UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

EVALUACIÓN DE CONTENIDO DE TANINOS DE CINCO ECOTIPOS DE TARA *(Caesalpinia spinosa)*

TESIS

PRESENTADO POR:

BACH. KATHERINE FLORES MANZANO

ASESOR: DR. RENE GERMAN SOSA VILCA

Para optar el Título Profesional de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

MOQUEGUA – PERÚ

2022

UNAM
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

Folio N° 005

ACTA DE SUSTENTACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA UNAM FEDATARIO

I. Modalidad:

Tesis : [X]

Trabajo de Suficiencia Profesional : [ ]

Otro: ..... : [ ]

II. Documento de aprobación de la modalidad de titulación del bachiller:

RCO N° 1161-2018-UNAM

Fecha: 18/12/2018

III. Documento de aprobación para la sustentación:

RF N° 155-2022-FACIA-UNAM

Fecha: 25/08/2022

IV. El Jurado ha dictaminado la (el) Tesis,

TITULADO: Evaluación de contenido de taninos de cinco ecotipos de tara (Cassalpinia spinosa)

Bachiller: Katherine Flores Manzano

Asesor Principal: René Germán Sosa Vilca

Co-Asesor: .....

V. Se dictamina:

Como: APROBADO por UNANIMIDAD la sustentación de manera:

Presencial [X] Virtual [ ]

Con nota: TRECE (13) por lo que; Sí [X] No [ ]

Opta el Título Profesional de **INGENIERO AGROINDUSTRIAL.**

Siendo las 17:30 horas, del 31 de Agosto del año 2022 se procede con la firma en conformidad de lo dictaminado por el Jurado.

Presidente	Primer Miembro	Segundo Miembro
Dr. Elías Escobedo Pacheco	Mg. Olimpia Halla Cordova	Mg. Erik Edwin Allcca Alca
(Nombres y Apellidos)	(Nombres y Apellidos)	(Nombres y Apellidos)

Miembro Accesitario

(Nombres y Apellidos)

Asesor Principal	o Bachiller	Co-Asesor
(Nombres y Apellidos)	Katherine Flores Manzano	(Nombres y Apellidos)
	(Nombres y Apellidos)	

DEDICATORIA

A Dios.

Por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente.

.

A mi madre Alejandra.

Por ser mi motivación para terminar este propósito que llena mi vida de mucha satisfacción y alegría.

A mi compañero de vida Cristian.

Por su tiempo, paciencia, confianza, consejos y apoyo incondicional, que me brindó en todo momento para concluir esta meta y por estar siempre a mi lado.

AGRADECIMIENTO

A Dios por su bendición, por darme la fuerza suficiente y permitirme seguir en este sendero de la vida para seguir cumpliendo mis metas y objetivos trazados.

A la Universidad Nacional de Moquegua que mediante los órganos de Vicepresidencia de Investigación y Dirección de Innovación y Transferencia Tecnológica me brindaron el financiamiento absoluto para la ejecución de este trabajo.

Al Dr. Gregorio Arroyo Japura, principal colaborador durante todo este proceso, quien con su dirección, conocimiento, enseñanza y apoyo constante permitió el desarrollo de mi tesis. A la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, a mis docentes Dr. René Germán Sosa Vilca, Dr. Elías Escobedo Pacheco, Mg. Erik Allcca Alca y Mg. Olimpia Llalla Córdova quienes con la instrucción de sus valiosos conocimientos hicieron que pueda crecer como profesional.

RESUMEN

La tara es una especie nativa del Perú que se encuentra en estado silvestre gracias a su capacidad de adaptarse a una variedad de climas y suelos con déficit hídrico. Sus vainas poseen gran potencial en el campo de la agroindustria debido a su alto contenido de taninos. Sin embargo, se desconoce el contenido tánico de los diferentes ecotipos que existen. Ante este escenario, el presente proyecto de investigación tuvo como objetivo evaluar el contenido porcentual de taninos totales, hidrolizables y condensados de cinco ecotipos de tara (almidón grande, almidón común, precoz, verde esmeralda y morocho), así mismo determinar el ácido gálico y tánico en el ecotipo con mayor concentración de taninos totales. Para la extracción tánica se utilizó los solventes etanol y acetona a diferentes concentraciones (40 %, 50 % y 60 %). Los taninos totales (T.T.) se evaluó mediante espectrofotometría UV a una longitud de onda de 700 nm. En taninos hidrolizables (T.H.) se usó el método volumétrico, con una solución de permanganato de potasio 0.1 N y para taninos condensados (T.C.) se empleó el método de Stiasny. Así mismo con la metodología de HPLC – DAD se determinó el contenido de ácido gálico y tánico utilizando la muestra del ecotipo con mayor rendimiento en taninos totales. Finalmente se aplicó el diseño experimental (DCA) con arreglo factorial 5 x 2 x 3 con 3 repeticiones. Los resultados obtenidos reflejan que la acetona al 60 % permite una mejor extracción de T.T.: morocho 48.93 %, almidón grande 47.90 %, precoz 45.83 %, almidón común 43.28 % y verde esmeralda 42.13 %, mientras que para T.H. morocho 36.52 %, y en menor concentración al verde esmeralda 31.12 %. Para T.C.: morocho 9.1 % y en menor porcentaje al verde esmeralda 7.78 %. Por otro lado, se determinó presencia de ácido tánico de 3.67 mg/ml en un tiempo de 2.35 min de lectura y ácido gálico 4.56 mg/ml en 1.01 min de lectura. Los resultados demostraron que el ecotipo morocho brinda mejor rendimiento en taninos totales, hidrolizables y condensados.

Palabras clave: vaina de tara, ecotipo, taninos totales, taninos hidrolizables, taninos condensados.

ABSTRACT

Tara is a native species of Peru that is found in the wild thanks to its ability to adapt to a variety of climates and soils with water deficit. Its pods have great potential in the field of agroindustry due to its high content of tannins. However, the tannic content of the different ecotypes that exist is unknown. Given this scenario, the present research project aimed to evaluate the percentage content of total, hydrolysable and condensed tannins of five tara ecotypes (large starch, common starch, early, emerald green and morocho), as well as determine the gallic acid and tannic in the ecotype with the highest concentration of total tannins. For the tannic extraction, the solvents ethanol and acetone were used at different concentrations (40 %, 50 % and 60 %). Total tannins (T.T.) were evaluated by UV spectrophotometry at a wavelength of 700 nm. For hydrolysable tannins (T.H.), the volumetric method was used, with a 0.1 N potassium permanganate solution, and for condensed tannins (T.C.), the Stiasny method was used. Likewise, with the HPLC - DAD methodology, the content of gallic and tannic acid was determined using the sample of the ecotype with the highest yield in total tannins. Finally, the experimental design (DCA) was applied with a 5 x 2 x 3 factorial arrangement with 3 repetitions. The results obtained reflect that 60 % acetone allows a better extraction of T.T.: morocho 48.93 %, large starch 47.90 %, precocious 45.83 %, common starch 43.28 % and emerald green 42.13 %, while for T.H. morocho 36.52 %, and in lower concentration to emerald green 31.12 %. For T.C.: morocho 9.1 % and to a lesser extent emerald green 7.78 %. On the other hand, the presence of tannic acid of 3.67 mg/ml was determined in a reading time of 2.35 min and gallic acid 4.56 mg/ml in a reading time of 1.01 min. The results showed that the morocho ecotype provides better performance in total, hydrolyzable and condensed tannins.

Keywords: Tara pod, ecotype, total tannins, hydrolysable tannins, condensed tannins.

CONTENIDO

RESUMEN 4

ABSTRACT 5

ÍNDICE DE TABLAS 9

ÍNDICE DE FIGURAS 11

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS 12

ÍNDICE DE ANEXOS 13

INTRODUCCIÓN 14

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 16

1.1. Descripción y formulación del problema 16

1.2. Formulación del problema 17

1.3. Objetivos 17

1.4. Justificación e importancia 18

1.5. Hipótesis 19

1.6. Variables 20

II. MARCO TEÓRICO 21

2.1. Antecedentes 21

2.2. Bases teóricas 23

2.2.1. Tara 23

2.2.2. Producción 24

2.2.3. Características de ecotipos de tara 24

2.2.4. Composición química de vaina de tara..... 25
2.2.5. Taninos..... 26
2.2.6. Clasificación de taninos..... 27
2.2.6.1. Taninos hidrolizables o pirogálicos..... 27
2.2.6.2. Taninos Condensados (catéquicos o proantocianidinas)..... 28
2.2.7. Factores que influyen en el contenido de taninos..... 28
2.2.8. Métodos de extracción tánica (solido - líquido)..... 31
2.2.9. Métodos de cuantificación de tánica..... 32
III. METODOLOGÍA..... 35
3.1. Tipo y nivel de Investigación..... 35
3.2. Población y muestra..... 35
3.3. Instrumentos..... 36
3.3.1. Equipos..... 36
3.3.2. Reactivos e Insumos..... 36
3.3.3. Otros materiales..... 37
3.4. Procedimientos..... 37
3.4.1. Determinación de contenido de taninos totales (T.T.)..... 39
3.4.2. Determinación del contenido de taninos hidrolizables (T.H.)..... 41
3.4.3. Determinación del contenido de taninos condensados (T.C.)..... 42
3.4.4. Análisis de ácido tánico y ácido gálico..... 43
3.5. Análisis de datos..... 43
3.5.1. Diseño experimental..... 43
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES..... 45

4.1. Evaluación de taninos totales, hidrolizables y condensados 45

4.1.1. Taninos totales (T.T.) 45

4.1.2. Taninos hidrolizables (T.H.) 49

4.1.3. Taninos Condensados (T.C.) 50

4.2. Determinación de ácido tánico y ácido gálico 52

V. CONCLUSIONES 55

VI. RECOMENDACIONES 56

VII. BIBLIOGRAFÍA 57

VIII. ANEXOS 63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición química de la tara 25

Tabla 2: Estructura del diseño experimental por tratamientos..... 44

Tabla 3: Comparación de resultados de absorbancia en diferentes trabajos 45

Tabla 4: Promedio de absorbancias de T.T extraídos con etanol y acetona 46

Tabla 5: Cuantificación tánica y tiempo de retención expresada por mg/ml EAT . 52

Tabla 6: Cuantificación tánica y tiempo de retención expresada en mg/ml EAG. . 53

Tabla 7: Variables 71

Tabla 8: Datos para cuantificación de taninos..... 74

Tabla 9: Datos para curva de calibración en base al ácido tánico. 74

Tabla 10: Datos obtenidos en absorbancia con tres repeticiones para etanol..... 75

Tabla 11: Datos obtenidos en absorbancia con tres repeticiones para acetona ... 76

Tabla 12: Datos para determinar porcentaje de T.T. extraídos con etanol EAT.... 78

Tabla 13: Datos para determinar porcentaje de T.T. extraídos con acetona EAT 78

Tabla 14: Cuadro de ANOVA para taninos totales 79

Tabla 15: Prueba comparativa tukey alfa=0.05 DMS para interacción factor A*B 79

Tabla 16: Prueba comparativa tukey alfa=0.05 DMS para interacción factor A*C 79

Tabla 17: Prueba comparativa tukey alfa=0.05 DMS para interacción factor B*C 80

Tabla 18: Prueba comparativa tukey alfa=0.05 DMS, interacción factor A*B*C.... 80

Tabla 19: Datos obtenidos para determinar T.H. extraídos con etanol..... 82

Tabla 20: Datos obtenidos para determinar T.H. extraídos con acetona..... 82

Tabla 21: Cuadro de ANOVA para taninos hidrolizables..... 83

Tabla 22: Prueba comparativa tukey alfa = 0.05 DMS para factor A..... 83

Tabla 23: Prueba comparativa tukey alfa = 0.05 DMS para factor B..... 83

Tabla 24: Prueba comparativa tukey alfa = 0.05 DMS para factor A*B 83

Tabla 25: Datos obtenidos para determinar taninos condensados con etanol 84

Tabla 26: Datos obtenidos para determinar T.C. extraídos con acetona..... 84

Tabla 27: Cuadro de ANOVA para taninos condensados 85

Tabla 28: Prueba comparativa tukey alfa = 0.05 DMS para factor A..... 85

Tabla 29: Prueba comparativa tukey alfa = 0.05 DMS para factor B..... 85

Tabla 30: Prueba comparativa tukey alfa = 0.05 DMS para factor A*B 85

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1:: El fruto de tara y sus partes. 23

Figura 2: Estructura química de taninos 26

Figura 3: Estructura de taninos hidrolizables 27

Figura 4: Estructura química de taninos condensados 28

Figura 5: Proceso para la obtención de la solución muestra 39

Figura 6: Curva estándar del ácido tánico. 40

Figura 7: Comparación de curvas de calibración 45

Figura 8: Comparación de tres factores de estudio para taninos totales 47

Figura 9: Comparación de tres factores de estudio para taninos hidrolizables .. 50

Figura 10: Comparación de tres factores de estudio para taninos condensados. 51

Figura 11: Cromatograma de identificación del acido tánico 53

Figura 12: Cromatograma de identificación del acido gálico 54

Figura 13: Flujograma de la obtención de polvo de vaina de tara. 72

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1: INIA, lugar de recojo de muestras..... 63

Fotografía 2: Ecotipo de tara (caesalpinia spinosa)..... 63

Fotografía 3: Vaina de tara en proceso de molienda..... 64

Fotografía 4: Tamizaje de vaina de tara 64

Fotografía 5: Mezcla de solventes con polvo de vaina de tara 65

Fotografía 6: Extracción de taninos por agitación magnética a Tº constante..... 65

Fotografía 7: Reposo de muestras 66

Fotografía 8: Filtración de muestras..... 66

Fotografía 9: Dilución de muestra con solvente para cuantificación de taninos. 67

Fotografía 10: Dilución de reactivos en función al ácido tánico..... 67

Fotografía 11: Análisis espectrofotométrico a 700 nm 68

Fotografía 12: Acondicionamiento para titulación ácido – base..... 68

Fotografía 13: Determinación de taninos hidrolizables..... 69

Fotografía 14: Determinación del perfil de tanino por HPLC. 69

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Panel fotográfico..... 63

Anexo 2: Caracteristicas morfologicas del fruto de tara. 70

Anexo 3: Operacionalización de variables..... 71

Anexo 4: Obtención de polvo de vaina de tara 72

Anexo 5: Elaboración de curva de calibración en base al ácido tánico..... 74

Anexo 6: Determinación de absorbancia extraídos con etanol 75

Anexo 7: Determinación de absorbancia extraídos con acetona..... 76

Anexo 8: Determinación de taninos totales en base al ácido tánico..... 77

Anexo 9: Análisis de varianza para taninos totales. 79

Anexo 10: Determinación de taninos hidrolizables por el método volumétrico EAT. 81

Anexo 11: Determinación de taninos condensados por el método Stiasny..... 83

INTRODUCCIÓN

La vaina molida de tara representa del 40 % a 50 % del peso del fruto y una concentración de taninos del 40 % al 60 % (De La Cruz, 2004), del cual se puede obtener extracto tánico y a partir de este, extracto gálico; los mismos que son usados en diferentes industrias, principalmente para el proceso de curtido de pieles (Cortez, 2012). Se ha clasificado diferentes ecotipos de tara en el Perú, los cuales están relacionados a las zonas en la que se producen (Mancero, 2008).

