

- Eliminación de sulfitos del extracto de la testa del maní

Para evitar la interferencia de los sulfitos libres presentes en el extracto en la cuantificación de taninos se procedió a eliminarlos de éste en forma gaseosa. Se acidificó la solución de sulfitos a un pH menor a 1,7 y se agitó durante 6 horas, para garantizar la liberación de éste, en forma de dióxido de azufre gaseoso.

- Determinación volumétrica de taninos totales

Para la determinación cuantitativa de los taninos totales en el extracto tánico de la testa del maní se utilizó el método volumétrico de Lowenthal, descrito anteriormente: éste se basa en la reducción del permanganato de potasio con un indicador de índigo de carmín.

- Determinación espectrofotométrica de taninos totales

Para la determinación espectrofotométrica de taninos totales en el extracto tánico de la testa del maní se utilizó el método de Folin-Ciocalteu; éste se basa en la reacción del reactivo de fosfotungsténico-fosfomolibdénico con los polifenoles formando compuestos que presentan un máximo de absorbancia a los 760 nm. Para el cálculo de los resultados con este método se empleó una curva de calibración con ácido tánico patrón.

3.6. Recolección y ordenamiento de la información

El diseño experimental escogido para la realización del estudio es el unifactorial de efectos fijos balanceados. Por tal razón, la información recabada durante la investigación se almacenó de manera que su posterior análisis e interpretación se vieran facilitados. A continuación se presenta un esquema que detalla los tratamientos realizados y su denominación individual:

Tabla VII. **Tratamientos efectuados para la cuantificación de cloruros en la salmuera con el método de Mohr**

Obs.	Salmuera 0 (A)	Salmuera 1 (B)	.. Salmuera ... (...)	Salmuera 5 (F)	Salmuera 6 (G)
1	Z _{A1}	Z _{B1}	Z _{...1}	Z _{F1}	Z _{G1}
2	Z _{A2}	Z _{B2}	Z _{...2}	Z _{F2}	Z _{G2}
3	Z _{A3}	Z _{B3}	Z _{...3}	Z _{F3}	Z _{G3}

Fuente: elaboración propia.

Tabla VIII. **Tratamientos efectuados para la cuantificación de cloruros en el maní con el método de Mohr**

Obs.	Maní 0 (H)	Maní 1 (I)	.. Maní ... (...)	Maní 5 (M)	Maní 6 (N)
1	Z_{H1}	Z_{I1}	$Z_{...1}$	Z_{M1}	Z_{N1}
2	Z_{H2}	Z_{I2}	$Z_{...2}$	Z_{M2}	Z_{N2}
3	Z_{H3}	Z_{I3}	$Z_{...3}$	Z_{M3}	Z_{N3}

Fuente: elaboración propia.

Tabla IX. **Tratamientos efectuados para la cuantificación de taninos en la salmuera con el método de Lowentha**

Obs.	Salmuera 0 (A)	Salmuera 1 (B)	.. Salmuera ... (...)	Salmuera 5 (F)	Salmuera 6 (G)
1	Y_{A1}	Y_{B1}	$Y_{...1}$	Y_{F1}	Y_{G1}
2	Y_{A2}	Y_{B2}	$Y_{...2}$	Y_{F2}	Y_{G2}
3	Y_{A3}	Y_{B3}	$Y_{...3}$	Y_{F3}	Y_{G3}

Fuente: elaboración propia.

Tabla X. **Tratamientos efectuados para la cuantificación de taninos en la salmuera con el método de Folin-Ciocalteu**

Obs.	Salmuera 0 (A)	Salmuera 1 (B)	.. Salmuera ... (...)	Salmuera 5 (F)	Salmuera 6 (G)
1	X_{A1}	X_{B1}	$X_{...1}$	X_{F1}	X_{G1}
2	X_{A2}	X_{B2}	$X_{...2}$	X_{F2}	X_{G2}
3	X_{A3}	X_{B3}	$X_{...3}$	X_{F3}	X_{G3}

Fuente: elaboración propia.

Tabla XI. **Repeticiones efectuadas para la cuantificación de taninos en la testa del maní con el método de Lowenthal**

Observación	Cascarilla cruda (1)	Cascarilla procesada (2)
1	Y_{11}	Y_{21}
2	Y_{12}	Y_{22}
3	Y_{13}	Y_{23}

Fuente: elaboración propia.

Tabla XII. **Repeticiones efectuadas para la cuantificación de taninos en la testa del maní con el método de Folin-Ciocalteu**

Observación	Cascarilla cruda (1)	Cascarilla procesada (2)
1	X_{11}	X_{21}
2	X_{12}	X_{22}
3	X_{13}	X_{23}

Fuente: elaboración propia.

4.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

La tabulación de los datos obtenidos durante la experimentación se realizó en cuadros como los presentados en la sección anterior y se complementan con las tablas XIII y XIV que se presentan a continuación:

Tabla Xlii. **Tabla para el monitoreo del tiempo de extracción**

Tiempo	pH			Sólidos Solubles			Densidad
	1	2	3	1	2	3	1
0 h							
15 min							
30 min							
1 h							
1 h 30 min							
2 h							
3 h							
4 h							
5 h							
6 h							
7 h							
8 h							

Fuente: elaboración propia.

Tabla XIV. **Tabulación de los datos obtenidos de las pruebas hedónicas realizadas al maní: calificación del 1 al 5**

Encuestado	Salado 1	Salado 2	Salado 3	Salado 4	Salado 5	Salado 6
1						
2						
3						
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
48						
49						
50						

Fuente: elaboración propia.

4.8. Análisis estadístico

El análisis estadístico a los resultados obtenidos se realizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) que se ajusta, específicamente al diseño experimental elegido, con el fin de hacer una comparación de las medias aritméticas de los datos recabados en el estudio.

El análisis estadístico del diseño experimental unifactorial de efectos fijos balanceados se realizó en diversas ocasiones. Uno para la concentración de cloruros en la salmuera, otro para la cantidad de cloruro de sodio retenido en el maní, otro para la cuantificación de taninos en la salmuera por el método de Lowenthal y otro para el método de Folin-Ciocalteu.

Las tablas XV y XVI muestran los parámetros en los que se basa el ANOVA realizado:

Tabla XV. **Parámetros del ANOVA para un diseño experimental unifactorial de efectos fijos balanceados**

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F_0
Tratamientos	SS_{Trat}	a-1	MS_{Trat}	$F_0 = \frac{MS_{Trat}}{MS_E}$
Error	SS_E	N-a	MS_E	
Total	SS_T	N-1		

Fuente: REYES, Memphis S. *Aplicación del diseño experimental en el desarrollo de las prácticas internas, de el área de operaciones unitarias.* p. 147.

Tabla XVI. **Parámetros del ANOVA para un diseño experimental unifactorial de efectos fijos balanceados**

Variable	Fórmula	Variable	Fórmula
SS_{Trat}	$\sum_{i=1}^a \bar{y}_i^2 - \frac{\bar{y}_{...}^2}{N}$	MS_{Trat}	$\frac{SS_{Trat}}{a - 1}$
SS_E	$SS_T - SS_{Trat}$	MS_E	$\frac{SS_E}{(N - a)}$
SS_T	$\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n \bar{y}_{ij}^2 - \frac{\bar{y}_{...}^2}{N}$	MS_T	$\frac{SS_T}{(N - a)}$

Fuente: REYES, Memphis S. *Aplicación del diseño experimental en el desarrollo de las prácticas internas, de el área de operaciones unitarias.* p. 147.

El criterio estadístico para aceptar o rechazar las hipótesis nulas es:

$$\text{Si } |F_{\text{calculada}}| > |F_{\text{tabulada}}| \Rightarrow \text{Se rechaza } H_0$$

$$\text{Si } |F_{\text{calculada}}| < |F_{\text{tabulada}}| \Rightarrow \text{Se acepta } H_0$$

El valor de la $|F_{\text{tabulada}}|$ se calcula con base en los valores de los grados de libertad de los efectos de los tratamientos y el error y un nivel de confianza de 95%.

Por separado se realizó un análisis estadístico de comparación de medias con la distribución de t de Student para determinar si existen diferencias significativas en los resultados obtenidos de la cuantificación de taninos en la testa cruda y testa tostada. Así también, se realizó una comparación entre los métodos para la determinación de taninos. Estas son las ecuaciones con las que se realizó la comparación de medias:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}} * S_C} \quad (\text{ecuación. 1})$$

$$S_C = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} \quad (\text{ecuación. 2})$$

El criterio estadístico para aceptar o rechazar las hipótesis nulas de igualdad es:

$$\text{Si } |t_{\text{calculada}}| > |t_{\text{tabulada}}| \Rightarrow \text{Se rechaza } H_0$$

$$\text{Si } |t_{\text{calculada}}| < |t_{\text{tabulada}}| \Rightarrow \text{Se acepta } H_0$$

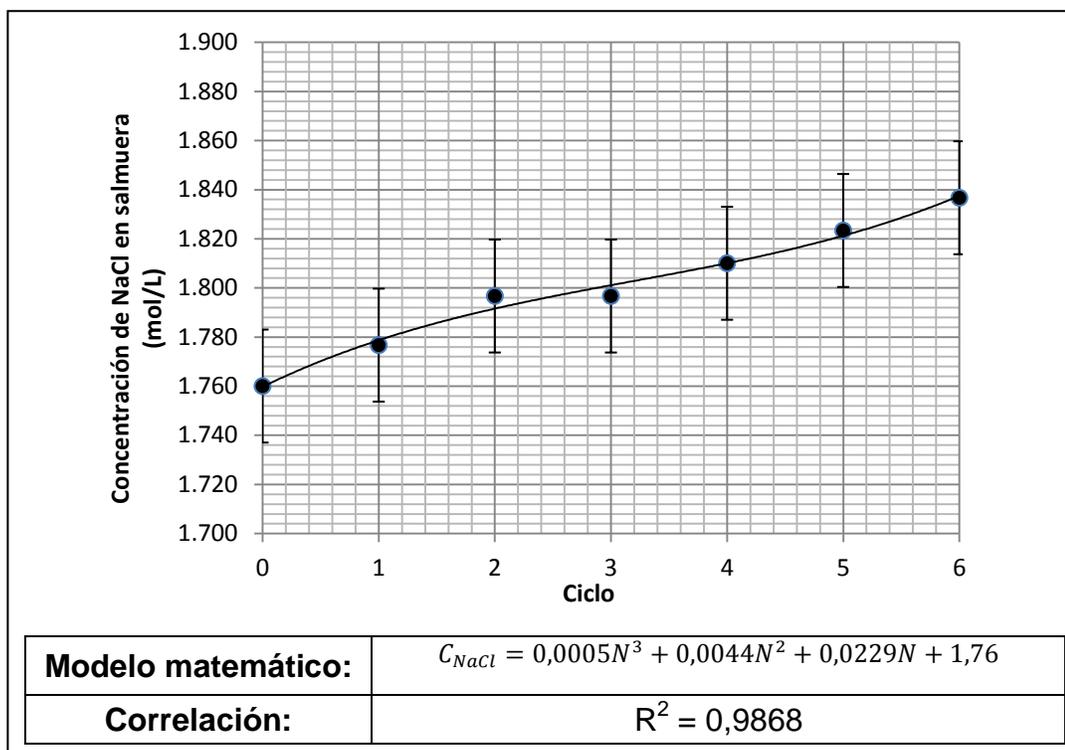
El valor de la $|t_{\text{tabulada}}|$ se calculó con base en un 95% de confiabilidad.

4. RESULTADOS

4.1. Concentración de NaCl en la salmuera a través de los ciclos de reutilización en el salado del maní

La figura 1 muestra la tendencia en la concentración de cloruros en la salmuera determinada por el método de Mohr, así como el modelo matemático que presentó un mayor ajuste a los datos obtenidos.

Figura 1. **Concentración de NaCl vs ciclo de reutilización: salado de 12 horas, 500 g maní crudo, 400 mL salmuera, temperatura 19 °C**

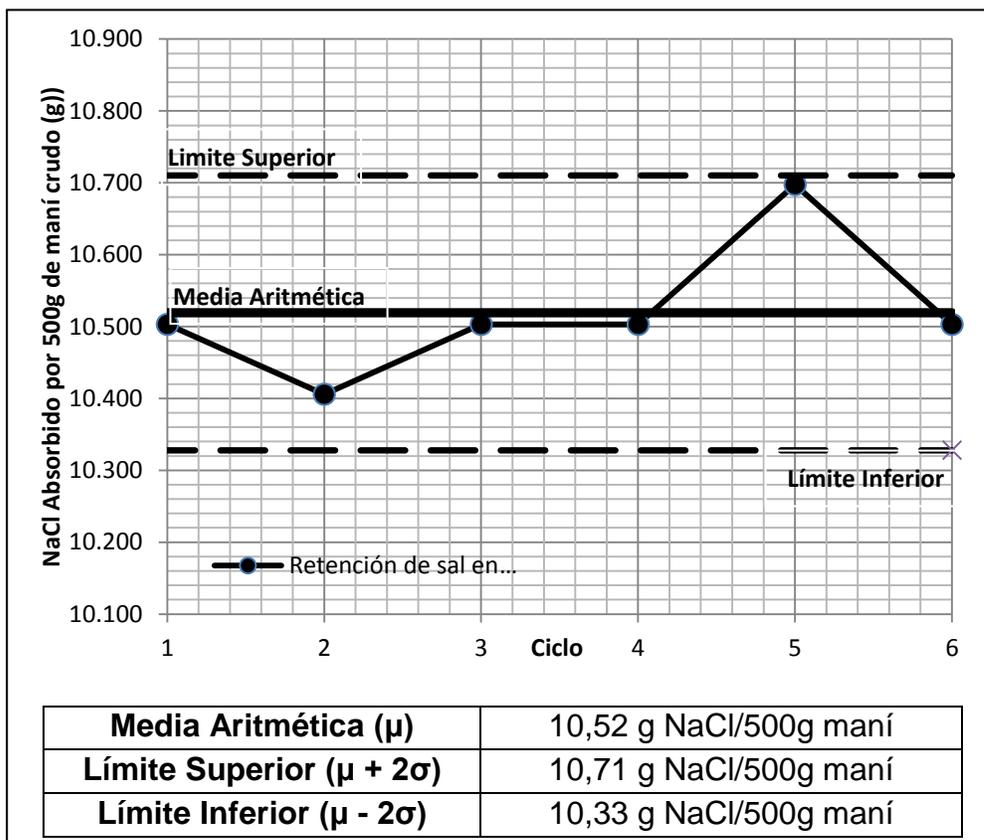


Fuente: elaboración propia.

4.2. Absorción de NaCl en el maní a través de los ciclos de reutilización en el salado del maní

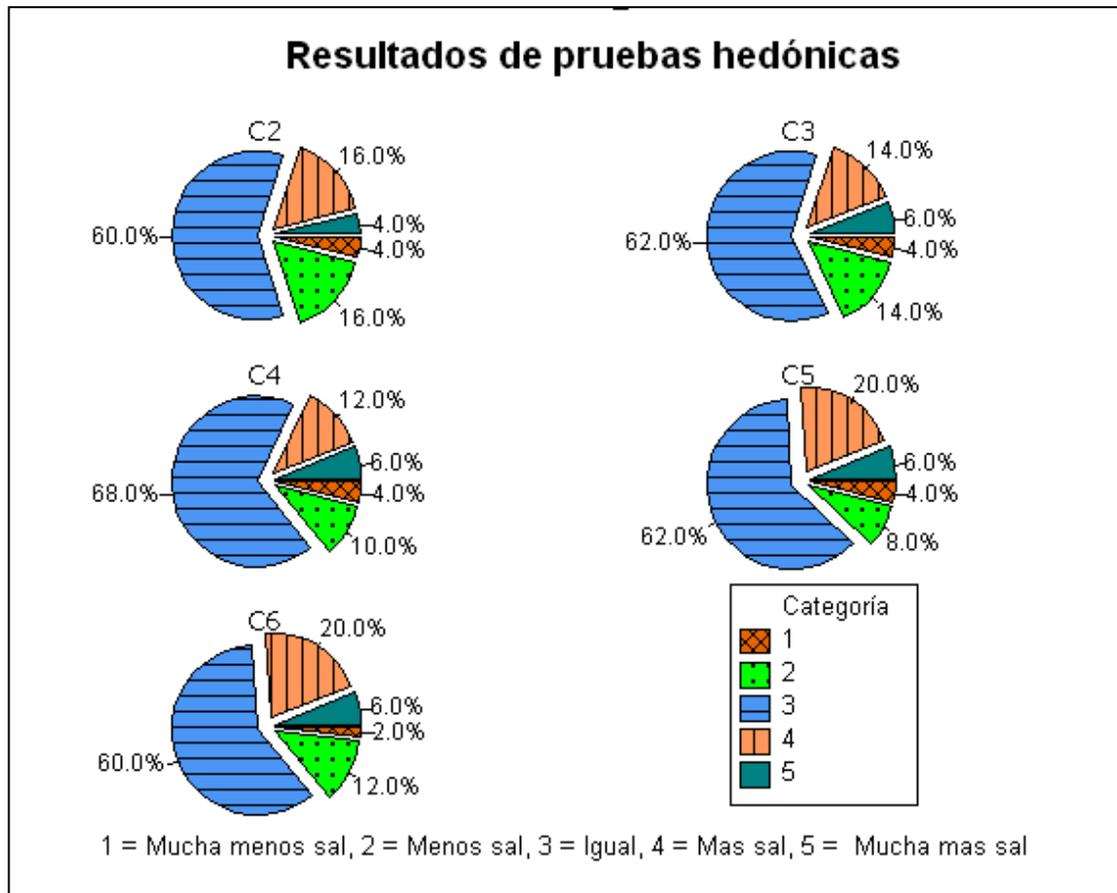
La figura 2 muestra la cantidad de sal retenida por el maní en cada etapa de salado. No se obtuvo diferencia significativa en la sal absorbida por maní a lo largo de los ciclos de salado. No se obtuvo un modelo matemático con una correlación aceptable.