Actualmente en el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), ubicado en la región Moquegua, se cultiva cinco ecotipos de tara (almidón grande, almidón común, morocho, precoz y verde esmeralda) los cuales son usados para la regeneración de suelos y evitar la desertificación, así mismo, los frutos son donados a los agricultores que lo requieran, sin embargo, no se brinda mayor importancia a los derivados que contienen los ecotipos, que pueden ser utilizados como clarificadores de vino, sustitutos de la malta, decolorante en la industria cervecera, antioxidante en aceites (Pavón y Vargas, 2015; Guillen y Gonzales, 2010).

Los tipos de taninos con mayor presencia en la vaina de tara son los taninos totales, hidrolizables y condensados, este último muy poco utilizado debido a que hidrolizan con dificultad (Avilés, 2018; Bazán, 2012; Castillo y Lema, 2011), sin embargo, en cantidades moderadas puede producir efectos benéficos en el metabolismo de las proteínas en rumiantes causando la reducción en la degradación de la dieta proteínica en el rumen e incrementando la absorción de aminoácidos en el intestino delgado, de la misma manera, genera ganancia de peso (Márquez y Suárez, 2018). Por otro lado, existen factores que influyen en el proceso de obtención de taninos el cual dependerá del ecotipo a utilizar, metodología de extracción y cuantificación, tipo de solvente, niveles de concentración, tamaño de partículas, entre otros (Alí, 2012; Camacho, 2021).

Considerando las condiciones climatológicas de la región Moquegua, es crucial determinar el tipo de ecotipo que posea mayor contenido de taninos

totales, hidrolizables y condensados para destinarlo a procesamientos donde será más eficiente su uso. Sin embargo, en el Perú existen pocos estudios que reportan la cantidad de taninos según esta clasificación. En vista de ello el objetivo de esta investigación fue evaluar el contenido de taninos del almidón grande, almidón común, morocho, precoz y verde esmeralda, los cuales fueron extraídos con etanol y acetona a diferentes concentraciones para identificar al ecotipo con mayor rendimiento tánico y el solvente con mejor calidad de extracción.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción y formulación del problema

A nivel nacional, las empresas exportadoras de polvo de vaina de tara presentan bajo contenido de taninos (MINAGRI, 2019), esto puede deberse al desconocimiento de los diferentes ecotipos existente en nuestro país, el cual dificulta saber el producto con mayor rendimiento tánico ya que unas son más eficientes que otras. Esto ligado al mal asesoramiento del agricultor (Zevallos y Yana, 2018).

En Moquegua, se recolecta en conjunto las vainas maduras sin diferenciar la variedad de ecotipos, en algunos casos se realiza el secado al sol para luego ofrecerlas a empresas acopiadoras o ferias agropecuarias. Como consecuencia de ello no se toma en cuenta las potencialidades de este producto, por parte de los agricultores, es por ello que la comercialización se realiza directamente como materia prima, sin valor agregado (Camacho, 2021).

La escasez de información bibliográfica en temas de extracción eficiente de taninos de la vaina de tara, esto ligado a que su estructura es muy compleja, es necesario establecer estrategias de obtención, tales como tamaño de partícula, secado y molido (Bazán, 2012), así como también identificar el solvente apropiado (etanol y acetona), concentración de solventes, temperatura, tiempo y materia prima (Briceño y Ríos, 2012), que permita una mayor extracción tánica de taninos totales, hidrolizables, condensados y en sustancias mas puras como el ácido gálico y ácido tánico (Ali, 2012; Camacho, 2021).

Ante este escenario el proyecto de investigación plantea evaluar el contenido tánico, además de ello determinar la influencia de extracción con etanol y acetona a diferentes concentraciones, así mismo conocer el ecotipo con mayor rendimiento de taninos.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Interrogante general

- ¿Cuál es el contenido porcentual de taninos extraídos de la vaina de cinco ecotipos de tara *(Caesalpinia spinosa*)?

1.2.2. Interrogante especifica

- ¿Cuál es el efecto de la extracción con dos solventes (etanol y acetona) a tres concentraciones (40 %, 50 % y 60 %) en el contenido de taninos totales, condensados e hidrolizables de la vaina de cinco ecotipos de tara (almidón grande, almidón común, precoz, esmeralda verde y morocho)?

- ¿Cuál es el contenido de ácido tánico y ácido gálico presente en el ecotipo de vaina de tara con mayor cantidad de taninos totales?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

- Evaluar el contenido de taninos de cinco ecotipos (almidón grande, almidón común, precoz, esmeralda verde y morocho) de tara *(Caesalpinia spinosa)*.

1.3.2. Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la extracción con dos solventes (etanol y acetona) a tres concentraciones (40 %, 50 % y 60 %) en el contenido de taninos totales, condensados e hidrolizables presentes en la vaina de cinco ecotipos de tara (almidón grande, almidón común, precoz, esmeralda verde y morocho).

- Determinar el contenido de ácido tánico y ácido gálico del ecotipo con mayor cantidad de taninos totales.

1.4. Justificación e importancia

La tara tiene un gran potencial industrial nacional e internacional por el uso de sus derivados, pues las características de su vaina permiten emplearse en diferentes usos de interés tanto para el uso alimentario (aditivo de coloración, estabilizante, clarificante, decolorante, antioxidante, etc) y no alimentario como la curtiembre (Villanueva, 2007; Bravo, 2010). Además de que es una de las pocas especies que se adaptan fácilmente a suelos pobres, áridos o con déficit de agua, protege el suelo de la erosión y recupera la fertilidad del mismo mediante la fijación de nitrógeno (Bazán, 2012; Ibieta y Peñarrieta, 2021), lo que facilita su propagación y aprovechamiento (Ali, 2012; MINAGRI, 2019).

Por otro lado, la importancia del extracto tánico se debe a que posee la propiedad de precipitar a las proteínas, por lo tanto la piel de los animales se convierte en cuero; brindándole al cuero tratado resistencia, elasticidad e impermeabilidad y preserva sus características debido a sus propiedades antisépticas (Cortéz, 2012; Camacho, 2021). En el caso del extracto gálico este actúa como un agente curtidor, es decir; este es un elemento blanqueante o decolorante. De esta manera se puede reemplazar a la sal de cromo y evitar en gran medida la contaminación ambiental (Bazán, 2012; Palma y Torres, 2016). Los productores que cultiven el ecotipo con mayor concetración tánica tienen dos principales ventajas: por un lado, generar ingresos económicos por la comercialización del fruto y polvo de vaina en tara el cual les permitirá dar un valor agregado en la elaboración de productos derivados del cuero, por otro lado, al ser una especie arbórea ofrece muchas ventajas a nivel ecológico y de conservación de suelos (Espinoza, 2021; Castillo y Lema, 2011; MINAGRI 2019).

Para la extracción de taninos totales, hidrolizables y condensados es necesario determinar el tipo de solventes de extracción, metodología, concentración y muestras de ecotipo (Pérez y Pisconte, 2010; Alí, 2012), para obtener mejores resultados, sin embargo, no todos los reactivos están disponibles en el mercado, debido a que algunos como el metanol son

controlados y tienen un costo elevado. Existe otros solventes más accesibles como el etanol, acetona y agua que son utilizadas en el proceso de extracción, consideradas amigables con el medio ambiente por su capacidad de reducir la polaridad del solvente (Briceño y Ríos, 2012; Céspedes y Muñoz, 2013).

Siendo el polvo de vaina de tara un recurso de interés agroindustrial por sus potencialidades tánicas, es de necesidad identificar cuál es el rendimiento porcentual de taninos totales, hidrolizables y condensados del almidón grande, almidón común, precoz, esmeralda verde y morocho producidos en el INIA, de la misma manera determinar el solvente y concentración óptima para el proceso de extracción, esta información servirá de base para posteriores investigaciones y mejor aprovechamiento.

1.5. Hipótesis

1.5.1. Hipótesis general

- En la vaina de cinco ecotipos de tara (almidón grande, almidón común, precoz, esmeralda verde y morocho) existe la presencia de taninos.

1.5.2. Hipótesis específica

- El etanol y acetona a tres concentraciones (40 %, 50 % y 60 %) en el proceso de extracción influyen en el contenido de taninos totales, condensados e hidrolizables presentes en la vaina de cinco ecotipos de tara (almidón grande, almidón común, precoz, esmeralda verde y morocho).

- Existe la presencia de ácido tánico y ácido gálico en el ecotipo con mayor contenido de taninos totales.

1.6. Variables

1.6.1. Variables independientes

- Ecotipos de tara:
  - Almidón grande.
  - Almidón común.
  - Morocho.
  - Precoz.
  - Verde esmeralda.
- Solventes:
  - Etanol.
  - Acetona.
- Niveles de concentración:
  - 40 %.
  - 50 %.
  - 60 %.

1.6.2. Variables dependientes

- Concentración de taninos totales.
- Concentración de taninos hidrolizables.
- Concentración de taninos condensados.
- Contenido de ácido tánico y ácido gálico.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Briceño y Ríos (2012), cuantificaron el porcentaje de taninos presentes en la "*Caesalpinea spinosa"* procedentes de cinco distritos de la provincia de Otuzco (Llaugueda, Coina, Casmiche, Charat y Chuquisongo), para ello utilizaron solo la vaina y extrajeron polvo de tara con etanol al 50 % para obtener el extracto hidro-alcohólico, posteriormente se determinó por absorbancia a 700 nm, teniendo como patrón al ácido tánico. Finalmente, el mayor porcentaje de taninos totales, expresados como ácido tánico, corresponde al distrito de Coina con 40.83 %, Llaugueda 38.41 %, Casmiche 38.91 %, Charat 38.29 % y Chuquisongo 39.77 %, concluyendo que los compuestos de origen tánico están condicionados a distintos factores climáticos de la provincia, así como la calidad de suelos donde se cultiva la Tara.

Rodríguez y Gavidia (2012), evaluaron el grado etanólico óptimo para la extracción de taninos en el fruto de *Caesalpinea Spinosa*, con la finalidad de determinar la concentración porcentual más eficaz en la extracción de taninos, posteriormente realizaron el proceso de molienda de los frutos secos para la obtención del polvo de vaina, donde se consideró tres niveles de extracción con etanol al 50º, 70º y 96º G.L. De acuerdo a las lecturas de absorbancia obtenidas por el espectrofotómetro UV-Visible, el porcentaje de taninos totales expresados como ácido tánico contiene 53.9 % al 50º G.L., 45 % al 70º G.L. y 44.1 % al 96º G.L., respectivamente. Finalmente, se concluyó que el grado óptimo para la extracción de taninos del fruto de *taya* es de 50º G.L. en comparación con los demás niveles de concentración porcentual analizados.

Játiva (2011), analizó la concentración de taninos del polvo de vaina de guarango *(caesalpinia spinosa),* teniendo como patrones al ácido gálico y ácido tánico, siendo leídas por un espectrofotómetro Uv-visible con una observancia calibrada a 750 nm, de esta manera se obtuvo como

resultados que los valores de concentración de taninos expresados como ácido tánico se encuentran en el rango de 42 a 65 g AT/100 g m.s. y para el ácido gálico 50 a 54.9 g AG/100 m.s., de los cuales su contenido tánico estará sujeto a diferentes factores climáticos y ecotipos de tara.

Custodio (2017), realizó una comparación del contenido tánico de vaina de tara del ecotipo la roja, conocido también como morocho, procedente de dos zonas de Cajamarca. En esta investigación se consideraron tres estados de madures con la finalidad de determinar si existen diferencias entre zonas y estados del fruto. Como resultado final se obtuvo que el contenido de taninos encontrados en la zona de Pedro Gálvez es de 45.85 %, 52.09 % y 45.44 % para el estado verde, maduro y sobre maduro y para la zona de Cuesta es 49.74 %, 55.94 % y 47.76 %, respectivamente. De esta manera el autor concluye que las diferencias en los resultados obtenidos pueden deberse a distintos factores climáticos y ambientales, así como también al tipo de suelo y manejo de cultivo.

Gutiérrez (2010), en su investigación de obtención y caracterización de taninos hidrolizables (galotaninos) de la vaina de tara en polvo realizó pruebas preliminares con el fin de determinar el tipo de solvente más adecuado para el proceso de extracción tánica en base al ácido gálico, para ello trabajó con el metanol al 80 %, etanol 80 %, agua y acetona 80 %, de esta manera concluyó que el solvente de extracción influyó en la cantidad de taninos, siendo la acetona al 80 % el mejor solvente, seguido del agua, el etanol 80 % y finalmente el metanol 80 %; sin embargo, señala que el empleo de metanol y acetona presentarían restricciones al ser considerados como solventes de grado no alimentario, por otro lado, menciona que el solvente más apropiado para la extracción de taninos hidrolizables (galotaninos) resultaría ser el agua y el etanol por su buena eficiencia de extracción y su bajo costo, así mismo determinó el perfil de taninos por HPLC DAD a 280 nm con diferentes tiempos, teniendo como resultado que a los 50 min se separan una gran cantidad de picos que no fueron identificados; sin embargo, en la muestra de 4 horas de hidrólisis (38.8 %) aparece un pico a los 13.8 min de elusión, el cual fue identificado

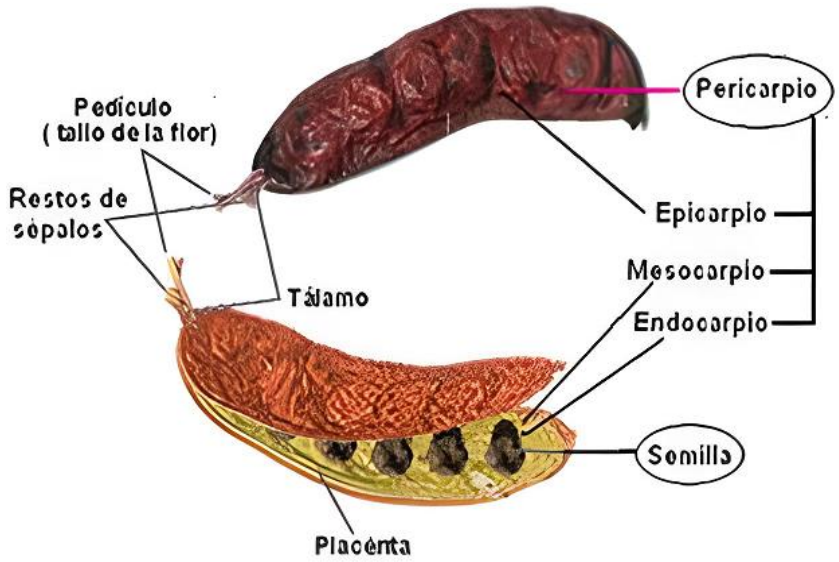
como ácido gálico gracias a un estándar externo y al espectro de adsorción; así mismo en las muestras de 9 horas (93.75 % de hidrólisis) y de 20 horas (100 % de hidrólisis) también aparecen otros picos, lo que indicaría que dichos picos corresponden a galotaninos, que son transformados en ácido gálico por efecto de la hidrólisis con ácido sulfúrico. Finalmente, a medida que aumenta el tiempo de hidrólisis, aumenta el contenido de ácido gálico.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Tara

La tara *(Caesalpinia spinosa)* conocida como "taya o guarango", pertenece a la familia de las leguminosas, es una planta resistente a zonas áridas o semiáridas y se adaptan a condiciones climáticas adversas (Villanueva, 2007). Usualmente un árbol de tara brinda frutos a partir de los tres años, con un promedio de vida de cien años (De la Cruz, 2004), sus principales productos son los taninos utilizados en la industria de cueros y gomas que se emplean en la industria alimentaria como espesantes (Vargas, 2015).

Figura 1: *El fruto de tara y sus partes*



Fuente: Díaz (2010).

Según Villanueva (2007) el epicarpio y el mesocarpio representan el 65 % del peso de los frutos y tienen mayor concentración de taninos que varía entre 40 % a 60 % (De la Cruz, 2004).

2.2.2. Producción

En Moquegua, la mayor productividad se da en los meses de mayo a noviembre, con una producción de 20 a 40 kg por cada árbol, al año tiene dos cosechas, de cada cuatro meses, siendo cultivada a 1000 y 2900 m s. n. m. Las principales regiones de producción son: La libertad, Ayacucho, Cajamarca, Huánuco, Ancash y Cusco. Entre 2015 y 2018 el precio del polvo de tara por kg estuvo en U$ 1,55 (MINAGRI, 2019). Actualmente los acopiadores de tara pagan S/. 3.00 soles por 1kg (Espinoza, 2021).

2.2.3. Características de ecotipos de tara

Según Portal (2012):

- **Almidón grande**

Este ecotipo es una planta arbórea con una corteza rugosa y coloración marrón o gris oscuro. El fruto posee vainas indehiscentes cuando maduro y es anaranjado pajizo en ambos lados de la vaina, tiene un oblonga ligeramente falciforme, glabra, con 9.80 cm de largo y 2.11 cm de ancho, favorable en climas subtropicales de 2 800 a 3 016 m. s. n. m.

- **Almidón común**

El fruto son vainas indehiscentes cuando está maduro, es anaranjado pajizo en ambos lados de la vaina, oblonga ligeramente falciforme, glabra, de 8.99 cm de largo, 1.96 cm de ancho y 7.13 mm de grosor. Su producción eficaz se da en climas subtropical de 2 465 a 2 584 m. s. n. m.

- **Morocho o roja**

Los frutos son vainas indehiscentes, cuando está maduro es anaranjado pajizo en ambos lados de la vaina, oblonga ligeramente falciforme, glabra,

de 6.43 cm de largo y 1.78 cm de ancho, este ecotipo se desarrolla mejor en climas subtropicales, en rangos de 2 465 a 2 650 m. s. n. m.

- **Precoz**

Las vainas de tara cuando está maduro, son de color rojo intenso en ambos lados de la vaina, oblonga ligeramente falciforme, glabra, de 9.19 cm de largo, 2.07 cm de ancho y 8.57 mm de grosor. Se desarrolla eficazmente en bosques secos con rangos de altitud geográfica de 2 746 a 2 850 m. s. n. m., y en bosques subtropicales va de 2 866 a 2 900 m. s. n. m.

- **Verde esmeralda**

El fruto cuando está maduro es cremoso con bordes rojos, en algunas vainas son anaranjado pajizo y en la otra cara de la vaina cremoso con bordes o manchas rojas, oblonga ligeramente falciforme, glabra, de 8.55 cm de largo, 1.90 cm de ancho y 7.17 mm de grosor. Se desarrolla mejor en climas subtropicales, en rangos de 2 866 a 3 000 m. s. n. m.

2.2.4. Composición química de vaina de tara

El fruto está compuesto por aceites volátiles, ácidos grasos, gomas, taninos, etc. Así mismo, cuenta con iones y minerales como Ca, Mg, Fe, P, Na, K, cloruros, nitratos y sulfatos (Villa y Villavicencio, 2001).

Tabla 1: *Composición química de la tara*

Componentes	Porcentaje %
Humedad	9.7
Polvo de tara	59.7
Galotaninos	53.1
Elagitaninos	2.6
Taninos condensados	1.58
Carbohidratos	67.58
Taninos (vainas)	62.0

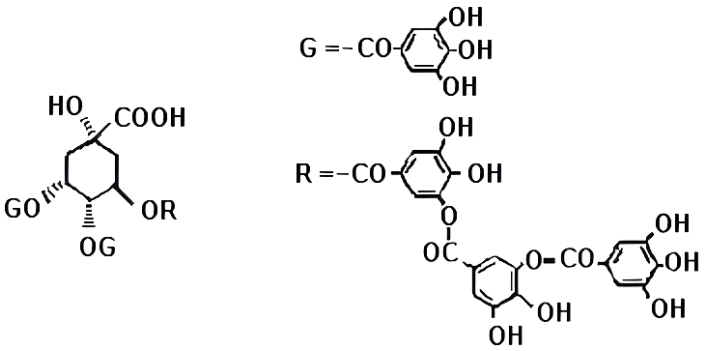
Fuente: Garro et al. (1997); Ibieta y Peñarrieta (2021).

2.2.5. Taninos

Se define como compuestos fenólicos que se pueden encontrar en variedad de plantas y frutos, son de sabor astringente. Así mismo son considerados como polvos amorfos de color amarillento, poco denso, aspecto gasiento; sin embargo, son solubles en agua, alcohol y acetona e insolubles en éter, benceno y cloroformo; cuando se calientan a 210 ºC se descomponen produciendo dióxido de carbono y pirogalol (García, 2012). El componente más común de los taninos es el pentagaloilglucosa. Sin embargo, a la mezcla de estos ésteres fenólicos se denomina ácido tánico (Castillo y Lema, 2011; Bazán, 2012).

Rodríguez (2010), indica que los taninos son polímeros polifenólicos que tienen la destreza de formar complejos con proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, alcaloides y saponinas que les permite tener una acción defensiva frente a los insectos, así mismo, tienen la habilidad de curtir la piel. Químicamente se dividen en taninos hidrolizables (pirogálicos: se hidrolizan en ácidos fenólicos y azúcares) y taninos condensados (catéquicos y leucoantocianos, son polímeros muy difíciles de hidrolizar) (Cortez, 2012).

Figura 2: *Estructura química de taninos*



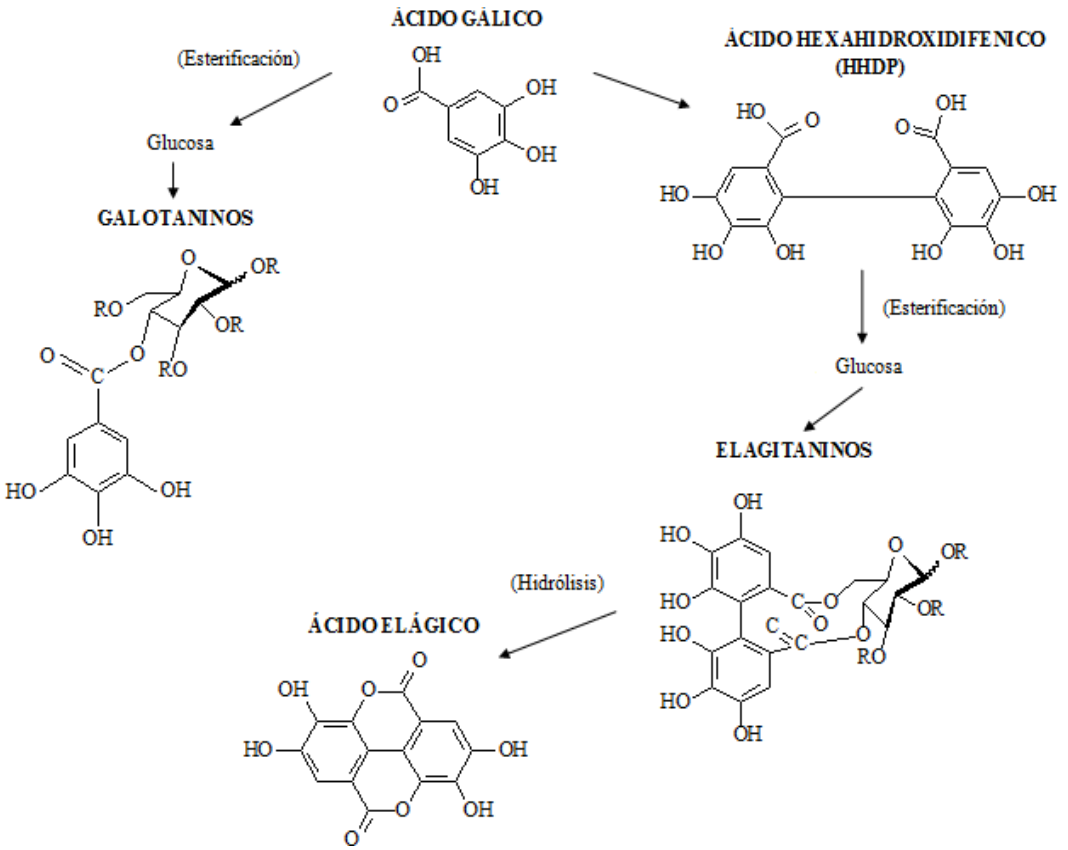
Fuente: Cabello (2010).

2.2.6. Clasificación de taninos

2.2.6.1. Taninos hidrolizables o pirogálicos

Comúnmente llamados gálicos o pirogálicos, debido a que son derivados del ácido gálico (ácido 3, 4, 5-trihidroxil benzoico), el cual se encuentra esterificado a un poliol central, y los grupos galiol están esterificados o ligados por oxidación para poder rendir más taninos hidrolizables (Bazán, 2012). Según Srivastava et al (2000), menciona que el ácido tánico es un típico tanino hidrolizable que consiste en una mezcla de ácido gálico y de ésteres de glucosa. Las vainas de tara contienen taninos hidrolizables (tipo galotaninos), la hidrólisis de estos taninos conduce a la separación del ácido gálico (Villanueva, 2007). En la figura 3, los galotaninos y elagitaninos se pueden dividir en moléculas más simples con un tratamiento ácido o un tratamiento enzimático. Los galotaninos, por hidrólisis, producen azúcar y ácido gálico (Smuelsson y Bohlin, 2009).

Figura 3: *Estructura de taninos hidrolizables*

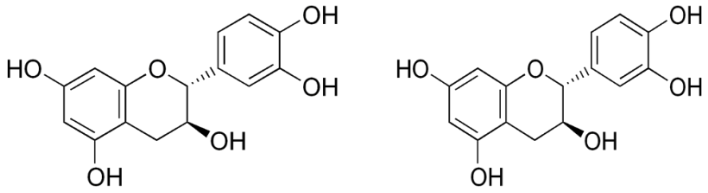


Fuente: Samuelsson y Bohlin (2009).

2.2.6.2. Taninos Condensados (catéquicos o proantocianidinas)

Se definen como polímeros porque al ser sometidos a tratamientos ácidos o enzimáticos dan productos complejos e insolubles. Su construcción de bloque incluye catequinas y flavonoides, generalmente esterifican con ácido gálico (Smuelsson y Bohlin, 2009). Son conocidos también como taninos no hidrolizables debido a que se hidrolizan con dificultad, así mismo al ser sometidas a tratamientos de calor y ácidos minerales se originan polímeros de alto peso molecular (Isaza, 2007).

Figura 4: *Estructura química de taninos condensados*



Epicatequina Catequina

Fuente: Isaza (2007).