Figura 2. **Absorción de NaCl en el maní vs ciclo de reutilización: salado de 12 horas, 500 g de maní crudo, 400 mL de salmuera, temperatura 19 °C**



Fuente: elaboración propia.

Figura 3. **Comparación de la percepción sensorial del grado de salado del maní respecto al primer ciclo de salado C1**

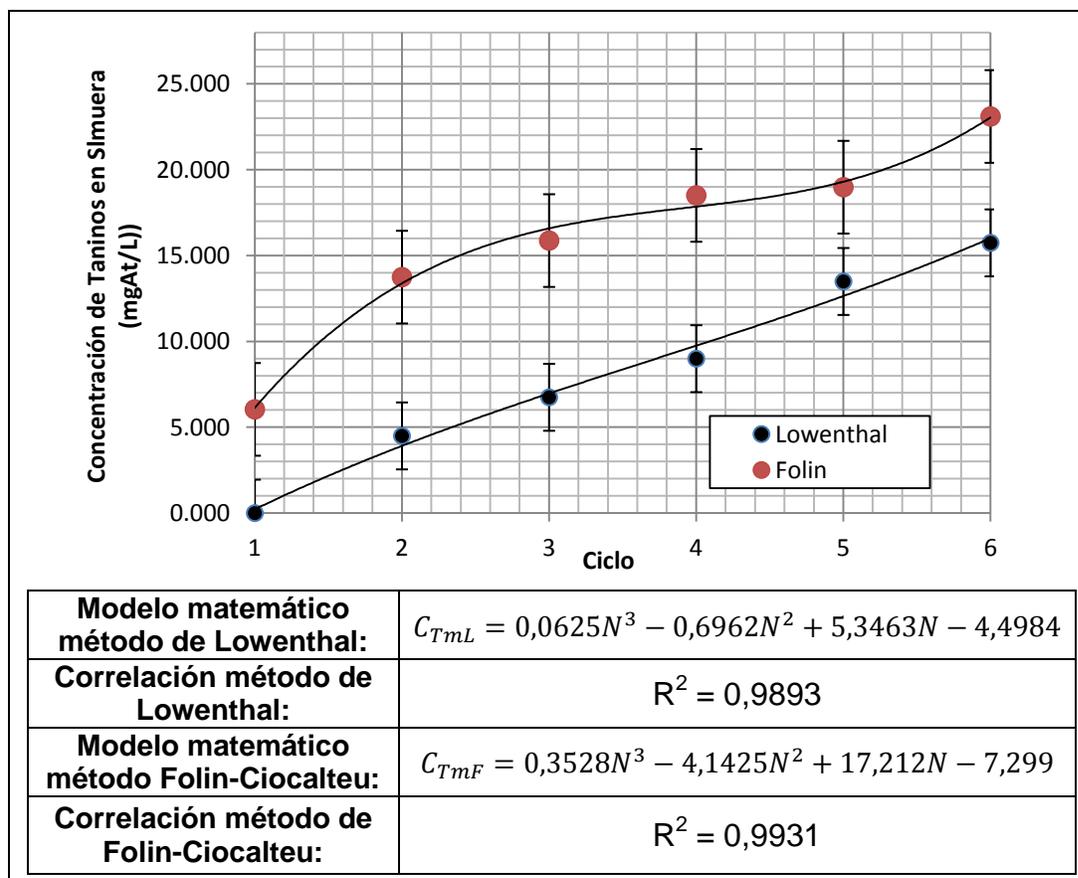


Fuente: elaboración propia.

4.3. Concentración de Taninos en la salmuera a través de los ciclos de reutilización en el salado del maní

A continuación se presenta una comparación en la concentración de taninos en la salmuera obtenida por los métodos cuantitativos de Lowenthal y Folin-Ciocalteu a lo largo de los ciclos de salado.

Figura 4. Concentración de taninos en salmuera vs ciclo de reutilización: salado de 12 horas, 500 g de maní crudo, 400 mL de salmuera, temperatura 19 °C



Fuente: elaboración propia.

4.4. Determinación de la concentración de taninos en la testa del maní

En las tablas XVII y XVIII se muestran los resultados obtenidos respecto a la concentración de taninos en la testa del maní crudo y tostado. Las cuantificaciones fueron hechas por los métodos de Lowenthal y Folin-Ciocalteu y utilizando ácido tánico como patrón de referencia. La cuantificación de los taninos fue realizada luego de determinar las mejores condiciones para extraerlos de la testa; éstas condiciones son: maceración dinámica de 5 horas con sulfito de sodio a pH = 10, temperatura de 40 °C y 5 g de testa seca en 300 mL de solución

Tabla XVII. **Concentración de taninos en la testa del maní expresados como gramos de ácido tánico por gramo de testa seca. Cuantificación por método de Lowenthal. Maceración dinámica de 5 horas con sulfito de sodio a pH = 10. Temperatura de 40 °C. 5 g de testa seca en 300 mL de solución**

Estadístico	Testa cruda	Testa tostada
Valor	0,1228 gAt/gT	0,0756 gAt/gT
Desviación estándar	0,0019 gAt/gT	0,0019 gAt/gT
Desviación relativa (%)	1,55%	2,53%

Fuente: elaboración propia.

Tabla XVIII. **Concentración de taninos en la testa del maní expresados como gramos de ácido tánico por gramo de testa seca. Cuantificación por método de Folin-Ciocalteu. Maceración dinámica de 5 horas con sulfito de sodio a pH = 10. Temperatura de 40 °C. 5 g de testa seca en 300 mL de solución**

Estadístico	Testa cruda	Testa tostada
Valor	0,1441 gAt/gT	0,0846 gAt/gT
Desviación estándar	0,0037 gAt/gT	0,0017 gAt/gT
Desviación relativa (%)	2,54%	1,99%

Fuente: elaboración propia.

5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

5.1. Concentración de NaCl en la salmuera a través de los ciclos de reutilización en el salado de maní

Para evaluar la factibilidad de realizar numerosas recirculaciones de la salmuera, se reprodujo a nivel laboratorio las condiciones en las que se lleva a cabo la etapa de salado de maní. Se preparó salmuera utilizando las mismas proporciones de agua y sal que se utiliza en la práctica. Esto es: 10 libras comerciales de sal por cada quintal de maní por salar, en 36 L de salmuera por quintal. Tomando en cuenta que cada libra comercial de la sal utilizada contenía aproximadamente 396 g de sal con un porcentaje de humedad de 5,19%, la concentración molar final de la salmuera es de aproximadamente 1,78 M. La concentración inicial de la salmuera preparada fue de 1,76 M.

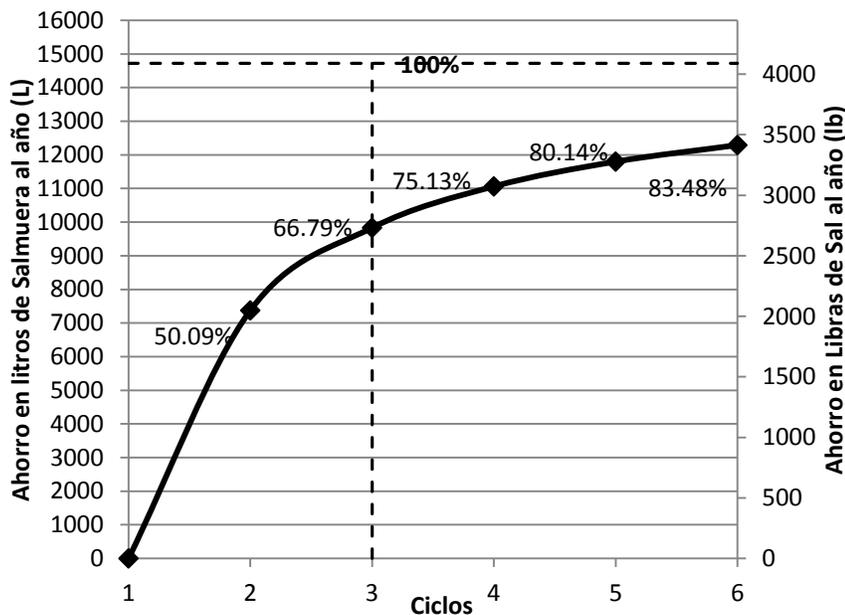
Como es explicado en el procedimiento para el salado del maní, cada lote de maní de 500 g se saló durante 12 horas continuas y luego se filtró para recuperar la mayor cantidad de salmuera. A pesar de esta etapa sencilla de filtración se notó la considerable absorción de salmuera dentro del maní. Para cada lote de 500 g de maní en 400 mL de salmuera la absorción de esta fue siempre de 110 mL, es decir el 27,5% del volumen del líquido en el que se encontraba sumergido. Razón por la cual es necesario devolver siempre al sistema el volumen de salmuera perdido para poder recircularla.

Este hecho le imparte ciertas características a la economía de la salmuera y la sal que deben ser tratados. Es de esperarse que entre más recirculaciones de salmuera se efectúen en el beneficio mas ahorro se perciba

tanto en agua como en sal, y por lo tanto es deseable aumentar el número de recirculaciones posibles. En un caso hipotético en el que la totalidad de la producción de maní en el beneficio artesanal se realice con salmuera recirculada simplemente agregando para cada lote de maní la suficiente agua y sal para cubrir la semilla, se lograría un ahorro máximo de aproximadamente 4100 lb de sal al año.

La figura 5 muestra como aumenta el ahorro del beneficio de maní (en sal y salmuera) conforme se va aumentando el número de recirculaciones que este efectúan. Los porcentajes que se muestran son referentes al máximo ahorro mencionado de 4100 lb de sal al año.

Figura 5. Ahorro de sal y salmuera al año en el beneficio artesanal de maní. Producción anual de 565 quintales de maní salado. Absorción del 27,5% de volumen de salmuera

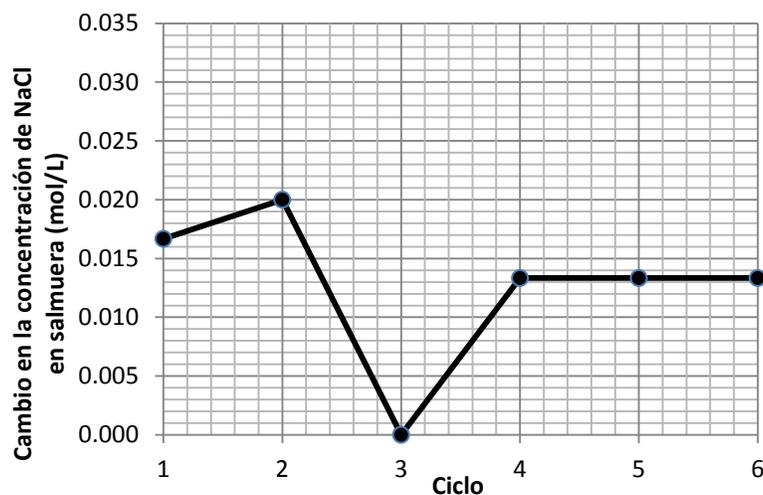


Fuente: elaboración propia.

La figura 5 muestra que utilizando la misma salmuera por tres ciclos seguidos, se logra un ahorro de aproximadamente 2 750 lb de sal al año, es decir, el 67% del posible ahorro en sal y agua se logra durante los primeros tres ciclos. Por esta razón, no trae mayor beneficio extenderse en un número muy grande de recirculaciones, ya que esto puede traer otro tipo de problemas técnicos como los que se mencionarán más adelante.

Debido a la considerable absorción de salmuera por el maní, es necesario reincorporar este volumen de salmuera al nuevo lote de maní por sala. De esta forma se repuso el volumen inicial de salmuera para cada salado con la misma salmuera 1,76 M de NaCl preparada inicialmente. Es de esperar por lo tanto que el cambio de concentración en la salmuera se vea amortiguado por la constante adición de la salmuera inicial, tal y como lo muestran los resultados presentados.

Figura 6. **Cambio de concentración de NaCl en la salmuera vs ciclo de reutilización. Salado de 12 horas**



Fuente: elaboración propia.

La figura 6 muestra el cambio en la concentración de cloruros en la salmuera respecto de su ciclo anterior y se puede apreciar que el mayor cambio en esta representa solamente el 1,14% de la concentración inicial de salmuera. A su vez, al analizar la gráfica de los resultados del presente inciso se puede notar que al finalizar los 3 ciclos de utilización de la salmuera la concentración de cloruros se elevó un 2,10% y al finalizar los 6 ciclos esta subió un 4,35% de la concentración inicial de la salmuera. Esto se debe en parte a, como se dijo anteriormente, la reposición del volumen absorbido con salmuera inicial, que atenúa el cambio en la concentración de cloruros.

El análisis estadístico presentado muestra que las diferencias en las concentraciones de sal son significativas al aumentar el número de recirculaciones, razón por la cual se puede aseverar que si existe un aumento estadístico neto en la concentración de cloruros en la salmuera aunque este sea bajo y no supere el 1,14% de su concentración inicial en cada ciclo.

5.2. Absorción de NaCl en el maní a través de los ciclos de reutilización

Se cuantificó la cantidad de sal absorbida por los diferentes lotes de maní en cada etapa de salado. Los resultados presentados muestran que las variaciones en la cantidad de sal absorbida por el maní fueron mínimas y no exhiben un comportamiento definido que pueda interpretarse como un aumento neto en la cantidad de sal retenida por la semilla.

El análisis estadístico realizado a estos resultados muestra que las variaciones en la retención de sal por el maní son menores a las variaciones inherentes al método de análisis y al error humano, por consiguiente no puede concluirse que existan diferencias significativas en la cantidad de sal absorbido por el maní. Por lo tanto puede afirmarse que todos los lotes de maní que

fueron salados durante la práctica experimental retuvieron la misma cantidad de sal.

Por lo anteriormente expuesto, puede hallarse la explicación correcta de los resultados de las pruebas hedónicas realizadas a 50 personas, con el fin de determinar si los lotes de maní salados presentaban alguna diferencia perceptible en la cantidad de sal con respecto al primer ciclo, es decir con salmuera fresca sin recircular.

Figura 7. **Realización de pruebas hedónicas comparativas del sabor del maní proveniente de cada ciclo**



Fuente: elaboración propia.

El estudio comparativo de percepción de sabor de los diferentes ciclos de utilización, se realizó con una escala nominal de 5 niveles en los cuales se catalogó el sabor del maní en comparación con el sabor del primer ciclo. Estos niveles corresponden a: 1 = mucha menos sal, 2 = menos sal, 3 = igual, 4 = más sal y 5 = mucha más sal.

Los resultados obtenidos por las encuestas realizadas y presentadas en la figura 3, muestran claramente que en todos los ciclos del 2 al 6 la mayoría de los encuestados indicaba que el sabor de los lotes de maní era el mismo que el

sabor del lote del primer ciclo. Amparándose en este resultado y el hecho de que la cantidad de sal retenida por el maní sea estadísticamente igual en cada ciclo, puede concluirse que los lotes de maní no se vieron afectados en cuanto a su sabor al ser recirculada la salmuera.

Aunque la calidad del sabor del maní no se vio afectada con las recirculaciones realizadas, no se puede aseverar lo mismo acerca de todas las características generales del maní. Una observación que llamó la atención fue el color que tomó la testa de la semilla al transcurrir el número de ciclos de salado. Mientras la testa del maní del primer ciclo presenta una coloración roja uniforme, la testa del maní del sexto ciclo poseía una coloración más oscura y menos uniforme. Este cambio de coloración fue gradual y puede observarse en la figura 8.

Figura 8. **Maní tostado con testa por cada recirculación de salmuera: tostado de 170 °C por 10 minutos**



Fuente: elaboración propia.

La diferencia entre la coloración del ciclo 3 y 1 no es tan grande como para justificar un rechazo al maní por parte del consumidor; sin embargo, la diferencia entre la coloración del ciclo 4 y 1 fue apreciada por varios panelistas, asunto que podría recaer en el grado de aceptabilidad de la legumbre con el consumidor.

Puede surgir la duda de que el cambio de coloración haya sido producto de un tostado desigual entre cada ciclo de salado, por tal razón se presenta la figura 9.

Figura 9. **Maní tostado sin testa por cada recirculación de salmuera: tostado de 170°C por 10 minutos**



Fuente: elaboración propia.

Puede apreciarse que no existe una diferencia apreciable en la calidad del tostado de los ciclos analizados mas allá de la variación inherente del

método de tostado, que puede producir unos granos ligeramente más tostados que otros.

Con el propósito de ahondar más en la etapa de salado del maní, se realizaron cálculos de transferencia de masa para cuantificar los parámetros que rigen el fenómeno de la imbibición del maní en la salmuera.