2.2.7. Factores que influyen en el contenido de taninos

Según Bazán (2012), el porcentaje de taninos está relacionada con el medio en donde se desarrolla la planta, factores genéticos, tamaño de partícula, tipo solvente, metodología y etapa de extracción, temperatura, agitación del fluido. Así mismo, el uso de soluciones hidroalcohólicas, permite la liberación de los taninos unidos a la matriz vegetal y, por otro lado, facilita la despolimerización de compuestos de alto peso molecular a compuestos de estructuras sencillas, los cuales permiten ser cuantificados con base a patrones conocidos (Venanzi, 2014).

a) **Tamaño de las partículas:** Las partículas deben ser de tamaño pequeño ya que, de esta forma, se incrementa la superficie útil de transferencia de materia y se favorece el transporte interno del soluto y solvente (Bravo, 2010); sin embargo, al romper la estructura

completamente, se puede perder la selectividad y obtener productos indeseables, por tal motivo es importante evaluar el tamaño de partícula óptimo. Así mismo, mencionar que Bazán (2012) realizó una investigación sobre la influencia del tamaño de partícula en la extracción de taninos de tara, donde utilizó tamices de 0.2650 pulg, 0.0469 pulg y 0.0098 pulg, siendo este último el que mejor resultado y composición obtuvo en solubilidad (96.3 %), porcentaje de taninos (62 %) y ácido gálico (409.14 mgAG/g tara)**.**

b) Tiempo de extracción: Es un factor muy importante debido que está en función inversa a los factores de temperatura y agitación; sin embargo, se otorga un tiempo prudencial o suficiente para realizar una buena combinación entre el solvente y el sólido (Huamán, 2014). Señala que los tiempos de extracción van de 1 minuto a 24 horas, sin embargo, a mayor tiempo de extracción puede generar oxidaciones en las muestras, las cuales pueden ser minimizadas por agentes reductores (Arranz, 2010).

c) Etapas de extracción: Este proceso puede realizarse en una única etapa o en etapas múltiples. Esto dependerá del equipo utilizado y de las condiciones del proceso. Por ejemplo, usando un equipo de soxhlet, permite la obtención de varias etapas, sin embargo, un tanque o recipiente cualquiera en el que se pueda dar una maceración, puede trabajarse solamente en una etapa o bien en etapas múltiples (Bazán, 2012).

d) Agitación del fluido: Su importancia radica en el incremento de la difusión de la masa en el líquido, de esta manera va aumentando la transferencia de masa. Así mismo, la agitación de partículas finas evita sedimentaciones y da uso al área interfacial, generando mayor efectividad (Bazán, 2012)**.**

e) Temperatura: Es un factor que incrementa y facilita la velocidad de extracción, sin embargo, se debe tener cuidado con la influencia de la temperatura para las extracciones de solutos orgánicos (Bravo, 2010),

de la misma manera, Gonzáles et al. (2010) indica que las temperaturas mayores a >50 °C afecta la estabilidad de los compuestos tánicos, debido a la degradación enzimática, química y a las pérdidas causadas por la volatilización y la descomposición térmica.

f) **Tipo de Solvente**: Según Escobar y Chávez (2008), el líquido elegido debe ser selectivo y de baja viscosidad, usualmente se usa solvente en estado puro, conforme transcurre la extracción, la concentración del soluto incrementa y el gradiente de concentración reduce e incrementa la viscosidad del líquido, al respecto Bazán (2012), manifiesta que un buen solvente debe presentar habilidad de solvatación o la capacidad de formar enlaces, de acuerdo a la naturaleza de los enlaces químicos que se formen. Así mismo indica que la polaridad es una característica muy importante, debido a que establece una diferencia en la carga eléctrica sobre varias porciones de una molécula, los más significativos son los próticos, los cuales pueden liberar un hidrógeno por ionización o donar protones y formar puentes de hidrógeno, por ejemplo, el agua y etanol. Al respecto, el etanol es buen disolvente de aplicación, esto se debe a su polaridad intermedia y su capacidad de interaccionar con el agua mediante enlaces hidrógeno, el cual determinan la solubilidad mutua. Así mismo Paladino (2011), concluyó en su investigación que las extracciones, utilizando solventes acuosos-orgánicos o la mezcla de algunos de ellos (agua, metanol, acetona, etanol), se obtienen extractos con diferentes concentraciones de compuestos fenólicos.

   Según Ali (2012), mediante su investigación determinó por análisis espectrofotométrico con rhodanine, comparando tres solventes (acetona, etanol y metanol) para el proceso de lixiviación en las vainas de tara, que el etanol provoca una mayor extracción de taninos hidrolizables, mientras que los otros solventes tuvieron menor eficiencia en la extracción de taninos. Finalmente, Venanzi (2014) hace mención que el etanol es un solvente inocuo (aceptado por la FDA como solvente de grado alimenticio) y de fácil manipulación.

2.2.8. Métodos de extracción tánica (solido - líquido)

Según Dueñas (2017), no existe un protocolo estándar en la extracción de taninos; sin embargo, los métodos existentes para estos procedimientos brindan una importante y valiosa información en la extracción, como son la presión atmosférica, con o sin agitación y temperatura que son utilizadas de manera frecuente y son conocidos como métodos convencionales o clásicos (Corrales et al., 2009). Por otro lado, los métodos de extracción de taninos más utilizados son: extracción por maceración, extracción por calentamiento, extracción hidroalcohólica 30 % por maceración y extracción hidroalcohólica 50 % por agitación (Camacho, 2021).

a) Extracción por maceración

Esta metodología consiste en que la muestra, con el grado de finura adecuado, se mezcle con el solvente en un tiempo duradero y que debe tener una agitación constante por varios días, tratando de influenciar el gradiente de concentración. Cabe mencionar que al principio de la extracción este gradiente está en el punto máximo, sin embargo, con el pasar de los días, y a pesar de la agitación, este irá disminuyendo. En las vainas de tara y según norma la maceración del producto, debe ser por siete días con agitación continua y resguardada de la luz solar, en este proceso se separa el extracto del residuo por medio de un colado o prensado, se lava el residuo con el líquido de extracción y ambos líquidos se llevan al contenido de masa preestablecido (Guerra, 2005).

b) Extracción con solventes

Es una técnica que consiste en la separación de solido – líquido, que al ponerla en combinación con un solvente son capaces de solubilizar dichos principios. Estos deben pasar de la planta al disolvente de manera que se obtenga un extracto líquido y un residuo, generalmente es utilizado en la extracción acuosa por calentamiento y por agitación. Este método se emplea con más frecuencia para la obtención de principios activos, sin embargo, para una correcta extracción tánica, se

debe tener en consideración las características de la vaina de tara (secado y tamaño de la partícula), tipo de solvente, temperatura de agitación, relación sólido-líquido y tiempo de extracción (Cortez, 2012).

2.2.9. Métodos de cuantificación de tánica

Cabello (2010), describe algunos métodos para la cuantificación de taninos, de los cuales recomienda el método de Lowenthal debido a que es el más utilizado, por presentar mayor facilidad de realizarlo en laboratorios poco equipados; sin embargo, el HPLC (cromatografía líquida de alta eficiencia) es más preciso, pero a la fecha ha sido poco utilizado por la difícil disponibilidad del equipo.

a) Método del tungsto-molíbdico-fosfórico

Este método determina taninos totales y se basa en la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo tungsto fosfomolíbdico (ácidos fosfowolfrámico y fosfomolíbdico) en medio básico, el cual produce una coloración azul y es medida a 700 nm, la determinación del porcentaje de taninos se expresa como ácido tánico (Lastra et al., 2000).

Así mismo, Gutierrez et al. (2000), en su investigación, realizó una validacion de dos métodos espectrofotométricos como es el método del tungsto-molíbdico-fosfórico *y* el método espectrofotométrico, los cuales son utilizados para la cuantificación de taninos, en ella se evaluó los requisitos de validación propuestos para el control químico de calidad, como son los aspectos de linealidad, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), exactitud y especificidad, teniendo como resultado que ambos métodos son confiables pues demuestran mantener los criterios fundamentales ya antes mencionados.

b) Método de espectrofotometría UV-Vis

Se define como una técnica que se basa en la radiación electromagnética de las regiones visibles, ultravioleta cercana e infrarroja cercana del espectro electromagnético y es usada para cuantificar la luz que es absorbida y dispersada por una muestra, es decir, una cantidad conocida como extinción, la cual es definida como suma de luz absorbida y dispersada. Estas medidas son comparadas en un rango de longitudes de onda con la finalidad de cuantificar la dependencia del espectro de extinción con la longitud de onda, así la información se grafica como extinción en función de la longitud de onda. El fondo o background de cada espectro es corregido usando un blanco para evitar que las características espectrales del medio o solvente se incluyan en el espectro de extinción de la muestra (Douglas, 2000).

La longitud de onda comprende entre 190 y 800 nm. Cuando un haz de radiación UV-Vis atraviesa una disolución conteniendo un analito absorbente, la intensidad incidente del haz (Io) es atenuada hasta I. Esta fracción de radiación que ha logrado traspasar la muestra es denominada transmitancia (T) ($T = I/Io$). Por motivos de aspectos prácticos, se usa la absorbancia (A) en lugar de la transmitancia por estar relacionada linealmente con la concentración de la especie absorbente (Douglas, 2000). Según Dekker (2005), el método espectrofotométrico se fundamenta por la ley de Beer – Lambert y Beer – Bouguer, así mismo hace mención que la longitud de onda de la radiación de 190 a 326 nm es causada por la lámpara de deuterio y una longitud de onda de 326 a 1100 nm es causada por lámparas de tungsteno.

c) Método por HPLC

La cromatografía líquida de alta eficiencia es un método preciso, sin embargo, ha sido poco utilizado por la difícil disponibilidad del equipo, por otro lado, para la detección de taninos por HPLC se

emplean detectores de diodos alineados, lo que permite la obtención del espectro UV-Vis de cada pico cromatográfico, esto facilita la distinción entre los diferentes tipos de taninos y otros compuestos fenólicos. Es una técnica que se emplea para la separación y cuantificación de compuestos fenólicos (taninos) (Espinal, 2009).

2.3. Definición de términos

- **Ecotipo:** Se le define a una subpoblación genéticamente diferenciada que está restringida a un hábitat específico, a un ambiente particular o a un ecosistema definido, con límites de tolerancia particulares a los factores ambientales locales. La adaptación a un ecosistema o a un hábitat particular implica cambios genéticos que se establecen de acuerdo con los límites de tolerancia de las especies (Custodio, 2017).

- **Vainas:** La cáscara de tara representa el 62 % del fruto previamente despepitada y, mediante un proceso de molienda a diferente granulometría, forma un producto de exportación como materia prima para la obtención de ácido tánico, ácido galotánico y ácido gálico (De la Cruz, 2004). Las vainas de tara contienen taninos que son hidrosolubles y conducen la división de diferentes ácidos (Villena, 2018).

- **Tara en Polvo:** Está compuesta por las vainas del fruto, el cual contiene entre 40 % y 60 % de contracción de tánica, dependiendo de la calidad y etapa de maduración (Schiaffino, 2004).

- **Tamizado:** Se define a la separación de una mezcla compuesta por sólidos de diversos tamaños de grano en dos o más porciones, mediante una superficie tamiz que actúa como separador de tipo “aceptación y rechazo”, de tal manera que las porciones finales originadas en la separación estén constituidas por granos de tamaño más uniforme que en la mezcla original (Espinal, 2009).

III. METODOLOGÍA

La ejecución de este proyecto de investigación se realizó en el laboratorio de Biotecnología y en el laboratorio de Investigación y Desarrollo de Productos de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Moquegua y en la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, desde octubre de 2018 hasta noviembre de 2019.

3.1. Tipo y nivel de Investigación

3.1.1. Tipo de Investigación

El trabajo de investigación realizado es de tipo experimental, debido a que tiene como objetivos determinar el contenido de taninos extraídos con dos solventes (etanol y acetona a 40 %, 50 % y 60 %) y determinar el perfil de taninos de cinco ecotipos (almidón grande, almidón común, morocho, verde esmeralda y precoz) de vaina de tara.

3.1.2. Nivel de Investigación

El nivel de investigación del proyecto de tesis es experimental.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Es la producción total de tara ubicada en el INIA (Instituto Nacional de Innovación Agraria) de la región Moquegua.

3.2.2. Muestra

Del total de producción de tara se seleccionó 1.8 kg de materia prima entera por cada ecotipo, de las cuales solo se utilizó las vainas.

3.3. Instrumentos

3.3.1. Equipos

- Balanza analítica, marca MRC, modelo ASB-310-C2-V2.
- Evaporador rotatorio, marca JP SELECTA, modelo RE2000.
- Agitador magnético, marca DRAGONLAB, modelo MS-MP8.
- Espectrofotómetro UV/VIS, marca PERKIN ELMER, modelo Lambda 650.
- Estufa universal, marca MEMMERT, modelo UN110.
- Equipo HPLC, marca AGILENT, modelo AT-1200-DAD.
- Cámara fotográfica, marca CANON, modelo ELHP 190.

3.3.2. Reactivos e insumos

- Estándar de ácido tánico al 99 %, marca SIGMA ALDRICH.
- Estándar de ácido gálico al 99 %, marca SIGMA ALDRICH.
- Ácido fosfórico 85%, marca EMSURE.
- Ácido fosfomolibdico, marca SIGMA.
- Etanol 40 %, marca SIGMA.
- Etanol 50 %, marca SIGMA.
- Etanol 60 %, marca SIGMA.
- Carbonato de sodio 20 %, marca ISOLAB.
- Tungstato de sodio al 99 %, marca SIGMA ALDRICH.
- Ácido Clorhídrico 34.5 %, marca MERCK.
- Ácido sulfúrico 97 %, marca MERCK.
- Acetona al 40 %, marca ISOLAB.
- Acetona al 50 %, marca ISOLAB.
- Acetona al 60 %, marca ISOLAB.
- Índigo de Carmín, marca SIGMA.
- Permanganato de potasio 0.1 N, marca SIGMA ALDRICH.
- Formaldehido al 37 %, marca SIGMA ALDRICH.
- Agua destilada.

3.3.3. Otros materiales

- Tamiz Nº 60 mesh, 0.0098 pulg ASTM E -11.
- Pizeta de 500 ml.
- Micro pipetas de 500ul - 5000 ul, marca ISOLAB.
- Papel filtro lento de 12 cm x 12 cm x 100.
- Cubetas para espectrofotómetro UV/VIS, marca ISOLAB.
- Soporte universal.
- Aros metálicos.
- Pinza metálica.
- Papel aluminio.
- Molino de discos manual.

3.4. Procedimientos

3.4.1. Metodología experimental

Se utilizó dos tipos de solventes (etanol y acetona) a diferentes concentraciones (40 %, 50 % y 60 %), los cuales se aplicaron a los 5 ecotipos de polvo de vaina de tara (almidón grande, almidón común, precoz, verde esmeralda y morocho) a fin de obtener mayor porcentaje de taninos. Las muestras obtenidas fueron analizadas en función a taninos totales (T.T.), taninos hidrolizables (T.H.), taninos condensados (T.C.), ácido tánico y ácido gálico, los cuales se describen a continuación:

3.4.2. Muestreo

Basándonos en la metodología probabilístico estratificado, establecido por Delgado (2004), se seleccionaron 36 plantones de tara de cada ecotipo (almidón grande, almidón común, precoz, verde esmeralda y morocho) y se recolectaron 50 g por cada planta, siendo 1.8 kg, el cual se calcula de la siguiente manera:

- **Universo (M):** Plantones de tara extraídos del INIA.
- **Población objetivo (N):** Plantas de 10 años a más, altura de 2 m a más = 40.