Salvo la convección natural dentro de la salmuera provocada por los gradientes de concentración y el flujo neto de sal hacia la semilla de maní, en el proceso de salado se cuenta con un fluido sin convección artificial o mecánica alguna, por lo cual el fenómeno de transferencia de masa se debe únicamente al transporte molecular de materia, es decir a la difusión ordinaria. Bajo esta condición, un modelo que describe el fenómeno de transporte es la primera ley de Fick, la cual establece que el flujo de masa de una especie es proporcional a la diferencia de concentraciones entre dos puntos, y cuya constante de proporcionalidad es la difusividad. La primera ley de Fick se muestra a continuación:

$$N_A = -D_A \frac{dc_A}{dz} \quad (\text{ecuación. 3})$$

Donde:

N_A = flujo molar total de la especie A. (mol/m²h)

C_A = concentración molar de A. (mol/m³)

Z = dirección de la difusión, perpendicular al área superficial. (m)

D_A = difusividad o coeficiente interdifusional. (m²/h)

Si se asume que el flujo molar del soluto es constante, al igual que la difusividad, y se integra, la primera ley de Fick se puede reescribir como:

$$N_A = \frac{D_A}{\delta} (C_{A1-} - C_{A\delta}) = k'_c (C_{A1-} - C_{A\delta}) \quad (\text{ecuación 4})$$

Donde:

δ = espesor de la capa límite de transferencia de masa. (m)

C_{A1} = concentración molar de A en el solvente. (mol/m³)

$C_{A\delta}$ = concentración molar de A en la capa límite. (mol/m³)

k'_c = coeficiente de transferencia de masa. (m/h)

Ya que el flujo molar total de A tiene unidades de mol/m²h y se asumió constante, la ecuación anterior puede escribirse como función de otros parámetros constantes:

$$N_A = \frac{m_A}{A_s t} = k'_c (C_{A1-} - C_{A\delta}) \quad (\text{ecuación 5})$$

Donde:

m_A = moles de A transportados. (mol)

A_S = área de transferencia de masa (m²)

t = tiempo en el que se realizó la transferencia (h)

Para obtener una medida promedio del área superficial de un grano de maní se recurrió al cálculo integral, asumiendo que una semilla es un elipsoide perfecto generado al efectuar una rotación de una elipse sobre su eje mayor. Se midieron las dimensiones promedio del maní utilizándose un eje mayor de 1,610 cm y un eje menor de 0,901 cm. Con lo cual se calculó un área total de 3,961 cm² de superficie por grano de maní.

En cada lote de 500 g de maní crudo, se calculó un promedio de 837 semillas, ya que el peso unitario promedio es de 0,597 g por maní. De esta forma el total de área superficial expuesta a la salmuera es igual a 0,3315 m².

Ya que se cuantificaron 0,292 g de cloruro de sodio por cada 500 g de maní crudo sin salar, se puede obtener la concentración molar del NaCl dentro del maní. Al hacer un cálculo aproximado del volumen de una semilla de maní con la suposición de que el maní es un esferoide perfecto, se calculó un volumen promedio de 0,684 cm³. De esta forma se logró calcular una concentración de 8,73 mol NaCl/m³ de maní.

Ya que la retención promedio de NaCl por lote de maní fue de 10,519 g o 0,1803 mol y que el tiempo de salado fue de 12 horas, puede utilizarse la ecuación 5 para determinar el coeficiente de transferencia de masa k'_c :

$$N_A = \frac{(0,1803 \text{ mol})}{(0,3315 \text{ m}^2)(12 \text{ h})} = 0,0453 \text{ mol/m}^2\text{h}$$

$$0,0453 \text{ mol/m}^2\text{h} = k'_c(1 \text{ 760 mol/m}^3 - 8,73\text{mol/m}^3)$$

$$k'_c_{19^\circ\text{C}} = \frac{D_A}{\delta} = 2,487 \times 10^{-5} \text{ m/h}$$

Como puede verse, el coeficiente de transferencia de masa para el proceso de salado efectuado en el beneficio de maní es $k'_c = 2,487 \times 10^{-5} \text{ m/h}$. Los coeficientes de transferencia de masa tienen mucha importancia, porque son los que regulan la rapidez con la cual se da la transferencia de masa por medio de la difusión molecular, es decir, controlan el tiempo en el cual se alcanza el equilibrio en el sistema y el tiempo en que se logra absorber la cantidad deseada de NaCl dentro del maní.

Con el coeficiente de transferencia de masa k'_c puede efectuarse numerosos cálculos para determinar, otras condiciones de operación con la cual alcanzar resultados deseados. Por ejemplo, puede buscarse reducir el tiempo de salado mediante un aumento en la concentración de sal en la salmuera. O puede buscarse reducir la concentración de la salmuera sin afectar significativamente el tiempo de salado y la cantidad de sal retenida por el maní.

El coeficiente de transferencia de masa k'_c , brinda información acerca de la resistencia que pone el sistema global para la transferencia de masa entre los puntos analizados. La resistencia a la transferencia de masa, puede ser producto de muchos factores con incidencia directa o indirecta en el sistema. Estas resistencias pueden presentarse por parte de la solución y el soluto que se pretende transferir o por parte del sustrato objeto de la transferencia.

Para el caso del salado del maní, la principal resistencia a la transferencia de masa, es decir, la difusión molecular simple, puede provenir de dos fuentes: los materiales que constituyen el cotiledón del maní, tal como las grasas y proteínas; y la testa del maní, es decir el recorrido que sigue el NaCl a través de los poros de la testa. Ambas resistencias a la difusión son abordadas si se efectúa un cálculo del coeficiente de transferencia de masa global, como el presentado.

Para lograr una mejor comprensión sobre el proceso de difusión del cloruro de sodio dentro del maní, deben tomarse en cuenta diferentes aspectos. Uno de ellos es la difusión de taninos provenientes de la testa maní hacia la salmuera, es decir, mientras se da la imbibición de sal dentro del maní, se da también la liberación de taninos de la testa del maní, pero en la dirección opuesta. Debido a esta liberación de taninos, se puede notar la diferencia en la coloración de la salmuera al terminar la etapa de salado.

Esta liberación de taninos puede ser factor clave en el proceso de difusión de la sal dentro del maní, y ser necesaria la liberación de una pequeña cantidad de taninos de la testa para dar lugar al transporte del NaCl a través de la testa del maní. Las moléculas de los taninos tienen pesos moleculares altos, por lo cual pueden obstruir el transporte de NaCl a través de los poros de la testa del maní debido a su gran tamaño. En este caso, únicamente la porción de taninos extraíbles con soluciones neutras es la liberada de la testa del maní.

La difusión del NaCl se ve favorecida por la absorción de agua dentro de la semilla del maní, esto explica la gran cantidad de agua absorbida por el maní durante la etapa del salado. Por esta misma razón puede proponerse un modelo que describa el proceso de salado del maní, en el cual la absorción de agua por parte de la semilla es necesaria y funciona como un vehículo para que tenga lugar la difusión molecular del NaCl dentro del maní.

Se observó, aunque no se midió, que a una concentración menor de NaCl en la salmuera, la cantidad de solución retenida por el maní era mayor. Puede asumirse entonces que el sistema busca siempre un estado en el que la concentración de sal dentro del maní se encuentra en equilibrio con la concentración de sal en la salmuera. Este equilibrio obedece a la resistencia que presenta el cotiledón y la testa del maní a la difusión de la sal al substrato.

Esta puede ser la clara razón del empleo de un exceso de casi el cuádruple de la sal necesaria en la salmuera para efectuar el salado. La alta concentración de NaCl en la salmuera genera un gradiente de concentración entre la solución y el sustrato, que el equilibrio químico en el sistema se busca compensar esta diferencia aumentando la concentración de sal en el maní, obedeciendo a las resistencias que impone a la difusión el coeficiente de transferencia de masa.

Sin embargo, una discusión más detallada del proceso molecular de la transferencia de masa puede abordarse solamente con estudios más específicos y detallados, en los cuales se tengan en consideración todos los factores expuestos. Otra forma de analizar la etapa de salado del maní consiste en un balance de materia referente al NaCl en sistema.

En la figura 2, el promedio de sal retenida por el lote de 500 g de maní fue de 10,52 g, ya que el salado se efectuó con un volumen de salmuera de 400 mL y su concentración fue de aproximadamente 1,76 M, la cantidad total de NaCl disponible durante el salado fue de 41,08 g. De esta forma puede verse que la sal retenida por el maní representa únicamente el 25,6% de la sal disponible en la salmuera por cada lote de maní salado. Es entonces un hallazgo experimental que la etapa salado de maní utiliza un alto exceso de sal para la preparación de la salmuera, aproximadamente el cuádruple de la cantidad de NaCl realmente necesaria para salar el maní.

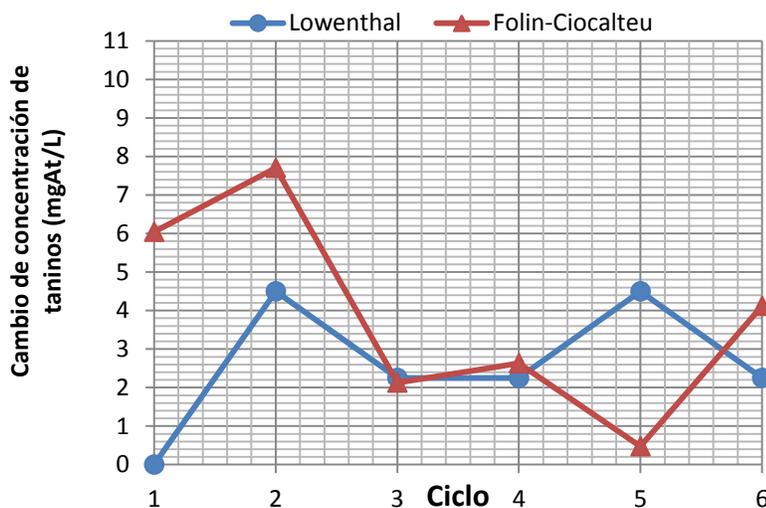
Por las razones antes expuestas, es muy recomendable realizar estudios de salado del maní para verificar si este alto exceso de sal es técnicamente necesario para efectuar la etapa de salado, con ayuda de los parámetros de transferencia de masa presentados anteriormente. De esta forma, si se lograra disminuir la concentración de sal en la salmuera a la mitad sin afectar la calidad

del salado ni el tiempo de operación, los costos anuales por sal se reducirían drásticamente a la mitad de los costos actuales en esa materia prima, y se reducirían aún más si se considerara la reutilización de la salmuera en tres etapas de salado seguidas.

5.3. Concentración de Taninos en la salmuera a través de ciclos de reutilización

De los resultados presentados puede observarse que la concentración de taninos expresados como ácidos tánicos fue aumentando según se aumentaba la recirculación de la salmuera. Puede notarse también que el mayor aumento en la concentración de taninos se dio en los primeros tres ciclos. Es decir, los primeros tres ciclos dan lugar a la mayor extracción de taninos de la testa del maní. La siguiente figura permite visualizar mejor este comportamiento.

Figura 10. **Gráfica del cambio de concentración de taninos en la salmuera vs Ciclo de reutilización. Salado de 12 horas**



Fuente: elaboración propia.

Como puede observarse, la mayor extracción de taninos de la testa del maní tiene lugar en los primeras tres ciclos de utilización de la salmuera. Por lo tanto si se deseara recuperar la salmuera como un subproducto para utilizar los taninos extraídos, con los tres primeros ciclos podría contarse con una relativa buena extracción de taninos y una economía de salmuera alentadora.

Sin embargo, la cantidad de taninos extraídos en cada etapa de salado no es lo suficientemente grande para justificar la recuperación de la salmuera con el objetivo de utilizarla como fuente de taninos. Tomando en cuenta que la testa corresponde únicamente al 2,67% del peso del maní, y que la producción anual de la legumbre es de aproximadamente 565 quintales, la producción de extracto tánico expresado como ácido tánico ascendería solamente a 1,15 kg anuales, asumiendo que la salmuera se utilice siempre para tres ciclos seguidos en el beneficio. Por lo tanto, queda evidenciado que la cantidad de taninos extraíbles por la salmuera es muy pequeña para generar ganancias económicas.

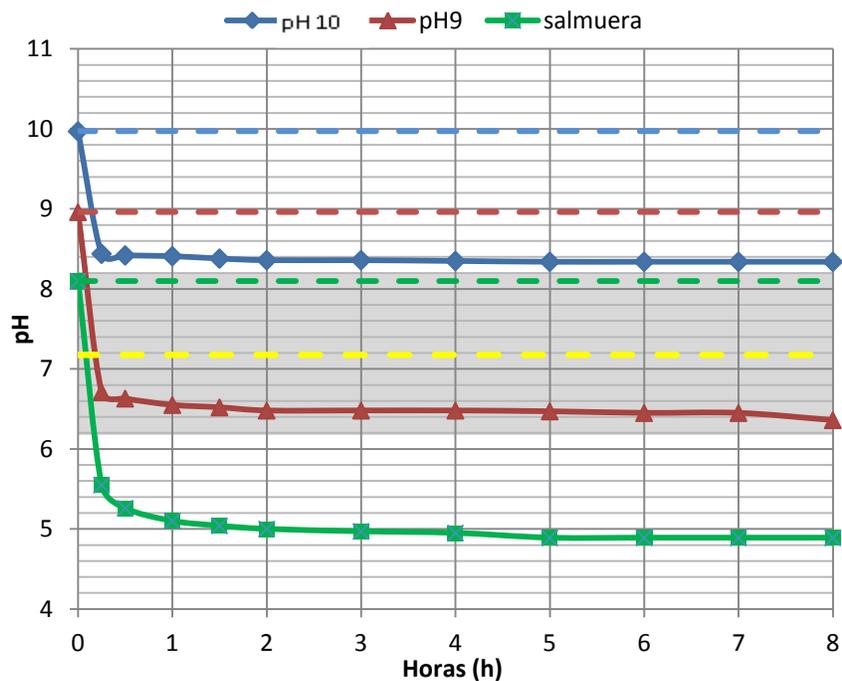
5.4. Determinación de la concentración de taninos en la testa del maní.

Para cuantificar totalmente el contenido tánico del episperma del maní es necesario primeramente extraerlo en su totalidad. Por tal razón se realizó un estudio para evaluar las mejores condiciones para realizar la extracción y remover del sustrato (testa de maní) la mayor cantidad posible del soluto (taninos). Debido a que se contó con dos diferentes sustratos, testa cruda y testa tostada, se evaluaron las condiciones de extracción para ambos.

La evaluación de las condiciones de extracción se realizó para ambos sustratos con tres solventes, dos soluciones de sulfito de sodio a pH's de 10 y 9, así también la salmuera con la que se realiza el salado en la práctica.

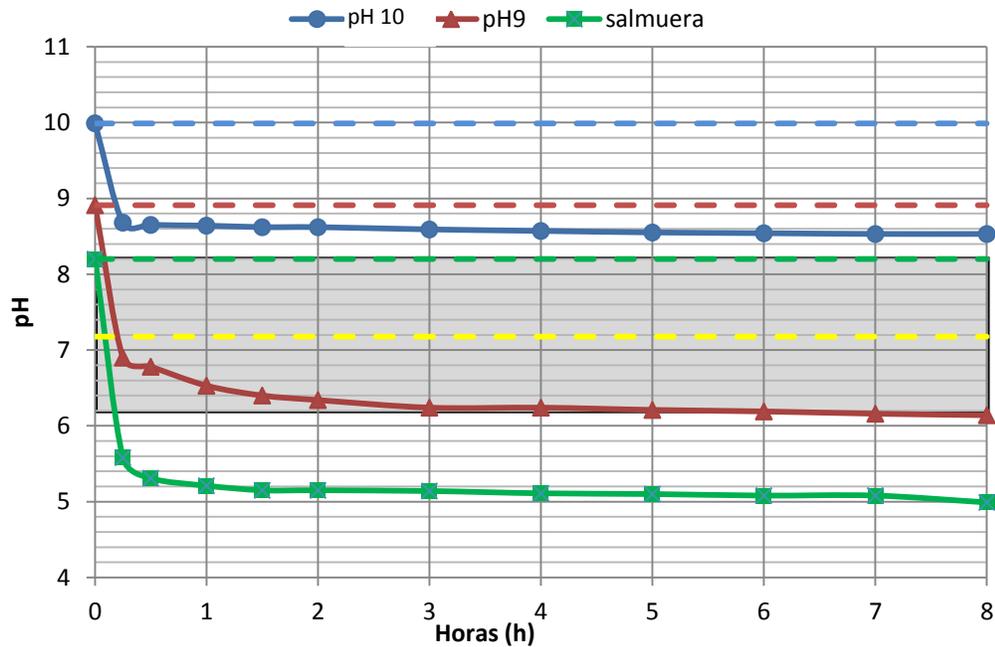
Para determinar cuál de estos solventes era el más apropiado para utilizar, se monitorearon tres propiedades del extracto durante todo el proceso de maceración dinámica, dichas propiedades fueron el pH, la densidad y los sólidos solubles en el solvente. Esto se realizó con el fin de detectar gráficamente el tiempo de extracción en el cual estas propiedades se estabilizaran, así como también los valores de las propiedades ya estables. A continuación se presentan las gráficas que indican cual es el comportamiento de la extracción de taninos de la testa del maní con respecto al tiempo. Todas las extracciones fueron realizadas bajo las mismas condiciones: 5 g testa, 300 mL solvente, 40 °C, 600 rpm.

Figura 11. **Monitoreo del pH del solvente de extracción para la testa cruda de maní: temperatura de extracción = 40 °C, 5 g de testa en 300 mL de solvente, agitación de 600 rpm**



Fuente: elaboración propia.

Figura 12. **Monitoreo del pH del solvente de extracción para la testa tostada de maní: temperatura de extracción = 40 °C, 5 g de testa en 300 mL de solvente, agitación de 600 rpm**



Fuente: elaboración propia.

De las gráficas de monitoreo presentadas puede observarse un comportamiento similar en la caída del pH del solvente de extracción según transcurre el tiempo. Sin embargo las caídas de pH no son iguales entre sí. La mayor variación en el pH la presentó la salmuera y la menor variación el extracto de sulfito de sodio con pH inicial de 10. Por ejemplo: para la testa cruda el cambio total para la solución de sulfito a pH 10 fue de 1,63 mientras el cambio de pH para la extracción con salmuera fue de 3,21. Esto muestra que la solución a pH 10 evidenció mayor capacidad para amortiguar el cambio en la acidez del solvente.

Comparando las extracciones a pH 9 y 10 se puede afirmar lo mismo, la variación en el pH de la solución de sulfito a pH inicial de 9 fue de 2,6 para la testa cruda. El mismo comportamiento en el cambio de pH's fue evidente para las extracciones de testa de maní tostado, pero este fue menor, pudiendo hacer referencia a una menor cantidad de tanino extraíble.

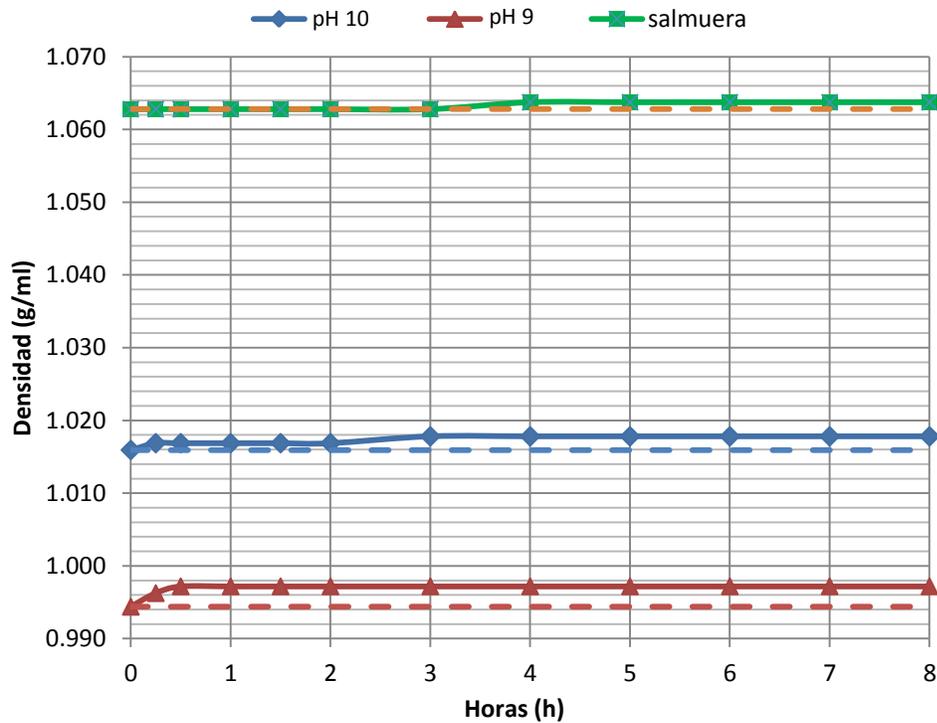
En las gráficas de monitoreo de pH presentadas se sombreó el área comprendida entre los pH's de 6,17, 7,17 y 8,17 representando los límites de la región óptima de amortiguación de pH del sulfito de sodio. Estos pH's también representan la proporción de las diferentes especies en equilibrio del sulfito de sodio. Por debajo del pH de 6,17 se cuenta con una alta proporción de bisulfito de sodio (HSO_3^-) en solución, al pH de 7,17 se cuenta con una igual proporción de HSO_3^- y de SO_3^{2-} y por encima de 8,17 la especie predominante es el SO_3^{2-} el cual funciona como un agente efectivo en la extracción.

Por tal razón es deseable garantizar que la maceración se realice siempre con una proporción considerable de la especie disociada (SO_3^{2-}) en solución. Ya sea con un pH final superior a 8,17 o por lo menos superior a 7,17. En los monitoreos de pH efectuados, solamente las extracciones con pH inicial de 10 cumplieron con este parámetro; y se puede garantizar que el sustrato estuvo siempre en contacto con el agente de extracción correcto.

Debe hacerse notar que para todas las extracciones realizadas, la acidez del solvente de extracción alcanzó su valor final y constante al cabo de 5 horas continuas de extracción.

El monitoreo efectuado a la densidad del solvente durante las extracciones se muestra a continuación. La densidad fue medida con un micro picnómetro con una capacidad de 1 mL a temperatura ambiente.

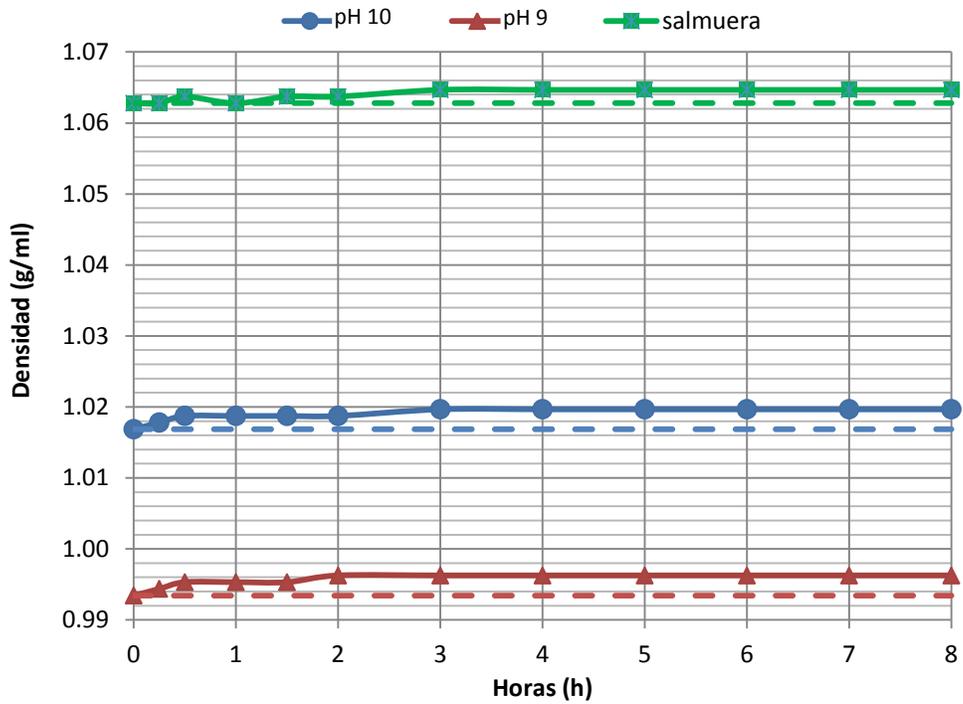
Figura 13. **Monitoreo de la densidad del solvente de extracción para la testa cruda de maní: temperatura de extracción = 40 °C. 5 g de testa en 300 mL de solvente, agitación de 600 rpm**



Fuente: elaboración propia.

Como puede observarse en las figuras 13 y 14, la variación en la densidad de los solventes de extracción a lo largo de la maceración fue muy pequeña y apenas perceptible por el método utilizado para medir la densidad. Para todas las extracciones realizadas se concluye que al cabo de 3 horas de monitoreo, la densidad del solvente había ya alcanzado un valor constante, el cual mantendría hasta el final de la maceración. El mayor aumento registrado en la densidad del solvente fue de apenas un 0,3% de su valor original.

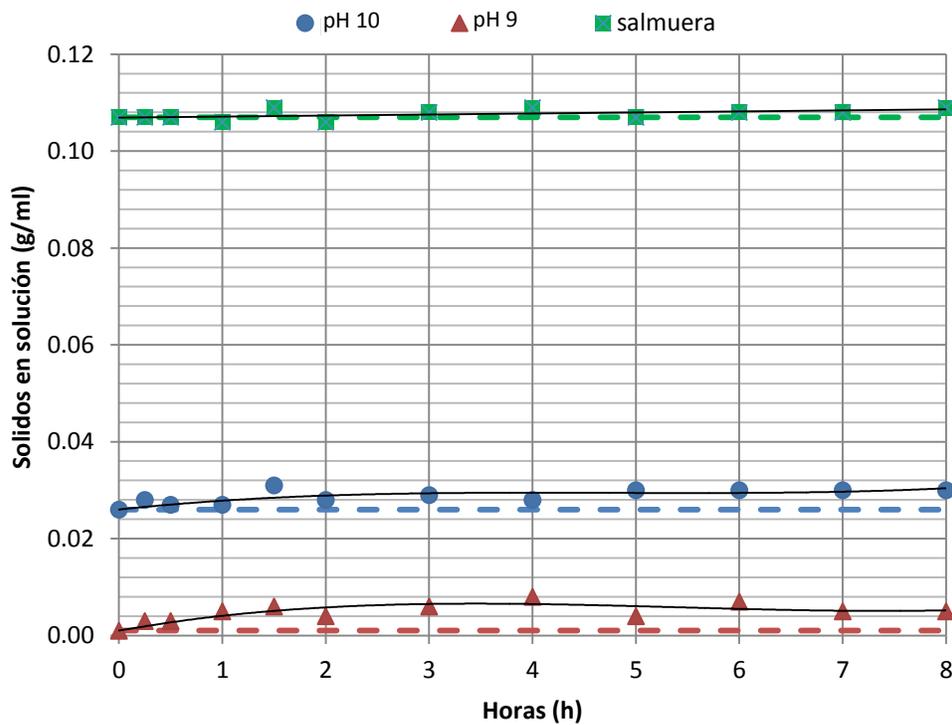
Figura 14. **Monitoreo de la densidad del solvente de extracción para la testa tostada de maní: temperatura de extracción = 40 °C. 5 g de testa en 300 mL de solvente, agitación de 600 rpm**



Fuente: elaboración propia.

En seguida se presenta las gráficas que resumen el comportamiento de los sólidos en solución de todas las extracciones preliminares realizadas, con el fin de determinar el mejor pH y tiempo de extracción.

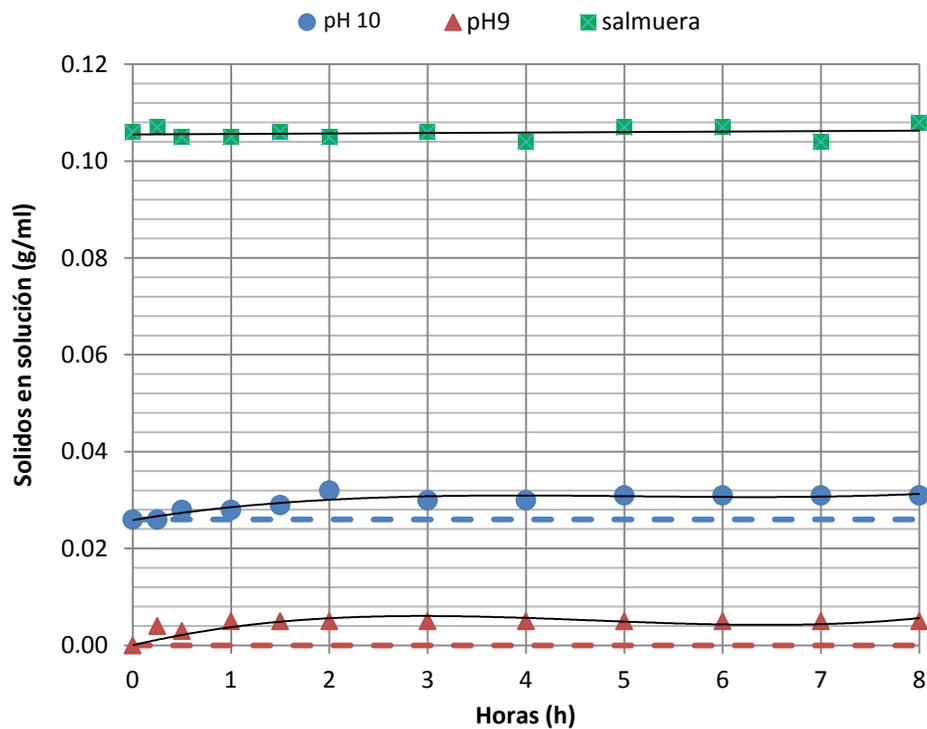
Figura 15. **Monitoreo de los sólidos en solución del solvente de extracción para la testa cruda de maní: temperatura de extracción = 40 °C, 5 g de testa en 300 mL de solvente, agitación de 600 rpm**



Fuente: elaboración propia.

Analizando las figuras 15 y 16, al igual que el monitoreo de la densidad de las extracciones, la cantidad de sólidos disueltos en el extracto se comportó de una forma similar. Al transcurrir 5 horas de maceración esta propiedad había alcanzado un valor constante que mantuvo hasta el final del período de monitoreo. Por tal razón se puede deducir que la extracción había llegado a su final, al no incrementar los sólidos disueltos en solución.

Figura 16. **Monitoreo de los sólidos en solución del solvente de extracción para la testa tostada de maní: temperatura de extracción = 40 °C. 5 g de testa en 300 mL de solvente, agitación de 600 rpm**



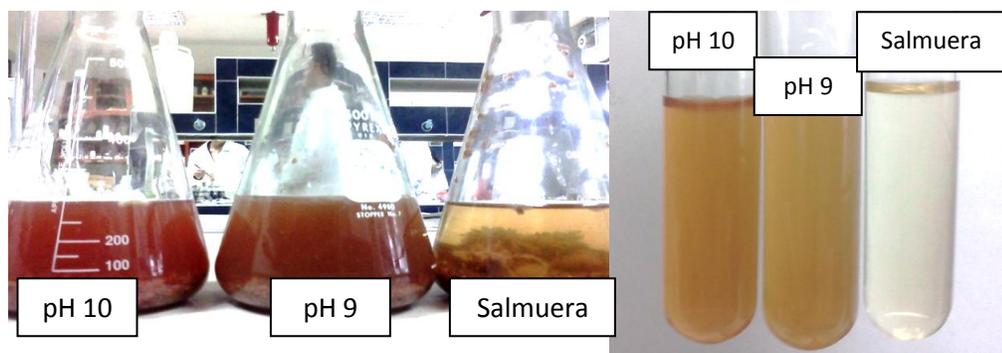
Fuente: elaboración propia.

La información presentada es suficiente para elegir las mejores condiciones para llevar a cabo la extracción del contenido tánico del maní. En base al tiempo de extracción, se puede decir que este puede reducirse a 5 horas, en vista que al cabo de 3 horas la densidad del solvente había alcanzado valores constantes, y al cabo de 5 horas se estabilizó también el pH y los sólidos disueltos inclusive.

Con respecto al solvente de extracción, se eligió la solución de sulfito de sodio con pH inicial de 10, ya que fue el único capaz de mantener en solución una capacidad tampón elevada. La solución de pH 10 de sulfito de sodio a 40 °C corresponde a una concentración de molar de 0,1983 mol/L o 25 g/L de sulfito de sodio. Esta concentración incluye las correcciones de pH por temperatura con la ecuación de Van't Hoff y las constantes de disociación del sulfito de sodio.

Las condiciones elegidas para llevar a cabo la extracción del contenido tánico del maní fueron: solvente de sulfito de sodio con pH 10, durante 5 horas continuas, para 5 gramos de testa seca de maní en 300 mL de solvente. Aparte de las razones antes expuestas, esta decisión se ve apoyada por la diferencia de coloración entre los extractos con sulfito de sodio a pH 10 y 9 y salmuera. A continuación se muestra en la figura 17, una imagen comparativa entre dichos extractos:

Figura 17. Coloración de los extractos para monitorear la maceración de la testa cruda del maní con tres solventes: temperatura de extracción = 40 °C, 5 g de testa en 300 mL de solvente, agitación de 600 rpm



Fuente: elaboración propia.

Habiendo seleccionado las mejores condiciones para realizar la extracción de taninos del sustrato, se procedió a realizar las extracciones finales de la testa de maní cruda y tostada para luego cuantificar su contenido tánico.

Cuando se prosiguió a cuantificar el contenido de taninos en los extractos de la testa cruda y tostada, se encontró un problema de interferencia en los resultados. Al utilizar los métodos de Lowenthal y Folin-Ciocalteu para determinar la cantidad de taninos, los resultados obtenidos eran negativos, ya que los valores de las blancas eran más altos a los correspondientes valores del extracto analizado. Este fenómeno se presentó debido a las razones que se explican a continuación.

En la extracción de taninos, al igual que en la elaboración de vinos, se tiene en solución tanto polifenoles (taninos) como sulfitos en diferentes proporciones. En la elaboración de vinos se agrega sulfito con el propósito de evitar la oxidación de los polifenoles por medio del oxígeno, actuando el sulfito como un preservante, que se oxida antes que los polifenoles del vino, los cuales le dan sus propiedades características.

Para tener una protección efectiva contra la oxidación por parte de los sulfitos, es necesario contar con sulfito libre en solución para reaccionar sin interrupciones con el oxígeno molecular. Debido a que en los vinos (como en el extracto obtenido) hay una fuerte presencia de polifenoles en solución, no todo el sulfito agregado a esta, queda como sulfito libre para reaccionar con oxígeno.

Gran parte del preservante agregado queda ligado a los polifenoles en solución y otra pequeña parte queda libre. La porción del sulfito que queda ligada a los polifenoles se divide a su vez en dos tipos, el ligado de forma

reversible y el ligado en forma irreversible. El sulfito ligado en forma reversible puede pasar a sulfito libre si las condiciones del medio lo requieren.

La parte de sulfito libre consiste también en tres partes, correspondientes a las tres posibles especies del sulfito en solución, estas son: H_2SO_3 (Ácido sulfuroso), HSO_3^- (Bisulfito) y SO_3^{2-} (sulfito) y sus proporciones dependen del pH del medio. Las constantes de disociación del ácido sulfuroso son $pK_1 = 1,71$ y $pK_2 = 7,17$, por lo tanto, a un pH por arriba de 7,17 la especie predominante es el sulfito, a un pH entre 1,71 y 7,17 la especie predominante es el bisulfito, y a valores de pH menores de 1,71 la especie en mayor proporción es el ácido sulfuroso. En el caso de los vinos, la protección más efectiva contra la oxidación la brinda el ácido sulfuroso.

Debido a que los métodos utilizados para cuantificar los taninos en los extractos de la testa de maní, se basan en la reducción de polifenoles totales, los sulfitos presentaron una interferencia considerable, ya que éstos pueden ser fácilmente reducidos a iones sulfato por el permanganato de potasio o el reactivo de Folin-Ciocalteu. Por lo tanto, durante los primeros análisis efectuados, solamente la porción de sulfitos libres fue oxidada, siendo menores estas concentraciones que las obtenidas de sus respectivas muestras blancas de contraste con la solución de sulfitos original.