- **P/Q:** Probabilidad que se presenta el fenómeno 50 %/50 % = 0.5/0.5
- **Z:** Valor crítico correspondiente al nivel de confianza elegido, siempre se opera con valor zeta al 95 % = 1.96 según tabla.
- **e:** Margen de error permitido 5 % = 0.05.

$$no = \left(\frac{z}{e}\right) * p * q$$

$$n = \frac{no}{1 + \frac{no}{N}}$$

Remplazando datos

$$no = \left(\frac{1.96}{0.05}\right) * 0.5 * 0.5$$

$$no = 384$$

$$n = \frac{384}{1+\frac{384}{40}} = 36$$

Se seleccionaron 36 plantones de tara de cada uno de los 5 ecotipos para el muestreo y se cosecharon 50 g de muestra de cada una, finalmente se obtuvo 1.8 kg de tara por ecotipo.

- **Selección de muestras**

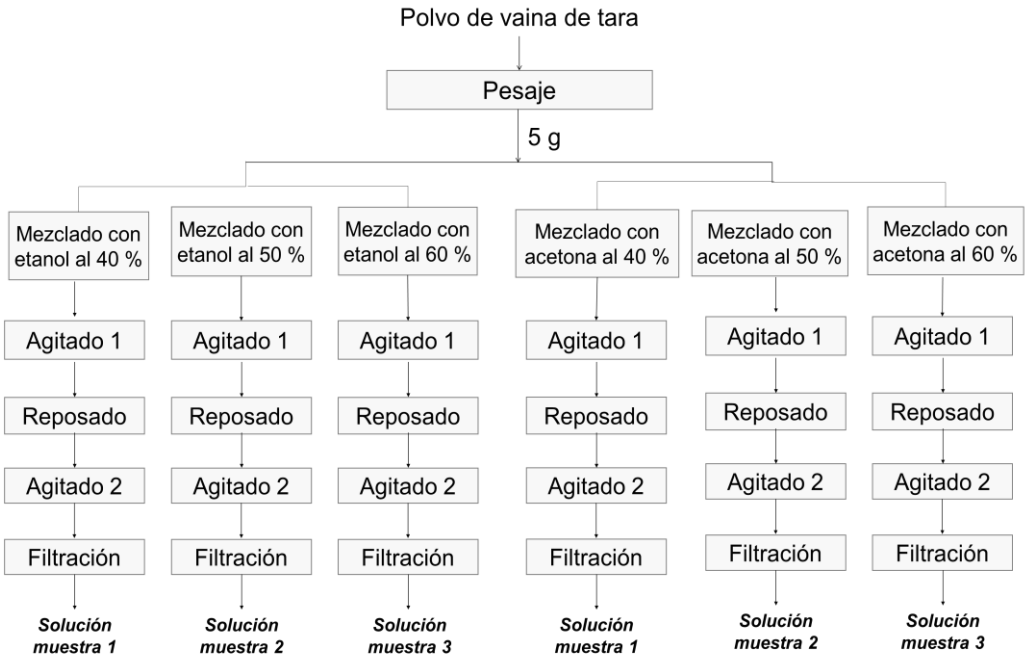
Se recolectó la tara sujeta al árbol debido a que Custodio (2017) afirma que la tara caída al suelo pierde sus características fisicoquímicas afectando la obtención de taninos. Así mismo, el polvo de vaina se obtuvo usando un molino de discos manual y un tamiz de 0.0098 pulg con diámetro de 0.250 mm (ver anexo 4).

- **Extracción de extractos tánicos (sólido - líquido)**

Se pesó 5 g de polvo de vaina de tara de cada ecotipo y se agitó en vasos precipitados de 250 ml con etanol a diferentes

concentraciones (40 %, 50 % y 60 %), durante 6 h usando un agitador magnético a 500 rpm, como se muestra en la figura 5. Cumplido el tiempo, se dejó reposar por 8 h y se volvió agitar por 30 min, luego se filtró, posteriormente se transfirió 4 ml del filtrado a una fiola volumétrica y se aforó a 50 ml con agua destilada, la misma técnica se aplicó para la acetona a diferentes concentraciones (40 %, 50 % y 60 %) para obtener la ***solución muestra.***

Figura 5: *Proceso para la obtención de la solución muestra*



3.4.3. Determinación de contenido de taninos totales (T.T.)

Se utilizó el método de *tungsto-molíbdico-fosfórico* para cuantificar taninos, establecida por Gutiérrez et al. (2000), con algunas modificaciones, teniendo como patrón al ácido tánico, para ello se realizaron los siguientes procedimientos.

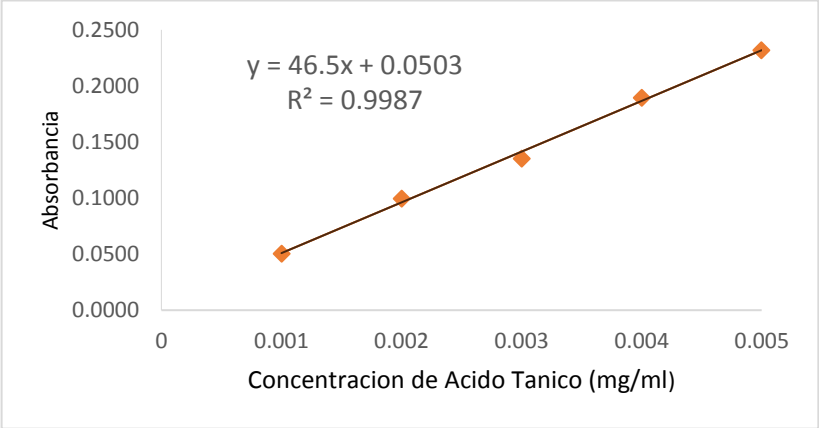
En un vaso precipitado de 100 ml se pesó 10 g de tungstato de sodio, de ácido fosfomolibdico y 5 ml de ácido fosfórico al 85 % en 75 ml de agua destilada. Luego se llevó a reflujo por 2 h y se aforaró hasta enrase, esta preparación se denominó *reactivo para taninos.* Seguidamente, se pesó 25 mg de ácido tánico en un matraz de 100 ml y se diluyó en agua destilada

hasta enrase, luego se midió 20 ml de esta solución en un matraz de 100 ml y se volvió aforar con agua destilada, la cual denominamos *solución estándar de ácido tánico.*

De la *solución muestra* se agregó 5 ml en una fiola de 50 ml, donde se añadió 2 ml del reactivo de taninos y se agitó, seguidamente se dejó reposar por 5 min y finalmente se le añadió 1ml de solución de carbonato de sodio al 20 % (p/v) hasta enrase (Anexo 5).

Seguidamente se procedió a la lectura de absorbancia de cada una de las soluciones preparadas a una longitud de onda de 700 nm en un *espectrofotómetro UV – visible,* la cual se describe y calcula en el Anexo 6. Con los datos de absorbancia (0.0506 mg/ml a 0.2318 mg/ml) y concentración (0.001 a 0.005) se elaboró la curva de calibración con base al ácido tánico, como se observa en la figura 6.

Figura 6: *Curva estándar del ácido tánico*



La curva de calibración equivalentes al ácido tánico (EAT) permitió la obtención de la ecuación de la recta, el cual mediante cálculos º el contenido porcentual de taninos totales presentes en los extractos etanólicos y acetenólicos del polvo de vaina de tara de cada ecotipo evaluado.

3.4.4. Determinación del contenido de taninos hidrolizables (T.H.)

Para este proceso se utilizó el método volumétrico, establecido por Espinal (2009) y Marroquín (2008), el cual se detalla a continuación:

Se colocó 1 g de polvo de vaina de tara en un beaker de 250 ml y se disolvió en 175 ml de etanol al 50 % (p/v) (1:10), luego se transfirió la solución a un vaso precipitado de 250 ml y se colocó en un agitador magnético por 4 horas a temperatura ambiente. Seguidamente, en un beaker de 250 ml se puso 1 ml de la solución líquida tánica y se agregó 5 ml de índigo de carmín, finalmente se adicionó 200 ml de agua destilada. Se pesó 0,1 g de índigo de carmín en matraz y se añadió 50 ml de agua destilada, a continuación, se adicionó 5 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) y 45 ml de agua destilada.
Igualmente se realizó la titulación con $KMnO_4$ en un blanco, conteniendo 1 ml de índigo carmín y 40 ml de agua destilada, con la finalidad de obtener un cambio de coloración de azul a verde claro.

Finalmente, se tituló con permanganato de potasio al 0.1 N, hasta visualizar un color amarillo claro. El procedimiento se realizó por triplicado. El porcentaje de taninos de polvo de vaina de tara para el almidón grande, almidón común, precoz, verde esmeralda y morocho se obtuvieron con la siguiente formula:

$$\%\ \text{Tanino en el Extracto} = \left[\frac{\left[0.1\text{N}(\text{mlo}-\text{mlb})*\left(\frac{\text{Pfg}}{\left(\frac{\#e^-}{1\text{eq}}\right)}\right)*\left(\frac{1\text{eq}}{1000\text{meq}}\right)\right]}{\text{g de muestra}}\right]*100 \quad \textbf{(ec, 1)}$$

Donde:

Mlo = Mililitros utilizados de permanganato de potasio.

Mlb = Mililitros del blanco obtenidos.

Pfg = Peso fórmula en gramos del tanino.

$\#e^-$ = Número de electrones intercambiados ($2e^-$).

g = Gramos de muestra.

El punto de equivalencia de los miliequivalentes de $KMnO_4$ son iguales a los miliequivalentes de taninos, por lo tanto:

1 meq $KMnO_4$ = 1 meq de tanino

$$0.1 \quad N(mlo - mlb) = \left(\frac{4.2 \text{ mg tanino}}{1000}\right) * \left(\frac{\frac{\#e}{Pfg}}{\frac{1000meq}{1eq}}\right) * \left(\frac{1ml}{100ml}\right)$$

$$Pfg = \frac{4.2g\ taninos(2e) * (1ml)}{0.1N(mlo - mlb) * 100ml}$$

Obteniendo la siguiente ecuación:

$$\%\ Taninos\ en\ el\ extracto = \left(\frac{((ml)KMnO_4 - (ml)Blanco) * \frac{4.2mg}{mlKMnO_4} * (2e)}{mg\ extracto\ obtenido}\right) * 100$$

3.4.5. Determinación del contenido de taninos condensados (T.C.)

El contenido de taninos condensados se realizó por el método gravimétrico stiasny, establecido por Tezén (2008) y Romero (2012). Para ello se colocó una muestra de 10 ml de extracto total de líquido en un vaso precipitado de 100 ml, seguidamente se agregó 5 ml de ácido clorhídrico al 34.5 % y 10 ml de formaldehido al 38 %, luego se filtró con el papel filtro lento y se colocó en una estufa a 105 ºC por 24 horas, posteriormente se sometió a secado el producto retenido en el papel filtro, finalmente se pesó el producto obtenido para determinar el contenido tánico y se calculó el porcentaje de T.C. con la siguiente ecuación:

% Taninos en el extracto = NS = $\left(\frac{PP}{PR}\right) * 100$ (ec.2)

% Taninos en la muestra = $\left(\frac{NS * ET}{100}\right)$ (ec.3)

Donde:

NS = no stiasny

PP = gramos de precipitado

PR = residuo de extracto

ET = % extracto total

3.4.6. Análisis de ácido tánico y ácido gálico

El análisis cromatográfico líquido (HPLC) se realizó en la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, para ello se utilizó la solución muestra previamente acondicionada.

Solo se consideró la solución muestra que obtuvo el mayor contenido de taninos totales, el cual está compuesta por el ecotipo morocho, de la misma manera se utilizó los dos solventes etanol al 50 % y acetona al 60 %, debido a que ambos solventes obtuvieron una mayor extracción tánica.

Para el análisis de HPLC se utilizó el equipo Cromatógrafo Agilent serie 1200 con un sotware de control Chemstation V03.02, la cantidad de muestra usada fue dos frascos de 50 ml cada uno, también se utilizó el solvente A, agua 0.1 % $H_3PO_{4\ Baker}$ y el solvente B Acetonitrilo de la marca Merck, con un sistema de análisis isocrático a una temperatura de 40 ºC con un tiempo de análisis de 10 min y volumen de inyección 1.0 ul, los datos fueron leídos en rango de 190 nm a 700 nm con tres repeticiones, expresados como ácido tánico y ácido gálico.

3.5. Análisis de datos

3.5.1. Diseño experimental

En el presente proyecto de investigación se evaluaron tres factores, como son: los cinco ecotipos (almidón grande, almidón común, precoz, verde esmeralda y morocho), dos tipos de solventes (etanol y acetona) y niveles de concentración (40 %, 50 % y 60 %) sobre las variables respuesta (taninos totales, taninos hidrolizables y taninos condensados) de la vaina de tara, para ello se utilizó el diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial 5 x 2 x 3 con 3 repeticiones, teniendo un total de 90 observaciones que fueron analizadas en el programa Software Estadístico INFOSTAT versión 2020, el cual permitió determinar el ANOVA y realizar las prueba de comparación mediante Tukey, con un nivel de significancia al 5 %.