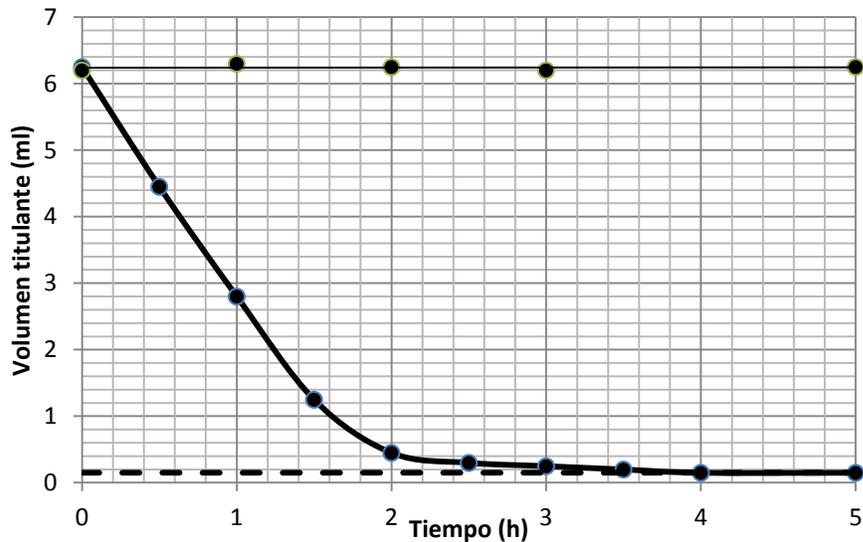
Tras realizar esta observación, se recurrió a eliminar los sulfitos libres en el extracto selectivamente y sin eliminar o dañar los polifenoles a cuantificar. Para esto se utilizó una de las propiedades características del ácido sulfuroso. La fórmula del ácido sulfuroso H_2SO_3 representa el producto de un equilibrio químico en el cual el SO_2 gaseoso reacciona con una molécula de agua para formar ácido sulfuroso en solución, gracias a esta propiedad se logró eliminar el sulfito del extracto inicial en forma de SO_2 gaseoso.

Para eliminar los sulfitos como SO_2 gaseoso, es primeramente necesario modificar la acidez del extracto de tal forma que esta favorezca la producción del SO_2 . Esto es, desplazar el equilibrio del sulfito en solución a un pH en el cual la mayor parte de este se encuentre como la especie predominante. Como se mencionó anteriormente, por debajo de un pH de 1,71 la especie en mayor proporción es el H_2SO_3 , que es SO_2 en solución. Específicamente, es necesario bajar el pH a 0,71 para garantizar que el 90,9% del sulfito presente se encuentra en la forma de la especie SO_2 .

Con la mayor proporción de sulfitos en forma de SO_2 gaseoso en solución, la expulsión de este gas se da fácilmente por una agitación vigorosa del extracto. Debe tomarse en cuenta que la expulsión de SO_2 gaseoso de la solución acuosa conlleva un aumento en el pH de esta, razón por la cual puede volver a desplazarse el equilibrio y disminuir la cantidad de SO_2 expulsado. Es necesario mantener el pH del extracto a un valor de 0,71 o menor para aumentar la velocidad con la que se extrae el SO_2 gaseoso.

En la práctica, se realizó un estudio en el cual se determinó el tiempo y volumen de ácido sulfúrico H_2SO_4 necesarios, para llevar a cabo una eliminación completa de todo el contenido de sulfitos del solvente de extracción inicial. La siguiente curva, muestra el comportamiento en los volúmenes de titulación de permanganato de potasio gastados en la titulación del solvente con indicador de índigo de carmín (método de Lowenthal).

Figura 18. **Curva de eliminación de sulfitos por acidificación con ácido Sulfúrico. 2 mL de ácido sulfúrico concentrado – 300 mL de extracto tánico, temperatura ambiente, agitación de 600 rpm**



Fuente: elaboración propia.

En la figura 18, la línea recta superior es una muestra de solvente que se mantuvo en agitación vigorosa paralelamente pero sin adicionarle ácido, con el fin de mostrar que la reducción en los volúmenes de titulación no son producto de la oxidación del sulfito por el oxígeno en el ambiente. La línea recta inferior, marca el volumen de titulante gastado para muestras de agua destilada, lo cual demuestra que al cabo de las 5 horas de agitación, los sulfitos habían sido totalmente eliminados del solvente.

Como puede verse, para una muestra de 300 mL del solvente de extracción (sulfito de sodio a 25 g/L), al adicionarle 2 mL de ácido sulfúrico concentrado y mantenerlo en agitación vigorosa constante de 600 rpm, se logra eliminar completamente el sulfito en solución. La suposición de la eliminación

total del sulfito del solvente por las razones descritas anteriormente, se hizo extensiva a los extractos de la testa de maní, ya que éstas contienen aún menos sulfitos libres por eliminar que el solvente de extracción.

Luego de la eliminación de los sulfitos del extracto tánico de la testa del maní, se procedió finalmente a la determinación de la cantidad de taninos presentes en dichos extractos.

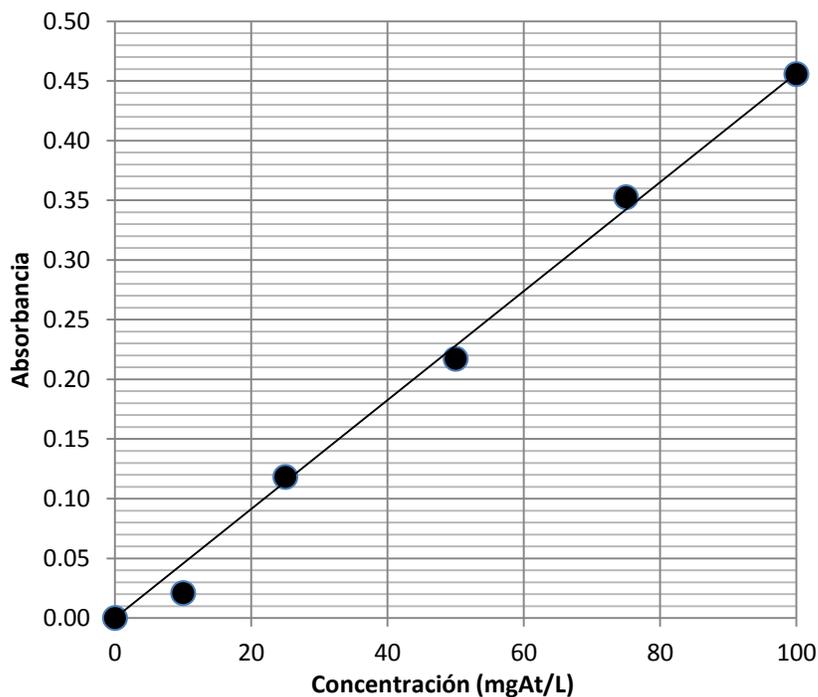
Ya que el concepto de tanino abarca diferentes tipos, tamaños y fórmulas de polifenoles, fue necesario utilizar un tanino puro y cuya fórmula y estructura fuera conocida, como referencia para cuantificar el contenido total de taninos en el extracto. El tanino de referencia utilizado fue el Ácido Tánico grado reactivo, decagalailglucosa, cuya fórmula es $C_{76}H_{52}O_{46}$. De esta forma, los resultados de la concentraciones determinadas hacen alusión a gramos de ácido tánico, debiéndose interpretar no como gramos de masa tangible, sino como la cantidad de taninos presentes con una reactividad igual a el número de gramos de ácido tánico.

Para la cuantificación por el método de Lowenthal, se preparó una solución con una concentración conocida de ácido tánico, y luego se analizó para determinar la relación entre la masa de ácido tánico y volumen de titulante que hacen posible la neutralización total. La relación obtenida fue de 0,00405 gramos de ácido tánico por mililitro de permanganato de potasio.

Para la cuantificación por el método de Folin-Ciocalteu, fue necesaria la elaboración de una curva de calibración para el espectrofotómetro utilizado. Ya que este método presenta mayor sensibilidad a 760 nm, se realizó la curva de calibración utilizando las concentraciones que dieran el mayor rango posible de

transmitancia en el espectrofotómetro utilizado. A continuación se muestra el resultado de la calibración.

Figura 19. **Curva de calibración para el método de Folin – Ciocalteu, espectrofotómetro análogo Bosch & Laumb: Spectronic 20. Longitud de onda = 760 nm**



Modelo matemático:	$A_{760nm} = 0,00469127 * C(mgAt/L)$
Correlación:	$R^2 = 0,9949$

Fuente: elaboración propia.

La concentración de taninos en los extractos de la testa cruda y tostada de maní son presentados en la sección de resultados y de ellos se pueden obtener numerosas interpretaciones.

A pesar de la semejanza en las concentraciones calculadas para un mismo extracto, los datos obtenidos por ambos métodos resultan tener magnitudes distintas. Al comparar las medias de ambos métodos, tanto para la testa cruda como la testa tostada por medio del método de comparación de medias aritméticas de t student, puede afirmarse que ambos métodos arrojan resultados estadísticamente distintos.

Al considerar que el método de Folin-Ciocalteu instrumental, que utiliza espectrofotómetro y un reactivo específico para polifenoles, y que la magnitud de los valores obtenidos por el método de Lowenthal es menor en todos los casos a la del Folin-Ciocalteu, puede interpretarse que éste posee una mayor sensibilidad a la detección de polifenoles en solución.

Al comparar las concentraciones de taninos en la testa cruda y tostada, puede verse que, para ambos métodos cuantitativos la cantidad de taninos en la testa tostada disminuyó a aproximadamente el 60% del valor encontrado para la testa cruda. Esta disminución en la cantidad de taninos contenidos en la testa del maní, puede deberse solamente a dos procesos, el salado de 12 horas del maní o el tostado en horno. Ya que la cantidad de taninos que son extraídos de la testa del maní durante el salado de 12 horas es mínima (aproximadamente 1,26 mgAt/gT), entonces puede interpretarse que la reducción del nivel de taninos dentro de la testa del maní se debe a la descomposición térmica de estos durante el proceso de tostado.

Al realizar un análisis estadístico de diferencia de medias para la cantidad de taninos en la testa cruda y la testa tostada, se concluyó que, para ambos métodos, la cantidad de taninos en ambos sustratos es estadísticamente distinta, por lo cual se puede arribar las conclusiones mencionadas.

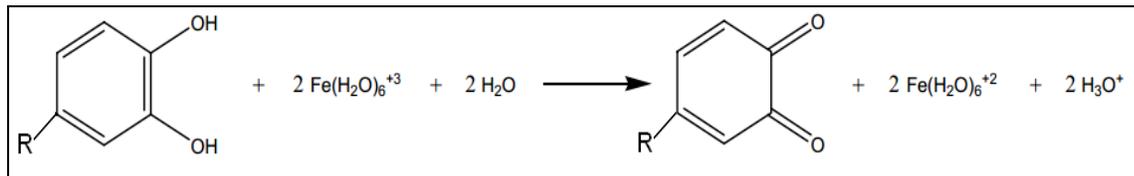
Tomando la cantidad de taninos en la testa tostada determinada por el método de Folin-Ciocalteu, y considerando la producción anual de maní de 565 quintales que equivalen a 15,14 quintales de testa de maní, se puede calcular, que la cantidad total de taninos de los que dispone el beneficio es de 1,28 quintales o 58,22 kilogramos anuales.

Para obtener estos 58,22 kg anuales de tanino (representado como ácido tánico), se asumió que a la producción total de maní tostado se le retiró toda la testa y se le procesó para obtener el extracto tánico del episperma del maní. Por esta razón puede afirmarse que, la producción total de taninos de testa de maní no puede tener el volumen necesario para generar ganancias económicas al beneficio.

Para determinar el tipo de taninos presentes en la testa del maní, se realizó una prueba cualitativa con cloruro férrico FeCl_3 a ambos extractos de testa cruda y tostada. Esta prueba se basa en la reducción de iones férricos a ferrosos y su detección por medio de la formación de precipitados coloridos, ya que la mayoría de fenoles reducen el ión férrico con un rendimiento que depende de su estructura. De esta forma, al agregar cloruro férrico al 2% al extracto tánico y observar la formación de un precipitado color violeta oscuro se asume la presencia de taninos hidrolizables. Por otro lado, si el precipitado formado es de coloración verde oscuro, se tienen taninos condensados o catéquicos en el extracto.

La coloración verde-café oscuro de la prueba de FeCl_3 es impartida por las quinonas, productos de oxidación de la reacción redox entre el catión $\text{Fe}(\text{III})$ y los flavonoides derivados de la catequina o epicatequina.

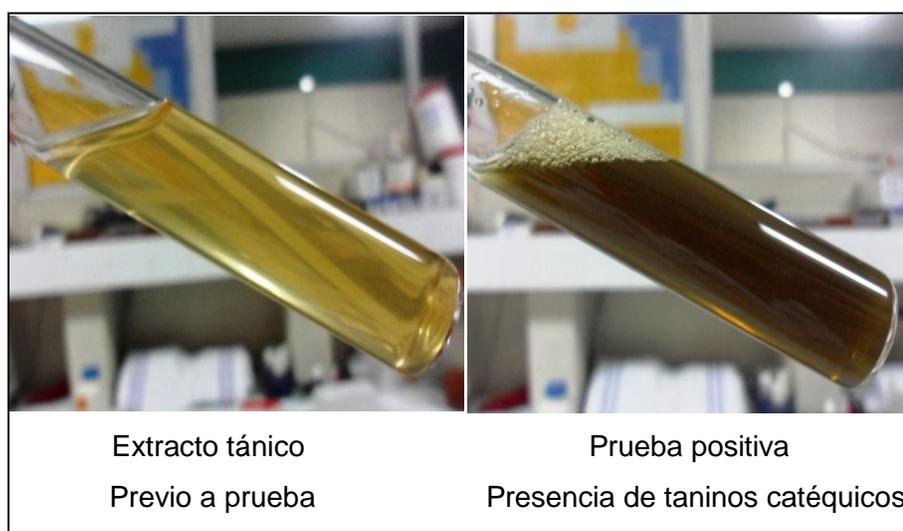
Figura 20. **Reacción de oxidación de los polifenoles catéquicos en la prueba cualitativa para presencia de taninos con FeCl_3**



Fuente: elaboración propia.

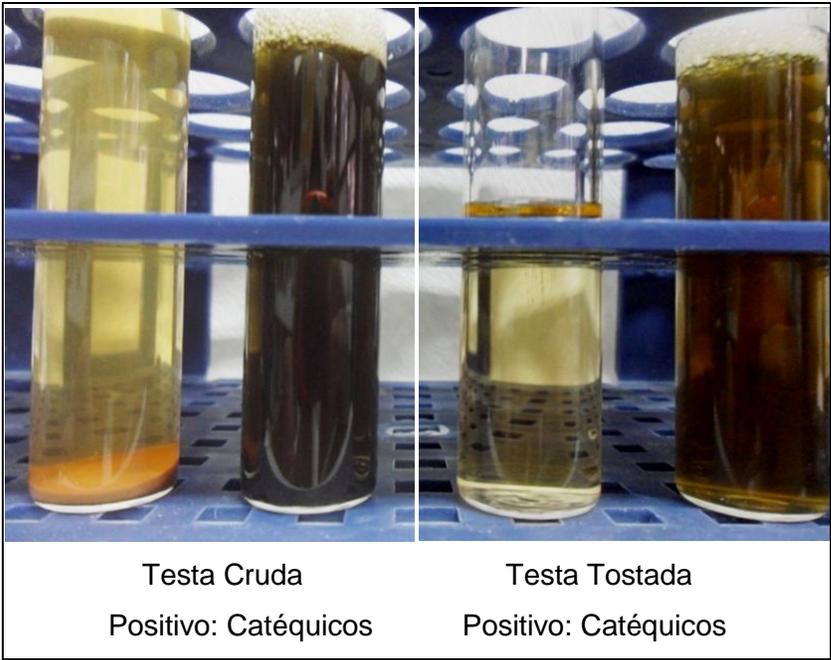
Las siguientes figuras muestran los resultados obtenidos para los dos extractos de testa de maní para la prueba de reducción de FeCl_3 , indicando que los taninos presentes en la testa del maní, tanto cruda como tostada son del tipo condensado a catéquico.

Figura 21. **Muestra de la prueba cualitativa para presencia de taninos con FeCl_3**



Fuente: elaboración propia.

Figura 21. Prueba cualitativa para presencia de taninos con FeCl_3 . Extracto de testa cruda y testa tostada



Fuente: elaboración propia.

CONCLUSIONES

1. La cantidad promedio de absorción de maní fue de 21,04g NaCl por cada kilogramo de maní (9,54 g NaCl / lb de maní), no se detectaron variaciones significativas a lo largo de los ciclos de reutilización de la salmuera.
2. No existe diferencia significativa en la calidad perceptible del sabor del maní a través de los ciclos de reutilización de la salmuera.
3. El coeficiente de transferencia de masa calculado para la etapa de salado de maní es de $2,5 \times 10^{-5}$ m/h.
4. El proceso de salado del beneficio artesanal de maní utiliza aproximadamente el cuádruple de la sal necesaria para efectuar un salado de maní adecuado.
5. La concentración de taninos en la salmuera aumentó significativamente en cada ciclo de reutilización; sin embargo, esta concentración es reducida y corresponde a un 0,62% del contenido tánico disponible en la testa.
6. Para las condiciones en que fueron monitoreadas las extracciones de taninos de la testa de maní cruda y salada, se obtuvieron los mejores resultados con solución de sulfito de sodio a pH 10 y 5 horas continuas de maceración dinámica.

7. El método de Folin-Ciocalteu presentó valores estadísticamente más altos que los obtenidos por el método de Lowenthal.
8. El método de eliminación de sulfitos como SO₂ gaseoso por acidificación, resultó ser efectivo para los propósitos de la cuantificación de taninos.
9. El contenido de taninos en la testa tostada del maní es menor al de la testa cruda y corresponde a un 60% del contenido de taninos de ésta.
10. Los taninos presentes en la testa cruda y tostada del maní son de tipo condensado, flavonoides derivados de la catequina.

RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio en el cual se determine la concentración y tiempo óptimos para el salado del maní, monitoreando concentraciones de sal y taninos respecto al tiempo y estableciendo el comportamiento del coeficiente de transferencia de masa a lo largo de todo el proceso de salado.
2. Hacer un estudio con el objetivo de comparar la percepción del sabor del maní según su nivel de tostado, por medio de pruebas hedónicas, con el objetivo de hallar un balance entre el nivel de tostado y la concentración de la salmuera, para reducir costos en compra de sal.
3. Realizar análisis microbiológicos a la salmuera después de cada recirculación, para detectar microorganismos patógenos y toxinas.
4. Determinar, por medio de experimentaciones, la relación existente entre la cantidad de salmuera absorbida por el maní y la concentración de ésta, con el fin de calcular la resistencia que la testa presenta a la difusión del cloruro de sodio dentro de la semilla.
5. Es recomendable realizar una curva de eliminación de sulfitos por acidificación cada vez que se pretenda cuantificar taninos o polifenoles en un extracto vegetal realizado con soluciones de sulfito de sodio. Las condiciones de operación para cada eliminación de sulfitos del solvente dependen del volumen de extracto y la concentración de sulfitos en solución.

6. Mejorar la cuantificación del contenido tánico de la testa del maní utilizando el método de precipitación de proteínas con los métodos de Lowenthal y Folin-Ciocalteu utilizados en el presente estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. BERGANZA, Jorge. *Covarianza entre rendimiento y población en 23 variedades de maní (Arachis Hypogaea)*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 1970. 33 p.
2. BRUNETON, Jean. *Farmacognosia: fitoquímica, plantas medicinales*. España: Technique el Documentation-Lavoisier, 2001. 735 p.
3. CERREZO, Otto. *Evaluación del contenido de taninos (ácido tánico) en el extracto acuoso y etanólico a nivel laboratorio, obtenido del fruto del palo de cera o arrayán o cera san pascual (myrica cerifera l.)*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 2005. 53 p.
4. COY, Edwin. *Evaluación de ocho genotipos de maní con tres densidades de siembra, en el municipio de Chiquimula, departamento de Chiquimula*. Trabajo de graduación de Agronomía. Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala, 1995. 59 p.
5. DAY, R. A; UNDERWOOD, A. *Química analítica cuantitativa*. 5ª ed. México: Prentice-Hall, 1989. 841 p.
6. DICK, John. *Química analítica*. México D.F: El manual moderno, 1979. 747 p.

7. EQUITÉ, Madeleine. *Determinación del contenido de taninos en el extracto tánico de la corteza de melina (gmelina arborea roxb.), utilizando dos métodos de extracción a nivel laboratorio*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 2004. 52 p.
8. ESPINAL, Natalia. *Extracción y caracterización fisicoquímica del contenido tánico en la corteza de cinco especies forestales procedentes del departamento de Petén, aprovechando el subproducto de la industria de aserradero*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 2009. 265 p.
9. FINALYSON PITTS, Bárbara. *Chemistry of the upper and lower atmosphere*. Estados Unidos: Academic Press, 2000. 969 p.
10. GÓMEZ, Edson. *Comparación del porcentaje de extracto tánico de la corteza y de la madera de encino (quercus tristis liebm) proveniente de un bosque natural*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 2004. 76 p.
11. HAGERMAN, A.; *Tannin Handbook*. [en línea] Estados Unidos: Miami University, <http://chemistry.muohio.edu/hagerman/Index.php/handbook/15-handbook-intro>. [Consulta: 10 de enero de 2012].
12. HEMINGWAY, Richard; LAKS, Pete. *Plant Polyphenols: Synthesis, Properties, Significance*. Estados Unidos: Basic Life Sciences, 1992. 1063 p.

13. LEA, Andrew. *Methods for Cider Tannin Analysis*. [en línea]. Inglaterra. <http://www.cider.org.uk/tanmeths.htm>. [Consulta: 10 de enero de 2011].
14. MARROQUÍN, Adela. *Obtención del extracto tánico por maceración dinámica de la corteza de árboles jóvenes de cuatro especies forestales, a nivel laboratorio*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 2008. 233 p.
15. MARTÍNEZ, Carlos. *Caracterización de la variabilidad agro morfológica de cultivares de maní (Arachis Hypogaea L.), en la región oriental de Guatemala*. Trabajo de graduación de Agronomía. Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala, 2007. 58 p.
16. MONTENEGRO, Claudia. *Estudio experimental de la operación unitaria de separación sólido-líquido a nivel laboratorio, mediante la evaluación de diversos parámetros de interacción influyentes y de respuesta*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 2009. 157 p.
17. PERRY, Robert. *Manual del ingeniero químico*. 7ª ed. Estados Unidos: McGraw-Hill, 2001. 4 vols.
18. REYES, Memphis. *Aplicación del diseño experimental en el desarrollo de las prácticas internas, en el área de operaciones unitarias*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 2009. 165 p.

19. ROSALES, Martha; GONZÁLES, Rubén. *Comparación del contenido de compuestos fenólicos en la corteza de ocho especies de pino*. México: Instituto de Ecología A.C. Revista maderas y bosques. 2003, vol. 9, número 002. p. 41-49.

20. SARAVIDA, José. *Extracción y caracterización de taninos en corteza de 3 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. Guatemala, Centro de Investigaciones de Ingeniería (CII); Instituto de Investigaciones Agronómicas (IIA); Dirección General de Investigación (DIGI), 2002. 45 p.

21. VELÁSQUEZ, Ángela. *Extracción de taninos en el banano verde*. Antioquia, Colombia: Corporación Universitaria Lasallista. Revista lasallista de investigación. 2004, vol. 1 número 002. p. 17-22.

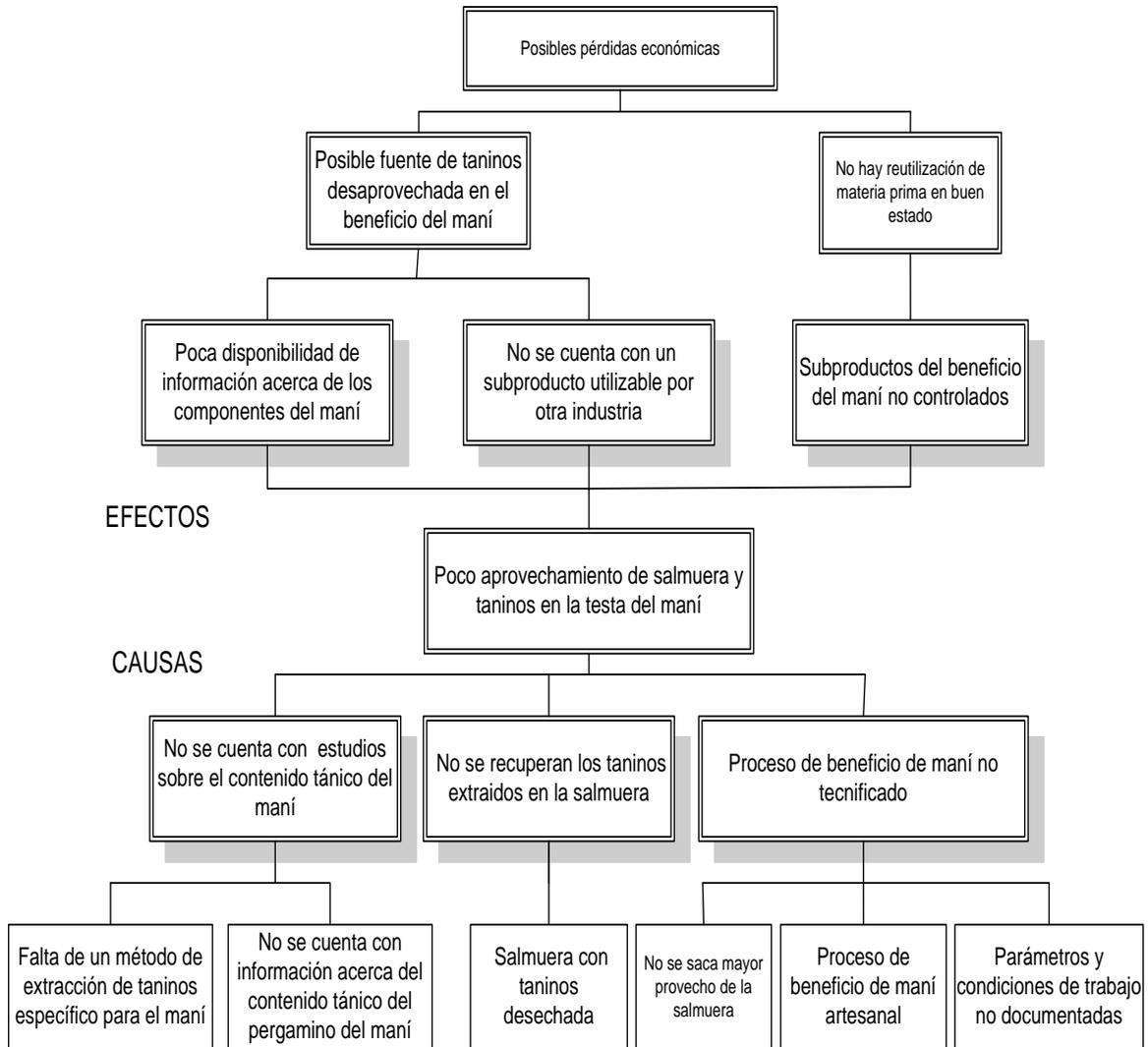
APÉNDICES

Apéndice 1. **Tabla de requisitos académicos**

1er Paso	2do Paso	3er Paso	4to Paso	5to Paso	6to Paso	7mo Paso		
Carrera	Área	Tema Genérico	Tema Específico	Especificación	Problema a resolver	Hipótesis		
Carrera	Química	Análisis Cualitativo	Equilibrio Químico	Equilibrio Ácido Base	Cuantificación de Taninos en la cutícula del maní.	Es posible realizar una extracción y cuantificación efectiva del contenido de taninos en la cutícula del maní.		
		Análisis Cuantitativo	Técnicas Analíticas	Volumetrias				
		Química Orgánica	Compuestos Orgánicos	Polifenoles y Taninos				
		Bioquímica	Proteínas	Propiedades de proteínas				
	Fisicoquímica	Laboratorio Fisicoquímica	Propiedades Físicas	Densidad, sólidos solubles			Evaluación de la reutilización de la salmuera del beneficiado del maní.	Es posible reutilizar la salmuera del beneficio del maní para reducir costos.
		Operaciones Unitarias	TDM (IQ4)	Principios de Transferencia de masa				
	TDM (IQ5)		Operaciones de TDM	Lixiviación				
	Flujo de Fluidos (IQ2)		Transferencia de momentum	Agitación y sedimentación				
	Área Complementaria	Estadística	Experimento por bloques al azar	Análisis de Varianza (ANOVA)				

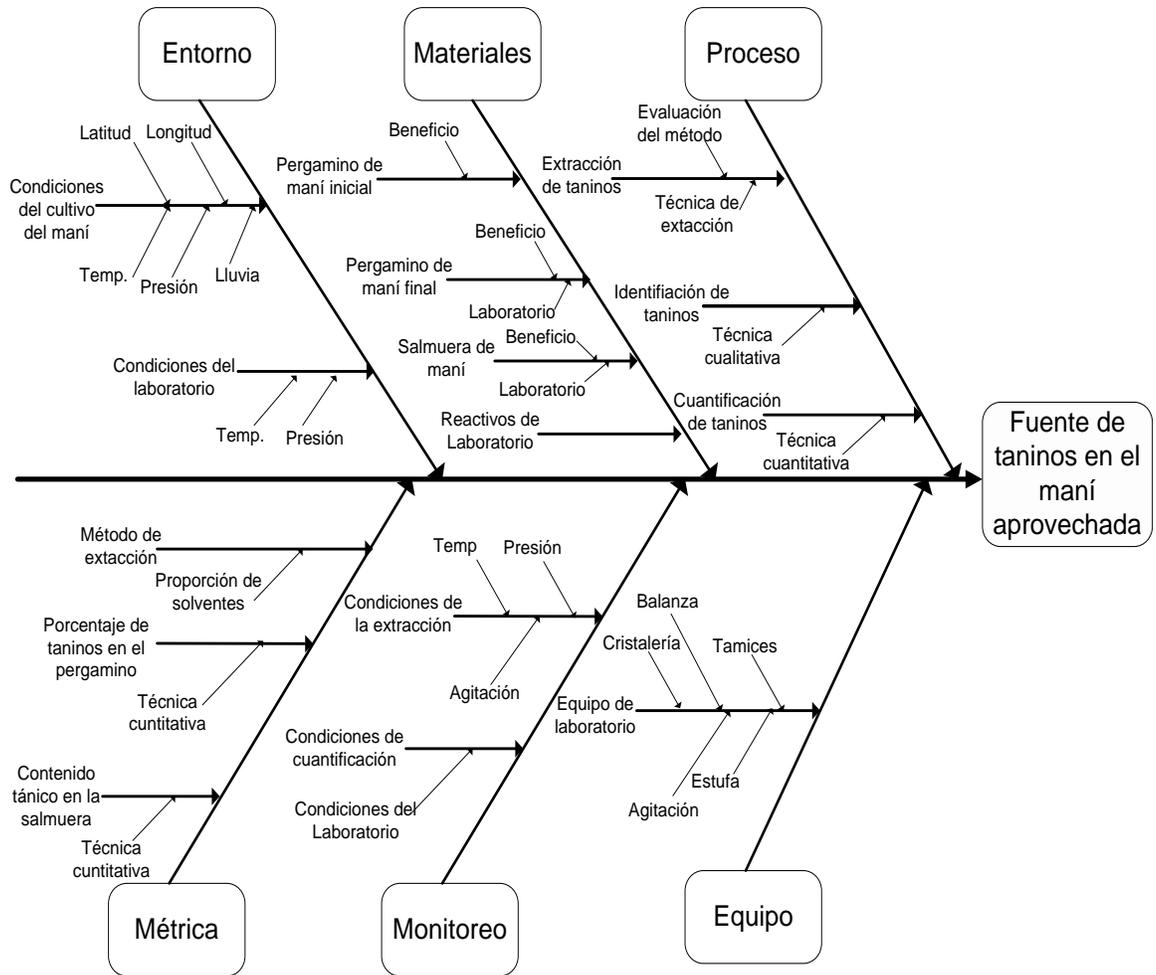
Fuente: elaboración propia.

Apéndice 2. **Árbol de problemas del estudio realizado**



Fuente: elaboración propia.

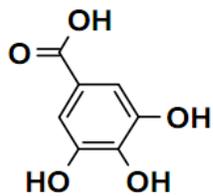
Apéndice 3. Diagrama de Ishikawa del estudio realizado



Fuente: elaboración propia.

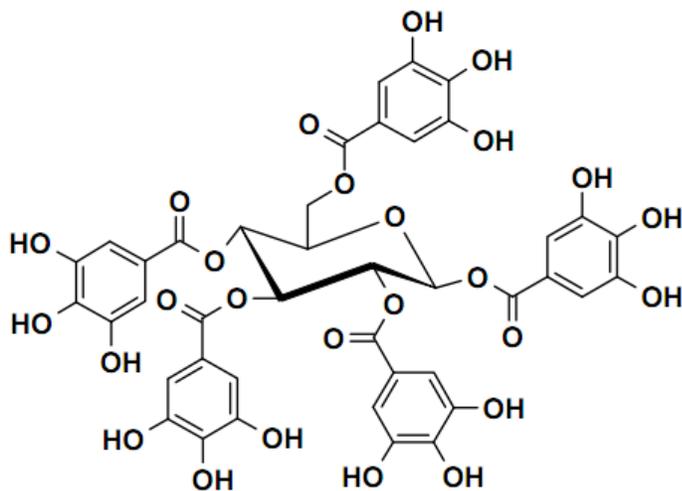
Apéndice 4. Estructura de los taninos hidrolizables

Ácido gálico, base fundamental para la formación de los taninos hidrolizables.



Ácido Gálico

Glucosilación de 5 grupos galoílicos a una molécula de glucosa. Pentagaloilglucosa.

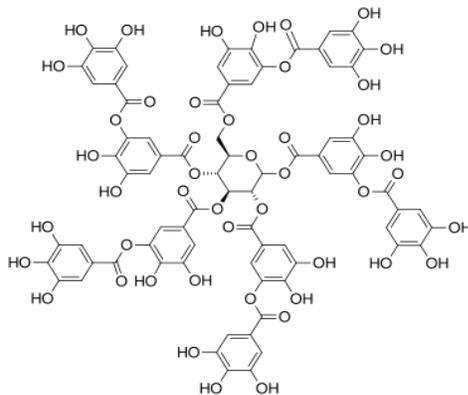


Pentagaloilglucosa

Continuación apéndice 4.

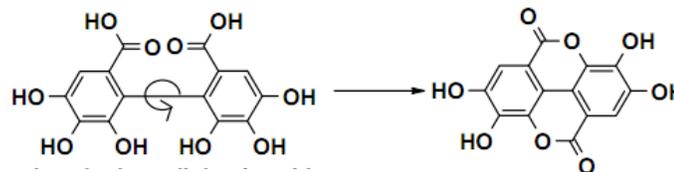
Evolución de la pentagaloilglucosa a un tanino más grande.