Tabla 2: *Estructura del diseño experimental por tratamientos*

Trat.	Ecotipos	Solvente	Conc. (%)	R.	P.
T1	Almidón grande	Etanol	40	3	
T2	Almidón común	Etanol	40	3	
T3	Precoz	Etanol	40	3	
T4	Verde esmeralda	Etanol	40	3	
T5	Morocho	Etanol	40	3	
T6	Almidón grande	Etanol	50	3	
T7	Almidón común	Etanol	50	3	
T8	Precoz	Etanol	50	3	
T9	Verde esmeralda	Etanol	50	3	
T10	Morocho	Etanol	50	3	
T11	Almidón grande	Etanol	60	3	Rendimiento de taninos totales, hidrolizables y condensados (%).
T12	Almidón común	Etanol	60	3	
T13	Precoz	Etanol	60	3	
T14	Verde esmeralda	Etanol	60	3	
T15	Morocho	Etanol	60	3	
T16	Almidón grande	Acetona	40	3	
T17	Almidón común	Acetona	40	3	
T18	Precoz	Acetona	40	3	
T19	Verde esmeralda	Acetona	40	3	Concentración acido tánico y ácido gálico (mg/ml).
T20	Morocho	Acetona	40	3	
T21	Almidón grande	Acetona	50	3	
T22	Almidón común	Acetona	50	3	
T23	Precoz	Acetona	50	3	
T24	Verde esmeralda	Acetona	50	3	
T25	Morocho	Acetona	50	3	
T26	Almidón grande	Acetona	60	3	
T27	Almidón común	Acetona	60	3	
T28	Precoz	Acetona	60	3	
T29	Verde esmeralda	Acetona	60	3	
T30	Morocho	Acetona	60	3	

Nota. Trat. = tratamiento; Conc. = Concentración; P. = Procedimientos

En la presente investigación se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial 5 x 2 x 3 cuyo modelo estadístico es el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + a_i + b_j + c_k + (ab)_{ij} + (ac)_{ik} + (bc)_{jk} + (abc)_{ijk} + u_{ijkl}$$

$$i = 1, 2, \dots, a \; ; \; j = 1,2, \dots, b \; ; \; k = 1,2, \dots, c \; ; \; l = 1,2, \dots, r$$

donde R es el número de repeticiones, n = abcr es el número de observaciones, μ es la media general, a_i es ecotipo, b_j es el solvente, c_k es la concentración y u_{ijkl} es el error.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Evaluación de taninos totales, hidrolizables y condensados extraídos con etanol y acetona EAT

4.1.1. Taninos totales (T.T.)

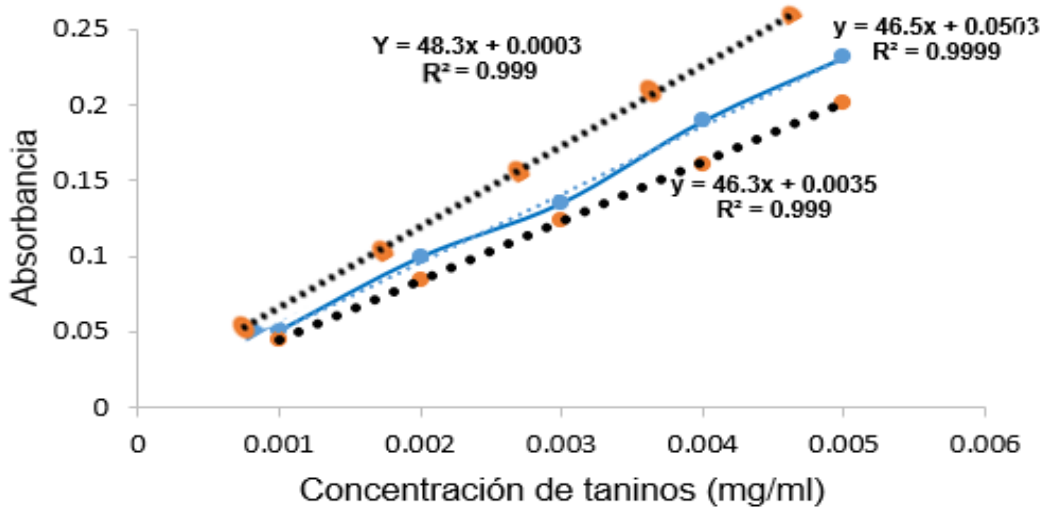
En la tabla 3, se puede apreciar los resultados obtenidos por esta investigación y de otros reportes, para ello se usó el equipo espectrofotómetro con la finalidad de realizar la curva de calibración y la ecuación de la recta, como se observa en la figura 7.

Tabla 3: *Comparación de resultados de absorbancia en diferentes trabajos*

Resultados del autor			Pérez y Pisconte (2010)		Palma y Torres (2016)	
Nombre	**Absor-bancia**	**Concentración AT (mg/ml)**	**Absor-bancia**	**Concentración AT (mg/ml)**	**Absor-bancia**	**Concentración AT (mg/ml)**
E1	0.0506	0.001	0.053*	0.001	0.048€	0.001
E2	0.0995	0.002	0.101*	0.002	0.096€	0.002
E3	0.1353	0.003	0.148*	0.003	0.145€	0.003
E4	0.1896	0.004	0.192*	0.004	0.193€	0.004
E5	0.2318	0.005	0.242*	0.005	0.241€	0.005

Nota: **Pérez y Pisconte (2010),* €*Palma y Torres (2016).*

Figura 7: *Comparación de curvas de calibración*



En la Tabla 3 se observa que los resultados para las lecturas de absorbancia fueron similares a los reportados por Pérez y Pisconte (2010); Palma y Torres (2016), esto es debido a que se usaron como patrón al ácido tánico a una longitud de onda de 700 nm, además utilizaron concentraciones que van de 0.001 a 0.005 mg/ml, el cual determina con mayor precisión la calibración de curva. Las ecuaciones de recta (figura 7) al ser validadas mediante ajuste lineal, se aprecia que el valor del coeficiente de correlación R^2 es mayor a 0.9, lo que demuestra que el ensayo cumple con lo establecido por la ley de Lambert-Beer, lo cual indica que se puede usar la absorbancia para determinar la concentración del compuesto activo presente en la muestra (Díaz et al., 2005; Valdés et al., 2000).

Tabla 4: *Promedio de absorbancias de taninos totales extraídos con etanol y acetona*

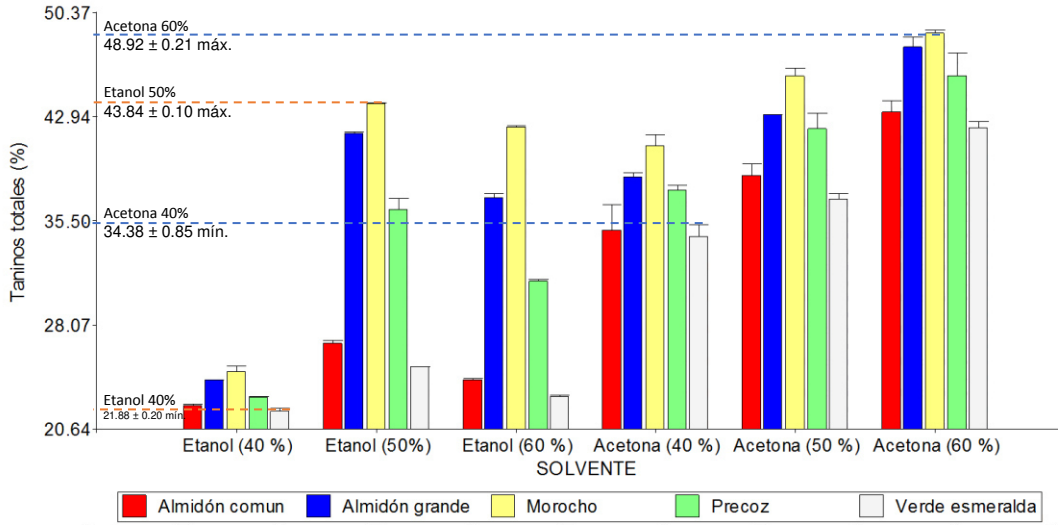
Muestras	Etanol (%)	Promedio absorbancia	Taninos totales (%) EAT	Acetona (%)	Promedio Absorbancia	Taninos totales (%) EAT
Almidón grande	40	0.1939	24.12 ± 0.04	40	0.2804	38.65 ± 0.33
Almidón común	40	0.1828	22.27 ± 0.13	40	0.2577	34.85 ± 1.75
Precoz	40	0.1865	22.88 ± 0.06	40	0.2745	37.67 ± 0.36
Verde esmeralda	40	0.1805	21.88 ± 0.20	40	0.2549	34.38 ± 0.85
Morocho	40	0.1975	24.73 ± 0.41	40	0.2936	40.87 ± 0.83
Almidón grande	50	0.2987	41.73 ± 0.12	50	0.3066	43.06 ± 0.03
Almidón común	50	0.2094	26.74 ± 0.19	50	0.2808	38.73 ± 0.80
Precoz	50	0.2663	36.30 ± 0.80	50	0.3009	42.10 ± 1.10
Verde esmeralda	50	0.1994	25.06 ± 0.05	50	0.2705	37.00 ± 0.45
Morocho	50	0.3112	43.84 ± 0.10	50	0.3231	45.83 ± 0.57
Almidón grande	60	0.2716	37.19 ± 0.24	60	0.3354	47.90 ± 0.77
Almidón común	60	0.1939	24.13 ± 0.07	60	0.3079	43.28 ± 0.81
Precoz	60	0.2358	31.16 ± 0.17	60	0.3231	45.83 ± 1.68
Verde esmeralda	60	0.1868	22.93 ± 0.07	60	0.301	42.13 ± 0.48
Morocho	60	0.3014	42.18 ± 0.09	60	0.3415	48.92 ± 0.21

En la tabla 4 se muestra los resultados obtenidos para taninos totales de los cinco ecotipos, dos tipos de solventes a diferentes concentraciones. Se observa que el mayor contenido tánico se extrae con la acetona al 60 % para el ecotipo morocho 48.92 %, almidón grande 47.90 %, precoz

45.83 %, almidón común 43.28 % y verde esmeralda 42.13 %. En el caso del etanol se logra mayor rendimiento a una concentración del 50 % para el ecotipo morocho 43.84 %, almidón grande con 41.73 %, precoz con 36.30 %, almidón común 26.74 % y verde esmeralda 25.06 %.

Así mismo, la concentración de menor capacidad de extracción para el etanol fue al 40 %, para ecotipo morocho con 24.73 %, seguido del almidón grande con 24.12 %, precoz con 22.88 %, almidón común 22.27 % y verde esmeralda con 21.88 %, de igual manera sucedió con la acetona, ya que el menor nivel de extracción fue al 40 %, seguido del 50 %. En la figura 8 se observa a detalle la comparación de los factores entre solventes, niveles de extracción y ecotipos de tara.

Figura 8: *Comparación de tres factores de estudio para taninos totales*



En la figura 8 se observa que las barras más altas corresponden a los taninos totales extraídos con la acetona respecto a la variable de respuesta, esto nos indica que este solvente tiene mayor eficacia en procesos de extracción tánica a un nivel de concentración al 60 %, seguido del 50 % y finalmente al 40 %, caso diferente a lo que sucede con el etanol que tiene su mayor extracción al 50 % pero disminuye al 60 % y 40 %. Por otro lado, el ecotipo con mayor rendimiento tánico extraído con ambos solventes es

el “morocho” seguido del almidón grande y el de menor contenido tánico es el verde esmeralda.

Según el análisis de varianza ANOVA muestra que existen diferencias significativas entre los factores de estudio (ecotipos, solventes y nivel de concentración) con p-valor <0.0001 sobre la variable respuesta taninos totales (ver tabla 15), para ello se utilizó la prueba de comparación de Tukey con 95 % de confiabilidad el cual en las interacciones de los factores determinó que la acetona al 60 % es significativamente superior al etanol al 50 %, en el proceso de extracción tánica, siendo el ecotipo morocho y almidón grande los que presentan mayor rendimiento significativo respecto a los demás.

La acetona al 60 % facilitó la mayor extracción de contenido tánico, seguido por el etanol al 50 %, esta diferencia ha sido también reportado por otras investigaciones. Bazán (2012) menciona que la acetona al 80 % al tiene mejor capacidad de extracción de taninos de tara respecto al etanol al 80 %. Por otro lado Ali (2012) y Villanueva (2007) indicaron que la extracción con acetona al 70 % era suficiente para la extracción de taninos. Esto puede deberse a que la mayor parte de taninos son más solubles en medios moderadamente polares (Chew et al., 2011). Respecto al etanol como solvente de extracción se obtuvo mejor rendimiento a una concentración del 50 % con 43.84 %, resultado similar al reportado por Briceño y Ríos (2012) que utilizaron la mezcla etanol-agua al 50 %, 70 % y 96 %, dando como resultado 53.9 %, 45 % y 44.1 % de taninos totales en la vaina de tara respectivamente, como se puede observar al usar el solvente a una concentración del 50 % se obtiene mayor porcentaje de taninos. Estos resultados se ven afectados por la polaridad intermedia del etanol, que permite una mayor liberación de compuestos fenólicos, y que la mezcla de etanol: agua 1:1 es más eficaz (Velásquez, 2004).

Se puede afirmar que el rendimiento de taninos totales está dentro del rango de 40-60 % para extracciones con mezclas binario-solvente como lo afirma Aguilar et al. (2014); Castillo y Lema (2011). La variación en el

rendimiento con otros estudios es debido a la localidad, tipo de suelo, condiciones atmosféricas, tipo de ecotipo, altitud y Tº (Briceño y Ríos, 2012). Así mismo, el lugar donde crece el árbol de tara puede ocasionar modificaciones en su composición química cuantitativa, además la metodología en la mezcla de distintos solventes, tamaño de partícula, tiempo y condiciones de extracción, esto influye significativamente en los resultados (Bazán, 2012; Nino et al., 2013).

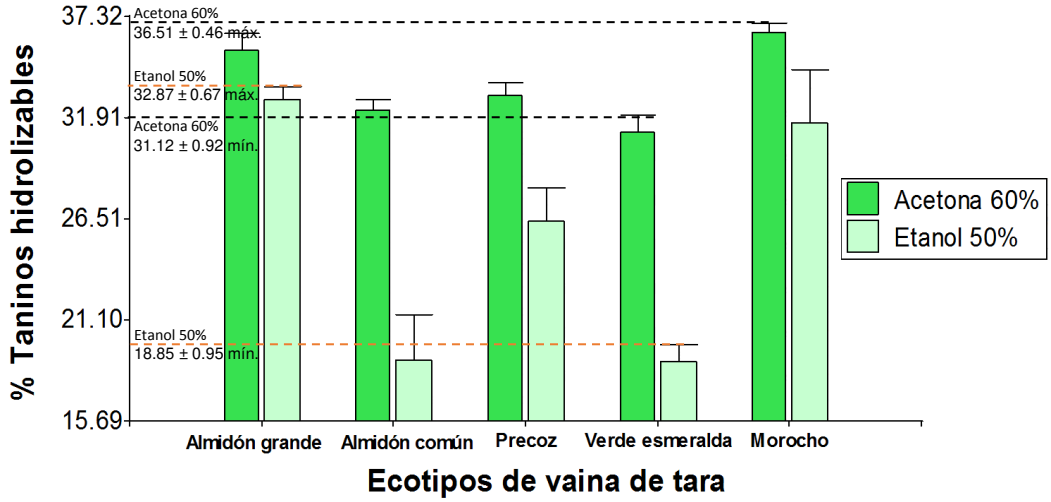
Ibieta y Peñarrieta (2021) descubrieron que el contenido de taninos totales obtenidos también está en función a la altitud del hábitat del cultivo, ya que las muestras de polvo de vaina obtenidas a mayor altura presentan valores más altos de taninos totales en comparación con aquellos producidos a niveles cercanos a la del mar, como posible influencia de una mayor radiación ultravioleta solar en la producción de taninos.

4.1.2. Taninos hidrolizables (T.H.)

Según el análisis de varianza ANOVA muestra que existen diferencias significativas entre los factores de estudio (ecotipos y solventes) con p-valor <0.0001 sobre la variable respuesta taninos hidrolizables, para ello se utilizó la prueba de comparación Tukey con 95 % de confiabilidad, la cual, en las interacciones de los factores, determinó que la acetona al 60 % es superior al etanol al 50 %, en el proceso de extracción de taninos hidrolizables, siendo el morocho 36.51 % el ecotipo con mayor concentración, seguido del almidón grande 35.52 %, almidón común 33.32 %, precoz 32.12 % y verde esmeralda 31 %, como se observa en la figura 09.

Según Garro et al. (1997) en su estudio demuestra que la tara está compuesta por taninos hidrolizables (41 % de ácido gálico y un 4,8 % de ácido elágico), con un valor promedio de 45.8 %, por lo tanto, en su investigación afirma que los taninos de tara son predominantemente galotaninos en lugar de elagitaninos. Barriga, (2014) reporta que el principio activo de la tara son los taninos hidrolizables con un contenido de 48 a 62 %.

Figura 9: *Comparación de tres factores de estudio para taninos hidrolizables*



Así mismo, según Mancero (2008), menciona que en la provincia de Loja el porcentaje de T.H. varía entre 30 % y 53 %, para Cajamarca varía entre 48 % a 52 % de T.H., teniendo como resultado que el contenido de T.H. para la provincia de Loja es 47.24 % y para Cajamarca es 49.89 %. Los resultados obtenidos son similares a los reportados por el autor, sin embargo, existe una variación promedio del 10 % el cual puede deberse a que se desconoce el ecotipo de tara que estudiaron.

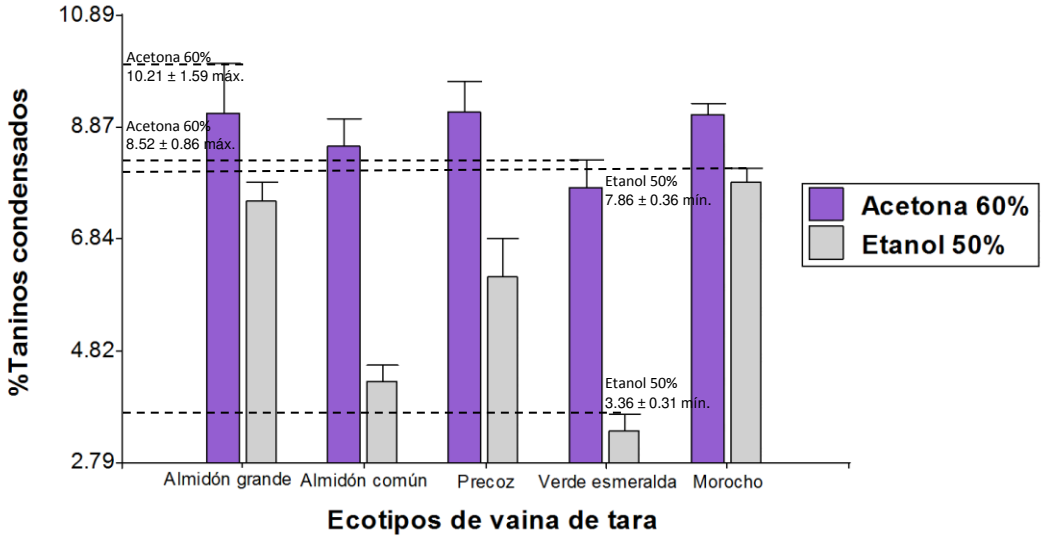
Ademas, existe influencia de diversos factores, como son tiempo, temperatura, metodología de extraccion, factores ambientales, toma de muestra y tamaño de partículas (Bravo, 2010; Alí, 2012; Bazán 2012; Arranz, 2010 Venanzi,2014; Camacho, 2021).

4.1.3. Taninos Condensados (T.C.)

El análisis de varianza ANOVA muestra que existen diferencias significativas entre los factores de estudio (ecotipos y solventes) con p-valor <0.0001 sobre la variable respuesta taninos condensados, para ello se utilizó la prueba de comparación Tukey, la cual, en las interacciones de los factores, determinó que la acetona al 60 % tiene mayor extracción respecto al etanol al 50 %, siendo el almidón grande 10.21 % el ecotipo con mayor

concentración de tanino condensados, seguido del morocho 9.95 %, precoz 9.46 %, almidón común 9.12 % y verde esmeralda 8.52 %, como se observa en la figura 10 (anexo 10).

Figura 10: *Comparación de tres factores de estudio para taninos condensados*.



Por otro lado, Ibieta y Peñarrieta (2021) en su investigación determinaron el contenido de T.C. de la tara teniendo como resultado 1.71 %; sin embargo, en nuestro estudió el ecotipo de tara almidón grande obtuvo el 10.21 % de taninos condensados, esto es a causa de que ambas investigaciones utilizaron diferente metodología, solvente y a su vez se desconoce qué tipo de ecotipo empleó para su estudio. Además, la variación de resultados se debe a que la concentración de taninos condensados depende altamente de factores como madurez, variedad o ecotipo, condiciones edafoclimáticas y manejos agronómicos (Camacho, 2021).

La concentración de taninos condensados que se obtuvieron por este método y otros estudios, son inferiores, esto se debe a que en la vaina de tara predominan mayor cantidad de taninos de tipo hidrolizable (Barriga, 2014; Garro et al., 1997).

4.2. Determinación de ácido tánico y ácido gálico

La determinación de ácido tánico y ácido gálico se realizó en el laboratorio de cromatografía y espectrometría de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, para ello se utilizó la muestra del ecotipo morocho con el solvente acetona al 60 %, del cual se obtuvo un mayor porcentaje de taninos totales.

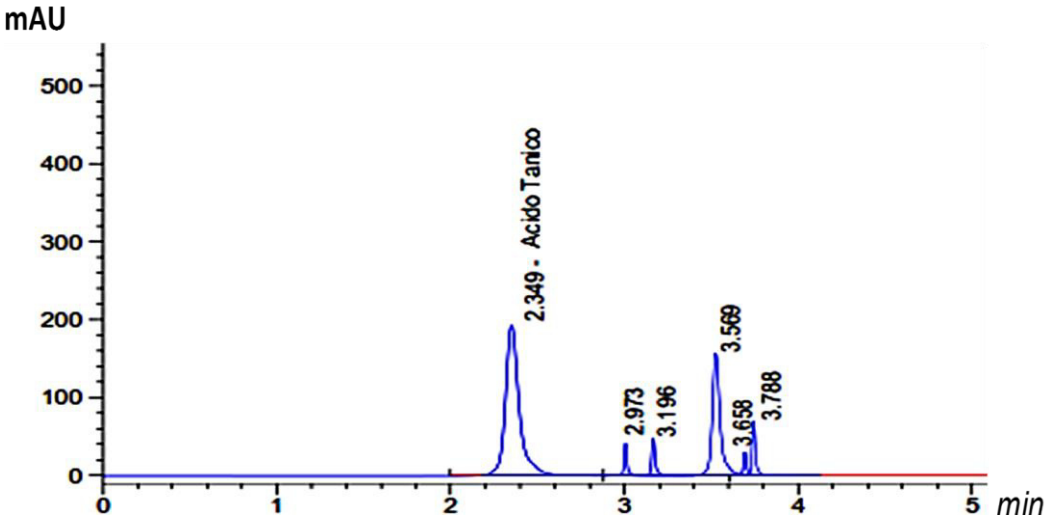
Tabla 5: *Cuantificación de taninos y tiempos de retención de polvo de vaina de tara realizada por HPLC-DAD expresada por mg/ml EAT*

Nº Picos	TR (min)	Compuestos	Concentración EAT mg/ml de extracto
1	2.349	Ácido tánico	3.67
2	2.973	Compuesto 2	1.96
3	3.196	Compuesto 3	2.83
4	3.569	Compuesto 4	3.21
5	3.658	Compuesto 5	2.34
6	3.788	Compuesto 6	3.68
Derivados del ácido tánico			17.71

En la Tabla 5 se puede observar un total de 6 compuestos, analizados por HPLC-DAD, así mismo se muestra el TR (tiempo de retención) y la concentración para cada compuesto, expresados en mg/ml EAT. En la figura 11 se muestra el cromatograma de compuestos fenólicos para cada TR con un valor máximo de 10 min, asociada a la absorbancia, la cual está expresada en mAU (unidades de miliabsorbancia).

Estos compuestos no identificados pueden ser los derivados del ácido tánico como las epicatequinas y catequinas, así mismo, en la mayoría de los cromatogramas de estudios similares el ácido gálico es el primer compuesto que eluye de la columna, lo que concuerda con lo observado en la determinación de polifenoles por HPLC del extracto supercrítico de vaina de tara (Dueñas et al., 2004).

Figura 11: *Cromatograma de identificación del acido tánico*



En la Tabla 6, se puede apreciar un total de 8 compuestos, analizados por HPLC-DAD, así mismo se muestra el TR y la concentración para cada compuesto expresados en mg/ml EAG. En la figura 12 se muestra el cromatograma de los compuestos fenólicos para cada TR con un valor máximo de 10 min, asociado a la absorbancia.

Tabla 6: *Cuantificación tánica y tiempos de retención expresada en mg/ml EAG.*

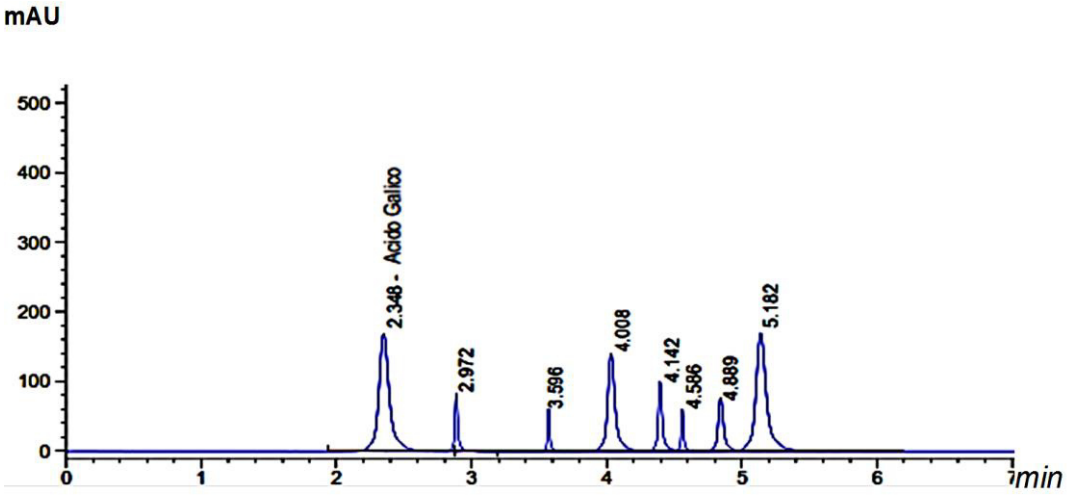
Nº Picos	TR (min)	Compuestos	Concentración EAG mg/ml de extracto
1	2.348	Ácido gálico	4.56
2	2.972	Compuesto 2	3.05
3	3.596	Compuesto 3	3.67
4	4.008	Compuesto 4	2.43
5	4.142	Compuesto 5	0.99
6	4.586	Compuesto 6	3.01
7	4.889	Compuesto 7	4.14
8	5.182	Compuesto 8	2.73
Derivados del ácido gálico			**24.58**

Se identificaron 8 compuestos derivados del ácido gálico, los cuales fueron leídos a una longitud de onda de 190nm - 700nm, el primer compuesto encontrado es el AG, siendo el primero que eluye en los picos como se muestra en la figura 10, con un TR de 2.348 min, este resultado es similar con la cromatografía aplicada en diferentes estudios como lo indican los autores Dueñas et al. (2004); Silva y Fernández (2006) donde hallaron 26

compuestos derivados al ácido gálico con un tiempo de 0 a 100 min, con una lectura de 280 nm aplicados para el polvo de vaina de tara con un tiempo menor de retención para el ácido gálico. Esta diferencia puede deberse a que en HPLC-DAD no se contabilizan algunos compuestos que estén presentes bajo el límite de cuantificación (Papagiannopoulos et al., 2004).

La cantidad de ácido gálico es superior al acido tánico, esto se debe a que el producto fue alterado por hidrólisis con solvente, afectando la perdida de azúcares y polifenoles, lo que provoca que aumente la proporción de ácido gálico y disminuyendo la de taninos (Papagiannopoulos et al., 2004), asociado a la formación de resinas y aceites que dificultan su análisis (Papagiannopoulos y Mellenthin, 2002).

Figura 12: *Cromatograma de identificación del acido gálico*



De estos derivados del AG, algunos podrían pertenecer a los taninos glicosilados, ya que en varios estudios analizados por HPLC de polifenoles se han encontrado 9 taninos hidrolizables, entre ellos está el galoil y glucosidos (Kumazawa et al., 2002) y en taninos condensados como es la quercetina, entre otros.

V. CONCLUSIONES

Los factores solvente y concentración han mostrado influencia en el rendimiento de extracción de taninos totales (T.T.), hidrolizables (T.H.) y condensados (T.C.) en los cinco ecotipos de tara, estableciendo mejores resultados a la acetona al 60%, logrando un mayor rendimiento en el ecotipo morocho de 48.93 % de T.T., 36.51 % de T.H. y 10.21 % de T.C.

Se determinó la cantidad de ácido tánico y ácido gálico presente en la muestra del ecotipo morocho, que tuvo mayor rendimiento de contenido con 3.67 mg/ml de ácido tánico y 6 compuestos derivados que podrían corresponder a las epicatequinas o catequinas y 4.56 mg/ml de ácido gálico con 8 compuestos adicionales que se presumen pertenecerían a los galotaninos y elagitaninos.

VI. RECOMENDACIONES

Considerar otros parámetros o variables en la metodología de extracción del contenido tánico en muestras de vaina de tara según la clasificación por ecotipo como: tiempo, temperatura, índice de madurez, edad del cultivo, zona geográfica, etc. Con el fin de lograr un método óptimo para su extracción.