Decagaloilglucosa



Decagaloilglucosa (Ácido Tánico)

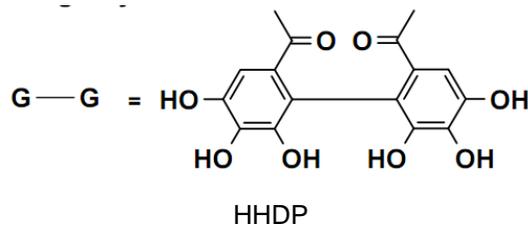
Estructura del ácido elágico y formación del HHDP a partir de dos restos galoílicos acoplados a una glucosa.



Ácido Gálico

Ácido Elágico

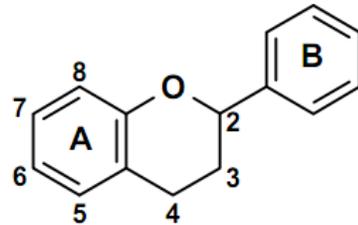
Formación de ácido elágico a partir de dos moléculas de ácido gálico



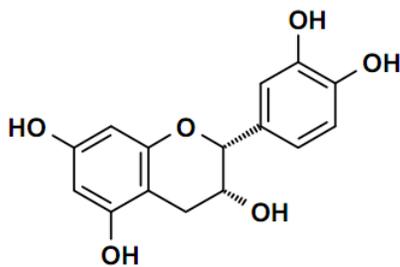
Fuente: elaboración propia.

Apéndice 5. Estructura de los taninos condensados

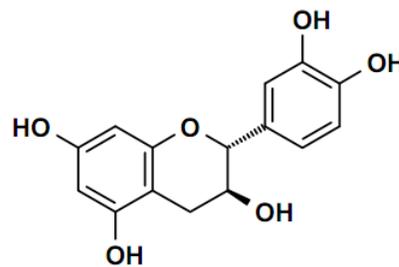
Esqueleto Flavonoide. Letras y numeración estándar.



Epicatequina y catequina.

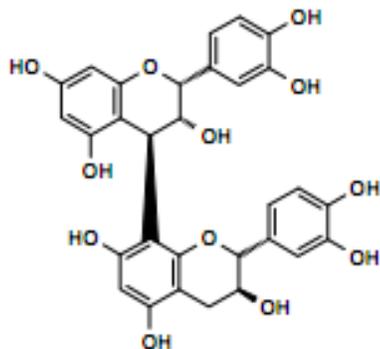


Epicatequina

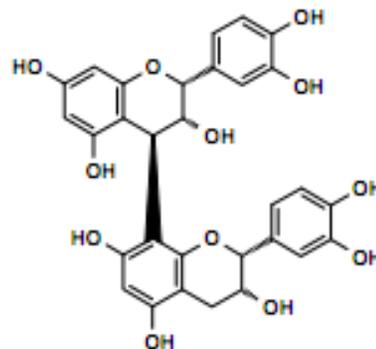


Catequina

Unión de flavonoides en C8 y C4. Cuatro formas más comunes,

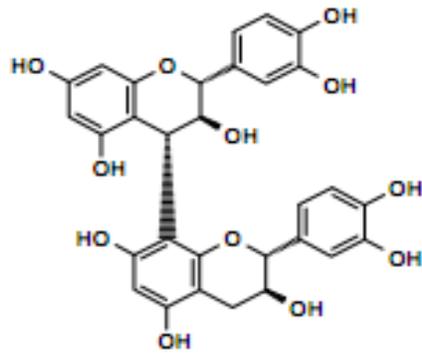


B1: Epicatequina (4 β ->8) catequina

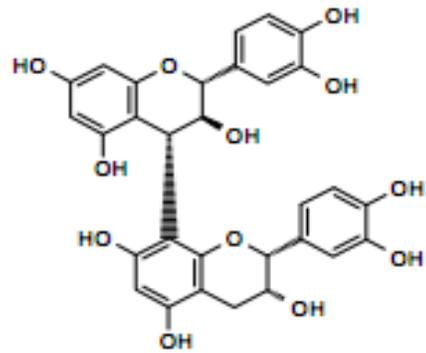


B2: Epicatequina (4 β ->8) epicatequina

Continuación apéndice 5.

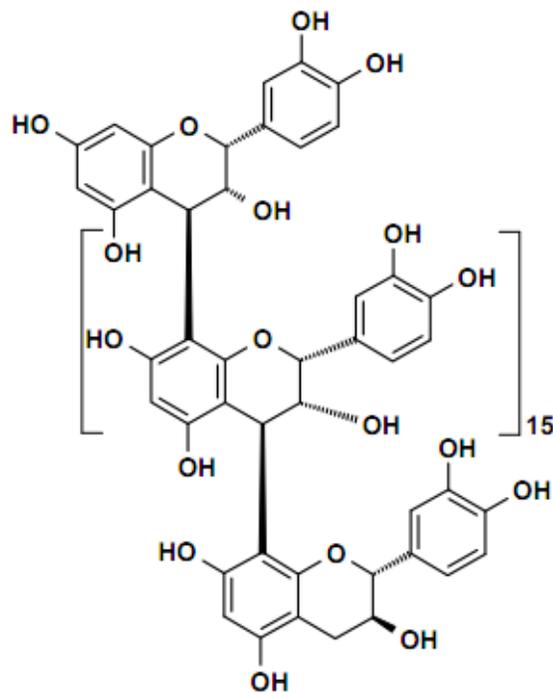


B3: Catequina (4 α ->8) catequina



B4: Catequina (4 α ->8) epicatequina

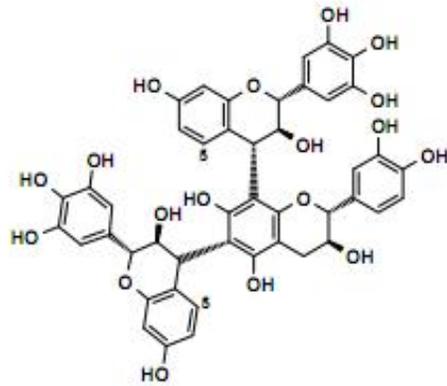
Polimerización lineal entre carbonos 4 y 8 de flavonoides comunes.



Epicatequina - [(4 β ->8) epicatequina]₁₅- (4 β ->8) - catequina

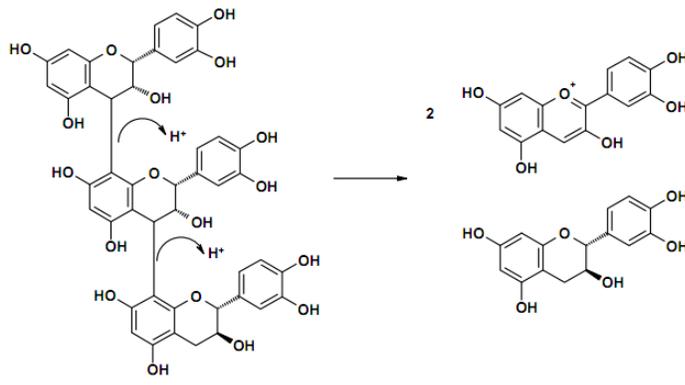
Tanino Condensado – Proantocianidina lineal de enlaces 4,8

Continuación apéndice 5.



Ejemplo de un polímero de 5 desoxi-flavan-3-oles

Ruptura oxidativa de enlaces de las proantocianidinas tratadas con butanol ácido.



Polímero de 2 epicatequinas y 1 catequina, al ser tratada con butanol ácido produce dos epicatequinas y una catequina. Las epicatequinas (no terminales) resultan ser más reactivas por la ruptura, el anillo heterocíclico pasa a ser electrofílico

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 6. Procedimientos cualitativos y cuantitativos realizados

Determinación de cloruros en salmuera. (Método de Mohr)

1. Filtrar una alícuota de la salmuera a analizar.
2. Con una pipeta volumétrica tomar 1 mL de la alícuota filtrada y colocarlos dentro de un balón aforado de 100 mL.
3. Aforar con agua destilada el balón de 100 mL. (Se completa la dilución 1:100)
4. Con otra pipeta volumétrica tomar 10 mL de la dilución realizada y trasladarlos a un matraz earlenmeyer de 250 mL.
5. Adicionar aproximadamente 100 mL de agua destilada e introducir un agitador magnético.
6. Adicionar 5 gotas de una solución al 5% de cromato de potasio (K_2CrO_4) como indicador.
7. Titular el analito con una solución 0,1 M de nitrato de plata ($AgNO_3$). La titulación debe de realizarse con una microbureta y cubrirse con papel aluminio para impedir el contacto con la luz directa del sol.
8. Anotar el volumen gastado.

Justificación del Método: para determinar si el método que se presentado es efectivo se realizó una prueba preliminar utilizando el mismo procedimiento descrito. Los resultados fueron positivos, ya que se logró obtener poca variación en los volúmenes obtenidos y sin un gasto considerable en el reactivo de nitrato de plata.

Continuación apéndice 6.

Cálculos:

A) Concentración de cloruros en la salmuera:

$$C_{\text{sal}}(\text{mol/L}) = \frac{\text{Vol AgNO}_3(\text{ml})}{1000 \text{ ml}} * \frac{0.1 \text{ mol AgNO}_3}{1 \text{ mol AgNO}_3} * \frac{1 \text{ mol NaCl}}{10 \text{ ml alicuota}} * \frac{100 \text{ ml alicuota}}{1 \text{ ml salmuera}} * \frac{1000 \text{ ml salmuera}}{1 \text{ L salmuera}}$$
$$C_{\text{sal}}(\text{mol/L}) = \text{Vol AgNO}_3 (\text{ml}) * \frac{0,1 * 1 * 100 * 1000}{1000 * 1 * 10} = \text{Vol AgNO}_3 (\text{ml}) * \frac{10000}{10000}$$

$$\rightarrow C_{\text{sal}}(\text{mol/L}) = \text{Vol AgNO}_3 (\text{ml})$$

La concentración molar de cloruros en la salmuera es numéricamente igual a los mililitros de titulante gastado si se sigue el procedimiento presentado.

Determinación de cloruros en el maní.

1. Pesar 10 gramos de maní tostado en una balanza.
2. Triturar el maní con la ayuda de un procesador de alimentos limpio y libre de contaminantes.
3. Depositar todo el maní triturado en un beacker lavando la licuadora con agua destilada para evitar pérdidas de maní y cloruros.
4. Adicionar 300 mL de agua destilada al maní triturado y agitar durante media hora.
5. Filtrar el maní y lavar el sólido con agua destilada.
6. Aforar el líquido obtenido a 1000 mL con agua destilada.
7. Con otra pipeta volumétrica tomar 10 mL de la dilución realizada y trasladarlos a un matraz earlenmeyer de 250 mL.

Continuación apéndice 6.

8. Adicionar aproximadamente 100 mL de agua destilada e introducir un agitador magnético.
9. Adicionar 5 gotas de una solución al 5% de cromato de potasio (K_2CrO_4) como indicador.
10. Titular el analito con una solución 0.1 M de nitrato de plata ($AgNO_3$). La titulación debe realizarse con una microbureta y cubrirse con papel aluminio para impedir el contacto con la luz directa del sol.

A) Concentración de cloruros en la salmuera:

$$C_{sal}(\text{mol/L}) = \frac{\text{Vol } AgNO_3(\text{ml})}{10 \text{ ml}} * \frac{0.1 \text{ mol } AgNO_3}{1000 \text{ ml } AgNO_3} * \frac{1 \text{ mol NaCl}}{1 \text{ mol } AgNO_3} * \frac{58,35 \text{ g NaCl}}{1 \text{ mol NaCl}} * \frac{1000 \text{ ml}}{10 \text{ g Maní}} * 500 \text{ g maní/lote}$$

$$C_{sal}(\text{mol/L}) = \text{Vol } AgNO_3(\text{ml}) * \frac{0,1 * 1 * 58,35 * 1000 * 500}{10 * 1000 * 1 * 1 * 10} = \text{Vol } AgNO_3(\text{ml}) * 29,175$$

$$\rightarrow C_{sal}(\text{mol/L}) = \text{Vol } AgNO_3(\text{ml}) * 58,35$$

La concentración molar de cloruros retenidos por el lote de 500 g de maní es numéricamente igual a los mililitros de titulante gastado por 58,35 si se sigue el procedimiento presentado.

Evaluación de la reutilización de la salmuera

1. Preparar 9 kilogramos de maní crudo. Homogenizar la muestra de maní crudo con testa y separarla en 18 lotes de 500 g cada uno.

Continuación apéndice 6.

2. Realizar un análisis de cloruros por el método de Mohr a la salmuera inicial y al maní crudo sin salar.
3. Introducir 1200 mL de salmuera inicial preparada en tres recipientes plásticos, con 400 mL de salmuera en cada uno.
4. Tomar los primeros tres lotes de 500 g de maní crudo con testa y colocarlo dentro de los recipientes plásticos con salmuera.
5. Agitar suavemente y dejar reposar por 12 horas.
6. Al cumplirse las 12 h de salado, filtrar la salmuera y recuperar el maní salado.
7. Tomar una alícuota de 5 mL de la salmuera y analizar su contenido de cloruros por el método de Mohr y su contenido de taninos por los métodos de Lowenthal y Folin-Ciocalteu.
8. Medir el volumen de salmuera retenida por el maní y reponer la salmuera necesaria para tener 400 mL de salmuera en cada recipiente plástico.
9. Colocar el segundo lote de maní con cascarilla para su salado.
10. Al maní recién sacado de la salmuera, secarlo al sol hasta que todo el grano esté seco al tacto.
11. Tostar el maní salado y seco a 170 °C durante 10 minutos en un horno para altas temperaturas.
12. Efectuar un análisis de la cantidad de cloruros presentes en la en maní.
13. Repetir el proceso 5 ciclos más, almacenando por separado el maní obtenido por cada reutilización de la salmuera y tomando nota de las cantidades de cloruros y taninos cuantificadas.

Continuación apéndice 6.

Determinación cualitativa de la presencia de taninos en el maní

1. En un tubo de ensayo colocar una alícuota de 5 mL del extracto tánico previamente filtrado.
2. Agregar dos gotas de una solución del FeCl_3 al 2%.

Criterio: si la solución se torna azul-oscuro hay presencia de taninos hidrolizables, si se torna verde hay presencia de taninos catequínicos.

Monitoreo del pH en la solución extractiva

1. Calibrar el potenciómetro con soluciones buffer de pH 7 y 10 previo a realizar las mediciones.
2. Asegurarse que el electrodo se encuentra limpio antes de introducirlo a la solución extractiva. Puede lavarse con agua destilada.
3. Introducir el potenciómetro en la solución extractiva y anotar la lectura que brinda el aparato.
4. Tomar nota de la temperatura a la que se realiza la lectura.

Monitoreo de la densidad en la solución extractiva

1. Pesar en una balanza y tomar nota del peso del micro picnómetro a utilizar antes de hacer las mediciones
2. Separar una alícuota filtrada de aproximadamente 5 mL.
3. Bajar la temperatura de la muestra en baño frío.
4. Llenar el micro picnómetro de 1 mL.
5. Pesar el micro picnómetro en una balanza analítica y anotar la lectura.

Continuación apéndice 6.

6. Regresar el líquido a la solución extractiva.
7. Lavar el picnómetro y dejarlo preparado para la siguiente lectura.

Cálculos:

A) Densidad de la solución extractiva:

$$\rho = \frac{m_{tot} - m_{pic}}{V}$$

Donde m_{tot} = masa total del picnómetro lleno. Gramos

m_{pic} = masa del picnómetro. Gramos

V = volumen del picnómetro. Mililitros

Monitoreo de los sólidos solubles en la solución

1. Preparar 27 corcholatas y etiquetarlas con los números del 0 al 8 en grupos de 3.
2. Pesar cada recipiente metálico etiquetado y anotar su peso.
3. En el transcurso de la lixiviación de monitoreo agregar 1 mL de la solución extractiva previamente filtrada con una pipeta volumétrica a tres tapas metálicas.
4. Llevar los recipientes con extracto ya pesados a un horno con una temperatura constante de 90 °C. Dejar que evapore la solución hasta total sequedad.
5. Dejar enfriar las tapas metálicas a temperatura ambiente y luego pesarlos con el contenido de sólidos dentro.
6. Tomar nota del peso obtenido y proceder a realizar los cálculos.

Continuación apéndice 6.

Cálculos:

A) Sólidos solubles en el extracto:

$$SS = \frac{m_F - m_B}{V_{ml}}$$

Donde: SS = sólidos solubles en la solución del recipiente "x"

m_F = masa del recipiente "x" y el sólido remanente de la evaporación. Gramos.

m_B = masa del recipiente "x" sin ningún contenido dentro. Gramos

V_{ml} = volumen de extracto vertido dentro de la corcholata. Mililitros.

Extracción de taninos de la testa del maní

1. Preparar la solución de sulfito de sodio a la concentración de trabajo determinada con las experimentaciones anteriores.
2. Introducir 300 mL del solvente elegido para la extracción. En este caso fue una solución de sulfito de sodio a 2.5 g/L correspondiente a un pH de 10 a 40 °C.
3. Colocar un agitador magnético dentro del matraz.
4. Instalar un termómetro que se introduzca adecuadamente en la solución y calentarla a 40 °C. Verificar que la temperatura se mantenga constante.
5. Agregar al matraz 5 g de la testa del maní a analizar. La testa debe tener un tamaño de partícula que pase por el tamiz 8 y sea retenido en un tamiz 14. e iniciar la cuenta con el cronómetro.

Continuación apéndice 6.

6. Supervisar la extracción de los taninos de la testa por el tiempo necesario para el agotamiento del sustrato. La temperatura debe mantenerse constante y el agitador no debe de cesar su movimiento.
7. Al terminar el tiempo de extracción, apagar el equipo y dejar enfriar el extracto.
8. Filtrar al vacío el extracto tánico.
9. Lavar con agua destilada el sólido para asegurar que todo el extracto tánico ha sido separado.
10. Transferir el extracto tánico filtrado a un balón de 1000 mL y aforar con agua destilada.
11. Etiquetar e identificar el balón con el extracto tánico.

Eliminación de sulfitos del extracto de la testa del maní.

1. Dentro de una campana de extracción de gases, colocar 300 mL del extracto tánico en un beacker de 500 mL.
2. Agregar al extracto 2 mL de ácido sulfúrico concentrado.
3. Verificar que el pH de la solución esté por debajo de 1,71.
4. Agitar vigorosamente con un agitador magnético durante 5 horas a 600 rpm. Controlar que el pH de la solución permanezca siempre por debajo de 1,71 durante todo periodo de eliminación de sulfitos.
5. Al finalizar las 5 horas de agitación corroborar la completa eliminación del sulfito por medio del olfato. El olor de los SO₂ es característico, cuando ya no hay presencia de SO₂ se puede percibir el olor particular del extracto.

Continuación apéndice 6.

Determinación volumétrica de taninos totales (Método de Lowenthal)

1. Tomar una alícuota de 10 mL del extracto a analizar previamente filtrado y colocarlo en un matraz de 500 mL.
2. Adicionar 5 mL de la solución indicadora de índigo de carmín al analito.
3. Agregar 285 mL de agua destilada al matraz de titulación.
4. Titular con una solución de permanganato de potasio (KMnO_4) 0,1 M. En el punto final de la titulación la solución se torna de un color amarillo oro.
5. Anotar el volumen gastado como V_1 .
6. En otro matraz de 500 mL adicionar 10 mL de una solución de sulfito de sodio de 300 mL diluidos a 1L, 5 mL de solución indicadora de Índigo de carmín y 285 mL de agua destilada.
7. Titular la solución preparada con Permanganato de Potasio (KMnO_4) 0,1 M y anotar el volumen gastado como V_2 .

Preparación de las soluciones:

Permanganato de potasio (KMnO_4) 0,1 M: disolver 15,8 gramos de Permanganato de Potasio grado analítico en un litro de agua destilada.

Índigo de carmín: disolver 1 gramo de índigo de carmín en un litro de agua, en el que han sido disueltos 50 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Continuación apéndice 6.

Cálculos:

Realizar una titulación de ácido tánico patrón con permanganato de potasio: En un matraz de 1000 mL colocar 0,11 g de ácido tánico patrón, 5 mL de solución indicadora de índigo de carmín y 295 mL de agua destilada. Titular con KMnO_4 0,1 M hasta la aparición del color amarillo oro. Registrar el volumen gastado como V_P . Titular también una blanca solamente con indicador y agua destilada.

A) Relación de titulación ácido tánico-permanganato:

$$R(\text{mg ácido tánico/ml KMnO}_4 0.1\text{M}) = \frac{0,1\text{g ácido tánico}}{V_R - V_{BR}}$$

Donde: R = relación entre los miligramos de ácido tánico que reaccionan con ml de titulante a una concentración de 0,1 M

V_R = Volumen de titulante gastado en la titulación del ácido tánico patrón. Mililitros.

V_{BR} = Volumen de titulante gastado en la titulación de la blanca del ácido tánico patrón.

B) Concentración de taninos en el extracto:

$$CT_L = \frac{(V_1 - V_2) * R}{V_a} * 1000 * 1000 \text{ (mg AT/L)}$$

Continuación apéndice 6.

Donde: CT_L = Concentración de taninos en el extracto tánico determinado por el método de Lowenthal. Miligramos de ácido tánico por litro de extracto.

V_1 = volumen de titulante gastado en el extracto tánico. Mililitros.

V_2 = volumen de titulante gastado en la blanca. Mililitros.

V_a = volumen de la alícuota del extracto = 10 ml

R = relación de mg de ácido tánico/ml de $KMnO_4$ 0,1 M

C) Concentración de taninos en la testa del maní:

$$T_L = \frac{CT_L * V_{extracto}}{m_T * 1000} (gAt/gT)$$

Donde: T_L = concentración de taninos en la testa de maní, expresados como ácido tánico. Método Lowenthal. Gramos de ácido tánico por gramo de testa.

CT_L = concentración de taninos en el extracto tánico determinado por el método de Lowenthal. Gramos de ácido tánico por litro de extracto.

$V_{extracto}$ = volumen de extracto obtenido. Litros.

m_T = masa de testa de maní usada en la extracción. Gramos

Determinación espectrofotométrica de taninos totales (Método de Folin-Ciocalteu)

Muestras de extracto tánico:

1. Depositar una alícuota de 2 mL del extracto previamente filtrado en un tubo de ensayo.

Continuación apéndice 6.

2. Añadir 10 mL del reactivo de FC previamente diluido. Mezclar bien.
3. Esperar 3-8 minutos.
4. Añadir 8 mL de solución al 7,5% de carbonato de sodio.
5. Cubrir los tubos por 2 horas a temperatura ambiente y fuera del alcance de la luz del sol.
6. Medir porcentaje de transmitancia en un espectrofotómetro a 760 nm.
7. Medir el porcentaje de transmitancia de una blanca solo con los reactivos adicionados con el mismo procedimiento y 2 mL de la solución extractiva de sulfito de sodio diluida de 300 mL a 1L.

Soluciones estándar:

1. Usar la solución estándar de 100 ppm de ácido tánico para preparar una serie de diluciones conteniendo 75, 50, 25 y 10 ppm de ácido tánico.
2. Usar 2 mL de cada solución en el ensayo de absorbancia en el espectrofotómetro a 760 nm preparando las soluciones con los reactivos antes mencionados.
3. Medir el porcentaje de transmitancia de una blanca solo con los reactivos y 2 mL de agua destilada.
4. Elaborar una curva de calibración que relacione la absorbancia de la solución patrón y su concentración.

Continuación apéndice 6.

Cálculos:

A) Curva de calibración: eje de las ordenadas

$$A_{CC} = A_P - A_{BP}$$

Donde: A_{CC} = Absorbancia corregida de la solución para la curva de calibración.

A_P = Absorbancia de la solución patrón.

A_{BP} = Absorbancia de la blanca de la solución patrón.

Realizar una gráfica de los valores de A_{CC} obtenidos para todas las soluciones patrón en función de su concentración en partes por millón. Determinar el modelo lineal que mejor se ajuste a la gráfica obtenida.

B) Curva de calibración: eje de las ordenadas

$$A = K_1 * C(ppm) + K_2$$

Donde: A = absorbancia del analito.

C = concentración de ácido tánico del analito expresada en partes por millón (ppm).

K_1 = constante. Pendiente de la recta. Es función de la absortividad y el largo de la celda del espectrofotómetro.

K_2 = constante. Intercepto en el eje de las ordenadas. Es función de la absortividad y el largo de la celda del espectrofotómetro.

Continuación apéndice 6.

C) Cuantificación de taninos: absorbancia real del extracto

$$A = A_M - A_{BM}$$

Donde: A = absorbancia total corregida de la muestra

A_M = absorbancia de la muestra

A_{BM} = absorbancia de la blanca de la muestra

D) Cuantificación de taninos: concentración del extracto

$$CT_F = \frac{A - K_2}{K_1} = \left(\frac{A_M - A_{BM} - K_2}{K_1} \right) * F \text{ (mgAt/L)}$$

Donde: CT_F = concentración de ácido tánico del extracto. Miligramos de ácido tánico por litro.

A = absorbancia total corregida de la muestra

A_M = absorbancia de la muestra

A_{BM} = absorbancia de la blanca de la muestra

K_1 = constante. Pendiente de la recta, es función de la absortividad y el largo de la celda del espectrofotómetro.

K_2 = constante. Intercepto en el eje de las ordenadas. Es función de la absortividad y el largo de la celda del espectrofotómetro.

F = factor de dilución necesario para que la concentración del extracto esté entre el rango de 0 a 100 ppm.

Continuación apéndice 6.

E) Concentración de taninos en la testa del maní

$$T_F = \frac{CT_F * V_{extracto}}{m_T * 1000} \text{ (gAt/gT)}$$

Donde: T_F = concentración de taninos en la testa de maní, expresados como ácido tánico. Método Folin-Ciocalteu.

CT_F = concentración de ácido tánico del extracto. Miligramos de ácido tánico por litro.

$V_{extracto}$ = volumen de extracto obtenido. Litros.

m_T = masa de testa de maní usada en la extracción. Gramos

Preparación de las soluciones:

Reactivo FC: diluir el reactivo de FC concentrado de venta comercial en una relación 1:10 con agua destilada. Preparar la solución fresca el día del análisis. El concentrado se conserva bien en frascos de color ámbar pero la solución diluida se mantiene solo por pocos días antes de empezar a dar altos volúmenes de la blanca.

Solución de carbonato de Sodio: hacer una solución al 7,5% de carbonato de sodio anhidro en agua. Esta solución es estable por varias semanas.

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 7. Análisis Estadístico

Análisis estadístico de la concentración de NaCl en la salmuera a través de los ciclos de reutilización. Salado de 12 horas, 500 g de maní, 400 mL de salmuera, temperatura 19 °C, unidades en gramos de NaCl por litro (mol NaCl/L).

Ciclo	Promedio	Desv. est.	% Desv. rel.	$\sum y_i$	$\sum y_i^2$	$y_{...}$
0	1,76	0,0100	0,57	5,280	27,878	37,800
1	1,78	0,0289	1,62	5,330	28,409	N
2	1,80	0,0208	1,16	5,390	29,052	21
3	1,80	0,0208	1,16	5,390	29,052	a
4	1,81	0,0200	1,10	5,430	29,485	7
5	1,82	0,0208	1,14	5,470	29,921	
6	1,84	0,0115	0,63	5,510	30,360	

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Media de Cuadrados	Fcalc
Tratamientos	0,01247	6	0,002078	5,26
Error	0,00553	14	0,000395	Ftab
Total	0,01800	20		2,85

Dado que $|F_{calculada}| > |F_{tabulada}| \Rightarrow$ se rechaza H_0 . Se acepta H_a : existe diferencia significativa entre la cantidad de cloruro de sodio presente en la salmuera a lo largo de sus 6 ciclos de reutilización.

Continuación apéndice 7.

Análisis estadístico de la cantidad de NaCl retenido en 500 g de maní a través de los ciclos de reutilización. Salado de 12 horas, 500 g de maní, 400 mL de salmuera, temperatura 19 °C, unidades en gramos de NaCl por 500g de maní (g NaCl/500g maní).

Ciclo	Promedio	Desv. Est.	% Desv. Rel.	$\sum y_i$	$\sum y_i^2$	$y_{..}$
1	10,50	0,2917	2,78	31,509	992,817	189,346
2	10,41	0,4457	4,28	31,217	974,517	N
3	10,50	0,5835	5,56	31,509	992,817	18
4	10,50	0,2917	2,78	31,509	992,817	a
5	10,70	0,3369	3,15	32,093	1029,929	6
6	10,50	0,2917	2,78	31,509	992,817	

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Media de Cuadrados	Fcalc
Tratamientos	0,13713	5	0,02743	0,18
Error	1,81585	12	0,15132	Ftab
Total	1,95299	17		3,11

Dado que $|F_{calculada}| < |F_{tabulada}| \Rightarrow$ se acepta H_0 : no existe diferencia significativa entre la cantidad de cloruro de sodio retenido por el maní a lo largo de sus 6 ciclos de reutilización.

Continuación apéndice 7.

Análisis estadístico de la concentración de taninos en la salmuera a través de los ciclos de reutilización. Método de Lowenthal. Salado de 12 horas, 500 g de maní, 400 mL de salmuera, temperatura 19 °C, unidades en miligramos de ácido tánico por litro (ppm o mg At/L).

Ciclo	Promedio	Desv. Est.	% Desv. Rel.	$\sum y_i$	$\sum y_i^2$	y_{\dots}
1	0,00	0,000	-	0,000	0,000	148,448
2	4,50	3,896	86,60	13,495	182,122	N
3	6,75	0,000	0,00	20,243	409,776	18
4	9,00	3,896	43,30	26,991	728,490	a
5	13,50	0,000	0,00	40,486	1 639,102	6
6	15,74	3,896	24,74	47,233	2 231,001	

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Media de Cuadrados	Fcalc
Tratamientos	505,896	5	101,179	13,33
Error	91,061	12	7,588	Ftab
Total	596,9570	17		3,11

Dado que $|F_{calculada}| > |F_{tabulada}| \Rightarrow$ se rechaza H_0 . Se acepta H_a : existe diferencia significativa entre la cantidad de taninos presentes en la salmuera a lo largo de sus 6 ciclos de reutilización, utilizando el método de Lowenthal para la determinación de taninos.

Continuación apéndice 7.

Análisis estadístico de la concentración de taninos en la salmuera a través de los ciclos de reutilización. Método de Folin - Ciocalteu. Salado de 12 horas, 500 g de maní, 400 mL de salmuera, temperatura 19 °C, unidades en miligramos de ácido tánico por litro (ppm o mg At/L).

Ciclo	Promedio	Desv. Est.	% Desv. Rel.	$\sum y_i$	$\sum y_i^2$	$y_{..}$
1	6,045	2,4435	-	18,134	328,843	288,833
2	13,749	2,5370	18,45	41,246	1 701,209	N
3	15,878	1,9761	12,45	47,633	2 268,877	18
4	18,511	2,0329	10,98	55,533	3 083,928	a
5	18,988	3,5846	18,88	56,965	3 244,980	6
6	23,108	3,7493	16,23	69,323	4 805,679	

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Media de Cuadrados	Fcalc
Tratamientos	509,800	5	101,960	12,92
Error	94,703	12	7,89195	Ftab
Total	604,504	17		3,11

Dado que $|F_{calculada}| > |F_{tabulada}| \Rightarrow$ se rechaza H_0 . Se acepta H_a : existe diferencia significativa entre la cantidad de taninos presentes en la salmuera a lo largo de sus 6 ciclos de reutilización, utilizando el método de Folin-Ciocalteu para la determinación de taninos.

Continuación apéndice 7.

Comparación de medias de la concentración de taninos en la testa del maní cruda y tostada. Método de Lowenthal. Maceración dinámica de 5 horas con sulfito de sodio a pH = 10, temperatura de 40 °C, unidades en gramos de ácido tánico por gramo de testa seca (g At/gT).

Observación	Testa Cruda	Testa Tostada
1	0,1215	0,0769
2	0,1255	0,0769
3	0,1215	0,0729
Total	0,1228	0,0756
Desviación	0,0019	0,0019
Desv. Rel.	1,55	2,53

Comparación de Medias	
Sc	0,001909
Sdx	0,001558
GL	4
α	0,05
Tcalc	30,31
Ttab	2,78

Dado que $|t_{calculada}| > |t_{tabulada}| \Rightarrow$ se rechaza H_0 . Se acepta H_a : existe diferencia significativa en la cantidad de taninos presentes en la testa cruda y la testa tostada, utilizando el método de Lowenthal para la determinación de taninos.

Continuación apéndice 7.

Comparación de medias de la concentración de taninos en la testa del maní cruda y tostada. Método de Folin - Ciocalteu. Maceración dinámica de 5 horas con sulfito de sodio a pH = 10, temperatura de 40 °C, unidades en gramos de ácido tánico por gramo de testa seca (g At/gT).

Observación	Testa Cruda	Testa Tostada	Comparación de Medias	
1	0,1476	0,0866	Sc	0,003657
2	0,1390	0,0825	Sdx	0,002986
3	0,1456	0,0846	GL	4
Total	0,1441	0,0846	α	0,05
Desviación	0,0037	0,0017	Tcalc	19,93
Desv. Rel.	2,54	1,99	Ttab	2,78

Dado que $|t_{calculada}| > |t_{tabulada}| \Rightarrow$ se rechaza H_0 . Se acepta H_a : existe diferencia significativa en la cantidad de taninos presentes en la testa cruda y la testa tostada, utilizando el método de Folin-Ciocalteu para la determinación de taninos.

Continuación apéndice 7.

Comparación de medias de la concentración de taninos en la testa del maní cruda. Ambos métodos de cuantificación. Maceración dinámica de 5 horas con sulfito de sodio a pH = 10, temperatura de 40 °C, unidades en gramos de ácido tánico por gramo de testa seca (g At/gT).

Observación	Método Lowenthal	Método Folin-Ciocalteu	Comparación de Medias	
1	0,1215	0,1476	Sc	0,0019
2	0,1255	0,1390	Sdx	0,0016
3	0,1215	0,1456	GL	4
Total	0,1228	0,1441	α	0,05
Desviación	0,0019	0,0037	Tcalc	-13,65
Desv. Rel.	1,55	2,54	Ttab	2,78

Dado que $|t_{calculada}| > |t_{tabulada}| \Rightarrow$ se rechaza H_0 . Se acepta H_a : existe diferencia significativa en la cantidad de taninos cuantificados en la testa cruda por los métodos de Lowenthal y Folin-Ciocalteu.

Continuación apéndice 7.

Comparación de medias de la concentración de taninos en la testa del maní tostada. Ambos métodos de cuantificación. Maceración dinámica de 5 horas con sulfito de sodio a pH = 10, temperatura de 40 °C, unidades en gramos de ácido tánico por gramo de testa seca (g At/gT).

Observación	Método Lowenthal	Método Folin-Ciocalteu	Comparación de Medias	
1	0,0769	0,0866	Sc	0,001909
2	0,0769	0,0825	Sdx	0,001558
3	0,0729	0,0846	GL	4
Total	0,08	0,08	α	0,05
Desviación	0,001909	0,001680	Tcalc	-5,77
Desv. Rel.	2,53	1,99	Ttab	2,78

Dado que $|t_{calculada}| > |t_{tabulada}| \Rightarrow$ se rechaza H_0 . Se acepta H_a : existe diferencia significativa en la cantidad de taninos cuantificados en la testa tostada por los métodos de Lowenthal y Folin-Ciocalteu.

Fuente: elaboración propia.