Emplear métodos como cromatografía de gases y espectrofotometría de masas para identificar los tipos de taninos como acido gálico, acido tánico entre otros, en los ecotipos de tara sin estudiar ya que sus aplicaciones en el área agroindustrial tienen buen potencial y aún existen pocos estudios referentes.

VII. BIBLIOGRAFÍA

Aguilar Galvez, A., Noratto, G., Chambi, F., Debaste, F., & Campos, D. (2014). Potential of tara (Caesalpinia spinosa) gallotannins and hydrolysates as natural antibacterial compounds. *Food Chemistry*, *156*, 301–304. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.110

Ali Quinto, D. E. (2012). *Extracción de taninos (ácido gálico) a partir del polvo de vaina de tara (Caesalpinia spinosa) [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altiplano]*. http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/3404

Avilés Ochante, R. N. (2018). *Estudio químico y biológico de extractos de la hoja de tara (Caesalpinia spinosa) [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]*.

Barriga Ruiz, C. A. (2014). *Diagnostico de la cadena de producción y comercializacion de la Caesalpinia spinosa (Tara) en el Perú*.

Bazán Juro, H. J. (2012). *Influencia de los métodos de extracción y tamaño de partículas, sobre las propiedades fisicoquímicas y capacidad curtiente de taninos de tara (Caesalpinia spinosa) [Tesis de grado, Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac]*.

Bravo, N. (2010). *Estudio de la extracción de taninos a partir de la tara (Caesalpinia spinosa (Malina) Kuntze) aplicando los metodos Taguchi y superficie de respuesta* .

Briceño Rodriguez, Y. J., & Rios Gavidia, J. C. (2012). *Determinación del grado etanólico optimo para la extracción de taninos en el fruto de Caesalpinea spinosa "Tara" [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Trujillo]*. https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1744/Brice%C3%B1o%20Rodr%C3%ADguez%20Yannina%20Jackelin.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Camacho Gahona, Y. I. (2021). *Determinación del contenido de taninos extraídos de la vaina de la tara (Caesalpinia spinosa) proveniente del barrio el portete cantón gonzanamá de la provincia de Loja [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Loja Ecuador]*. http://dx.doi.org/10.47840/ReInA.2.3.900

Castillo Quinzo, M. A., & Lema Asitimbay, L. D. (2011). *Determinación del proceso para la obtención de taninos a partir del fruto del guarango para la utilizacion en curtiembre [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Chimborazo]*. http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/389

Céspedes L. y Muñoz G. (2013). Influencia de la temperatura, solvente y tipo de vaina en la extracción de taninos de *caesalpinia spinosa* (tara) por percolación y relación con su actividad antioxidante. *[Tesis de pregrado].* Universidad Católica de Santa María. https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UCSM_f6f1127f23486773eaa47c5cb2e51a95

Chew, K. K., Hg, S. Y., Thoo, Y. Y., Khoo, M. Z., Wan Aida, W. M., & Ho, C. W. (2011). Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of Centella asiatica extracts. *International Food Research Journal*, *18*, 571–578. http://www.ifrj.upm.edu.my/18%20(02)%202011/(15)%20IFRJ-2010-085.pdf

De La Cruz Lapa, P. (2004). Aprovechamiento integral y racional de la tara Caesalpinia spinosa - Caesalpinia tinctoria. *Revista Del Instituto de Investigación de La Facultad de Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas*, *7*(14), 64–73. https://doi.org/https://doi.org/10.15381/iigeo.v7i14.733

Díaz, N., Bárcena Ruiz, J. A., Fernández Reyes, E., Galván Cejudo, A., Jorrín Novo, J., Peinado Peinado, J., Toribio Meléndez-Valdés, F., & Túnez Fiñana, I. (2005). *Espectrofometría: Espectros de absorción y*

cuantificación colorimétrica de biomoléculas. https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf

Díaz Chuquiruna, P. G. (2010). *Forestación piloto con la tara en la microcuenca de San Juan (Alto Jequetepeque) Cajamarca [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]*. https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/1516/Diaz_cp.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

Dueñas, M., Estrella, I., & Hernández, T. (2004). Occurrence of phenolic compounds in the seed coat and the cotyledon of peas (Pisum sativum L.). *European Food Research and Technology*, *219*(2), 116–123. https://doi.org/10.1007/s00217-004-0938-x

Dueñas, M., Hernández, T., & Estrella, I. (2002). Phenolic composition of the cotyledon and the seed coat of lentils (Lens culinaris L.). *European Food Research and Technology*, *215*(6), 478–483. https://doi.org/10.1007/s00217-002-0603-1

Garro Galvez, J. M., Riedl, B., & Conner, A. H. (1997). *Analytical Studies on Tara Tannins*. *51*, 235–243. https://doi.org/10.1515/hfsg.1997.51.3.235

Guillen, M. B., & Gonzales Izibarbe, N. (2010). *Producción y exportación de derivados de la tara [Tesis de maestría, Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas]*. https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1748.7208

Ibieta, G., & Peñarrieta, J. M. (2021). Caracterización quimica y cuantificación de taninos del polvo de Caesalpinia spinosa: Tara Boliviana. *Revista Boliviana de Química*, *38*(1), 26–35. https://doi.org/10.34098/2078-3949.38.1.3

Kumazawa, S., Taniguchi, M., Suzuki, Y., Shimura, M., Kwon, M. S., & Nakayama, T. (2002). Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(2), 373–377. https://doi.org/10.1021/jf010938r

Mancero, L. (2008). *La Tara (Caesalpinia spinosa) en Perú, Bolivia y Ecuador: Análisis de la Cadena Productiva en la Región*. Programa Regional ECOBONA-INTERCOOPERATION. http://siar.minam.gob.pe/apurimac/download/file/fid/60195

Ministerio de Agricultura y Riego. (2019). *Producción y Comercio de la tara en el Perú*. https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/419835/produccion-comercio-de-la-tara-peru.pdf

Nino Castro, M., Yépez, A. M., & Pastor de Abraham, A. (2013). Comparación de tres metodos para determinar el porcentaje de taninos con el método de la norma ASTM D6401 aplicado para la “tara”, “quinual”, “mimosa” y “pino.” *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, *79*(4), 381–387. http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v79n4/a09v79n4.pdf

Palma Lucio, K. E., & Torres Cárdenas, C. A. (2016). *Cuantificación espectrotométrica de taninos totales en el epicarpio de Punica granatum L., procedente del distrito de Chimbote-Ancash [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Trujillo]*. http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1477

Papagiannopoulos, M., & Mellenthin, A. (2002). Automated sample preparation by pressurized liquid extraction-solid-phase extraction for the liquid chromatographic-mass spectrometric investigation of polyphenols in the brewing process. *Journal of Chromatography A*, *976*, 345–348. https://doi.org/10.1016/s0021-9673(02)01230-x

Papagiannopoulos, M., Wollseifen, H. R., Mellenthin, A., Haber, B., & Galensa, R. (2004). Identification and quantification of polyphenols in carob fruits (Ceratonia siliqua L.) and derived products by HPLC-UV-ESI/MSn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(12), 3784–3791. https://doi.org/10.1021/jf030660y

Pavón Vargas, D. J. (2015). *Uso potencial de la goma de tara (Caesalpinia spinosa) para el desarrollo de nuevas películas y recubrimientos*

comestibles compuestos [Tesis de pregrado, Escuela Politécnica Nacional]. https://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/10482

Pérez Escobedo, L. Y., & Pisconte Elizalde, Z. E. (2010). *Cuantificación espectrofométrica de taninos en el fruto maduro de Caesalpinia spinosa "Taya"-Procedente del distrito del Porvenir - Trujillo*.

Portal Quicaña E. (2012) *Distribución altitudinal y elaboración de clave dicotómica de variedades de tara (Caesalpinia spinosa). Huamanga, Ayacucho.* https://fdocuments.es/document/articulotaravariedades.html?page=8

Rodríguez, Y. J., & Gavidia, J. C. (2012). *Determinación del grado etanólico optimo para la extracción de taninos en el fruto de Caesalpinia spinosa "tara" [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Trujillo]*. http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1744

Silva Jaimes, M. I., & Fernandez Pérez, P. F. (2006). Obtención de ácido gálico a partir de tara (Caesalpinea spinosa L.) por fermentación en sustrato-sólido con Aspergillus. *Infinitum*, *4*(1), 02–09. https://doi.org/10.51431/infinitum.v4i1.397

Valdés, H., Rodriguez Leyes, E., Ponce de León, R., & Gonzales Sanabia, M. L. (2000). Método analítico para la cuantificación de taninos en el extracto acuoso de romerillo. *REV CUBANA PLANT MED*, *5*(1), 17–22. http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v5n1/pla05100.pdf

Velásquez Valderrama, Á. M. (2004). Extracción de taninos presentes en el banano verde. *Revista LASALLISTA De Investigación*, *1*(2), 17–22. http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/274/1/17_%2022_Extracci%c3%b3n%20de%20taninos%20presentes%20en%20el%20banano%20verde.pdf

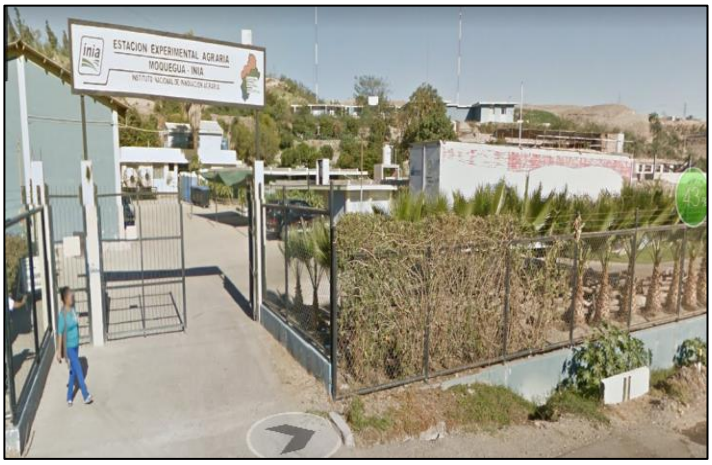
Villanueva Mendoza, C. M. (2007). *La tara: el oro verde de los incas para el mundo* (Ediciones AGRUM, Ed.). Universidad Nacional Agraria La Molina.

Zevallos Sanchez, P. L., & Yana Vilca, J. G. (2018). *Estudio y caracterización fisicoquímica de la harina de la vaina de tara (Caesalpinia spinosa) como insumo industrial, para mercado de exportación [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Agustin de Arequipa]*. http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/7217/IQzesapl.pdf?sequence=1&isAllowed=y

VIII. ANEXOS

Anexo 1: *Panel fotográfico*

Fotografía 1: *Instituto Nacional de Innovación Agraria – INIA, lugar de recojo de muestras*



Fotografía 2: *Ecotipo de tara (caesalpinia spinosa)*



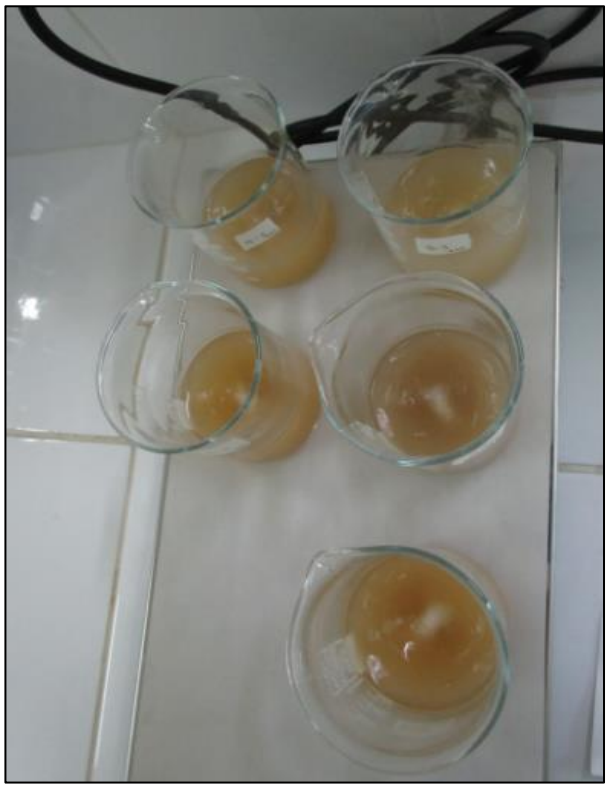
Fotografía 3*: Vaina de tara en proceso de molienda*



Fotografía 4: *Tamizaje de vaina de tara*



Fotografía 5: Mezcla de solventes con polvo de vaina de tara



Fotografía 6: *Extracción de taninos por agitación magnética a Tº constante*



Fotografía 7: *Reposo de muestras*



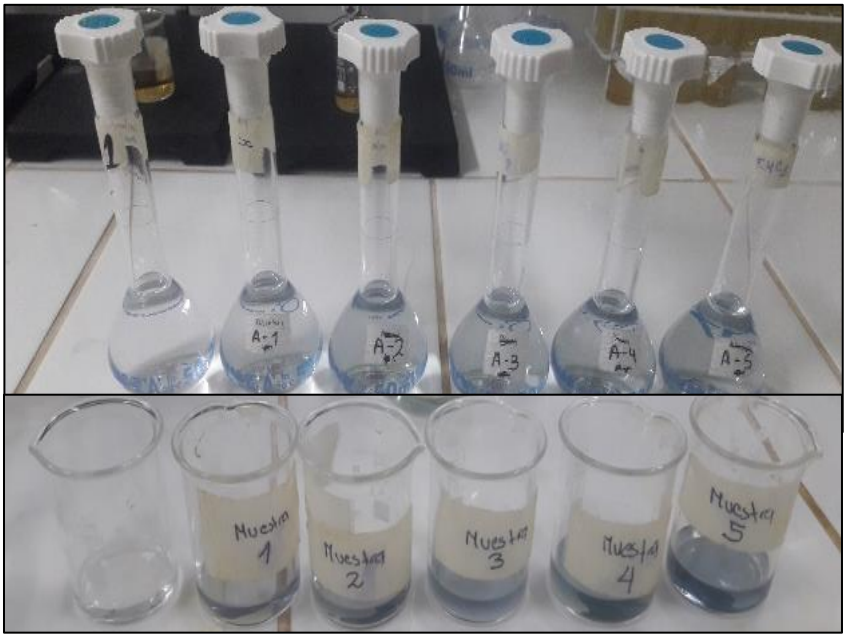
Fotografía 8: *Filtración de muestras*



Fotografía 9: *Dilución de muestra con solvente para cuantificación de taninos*



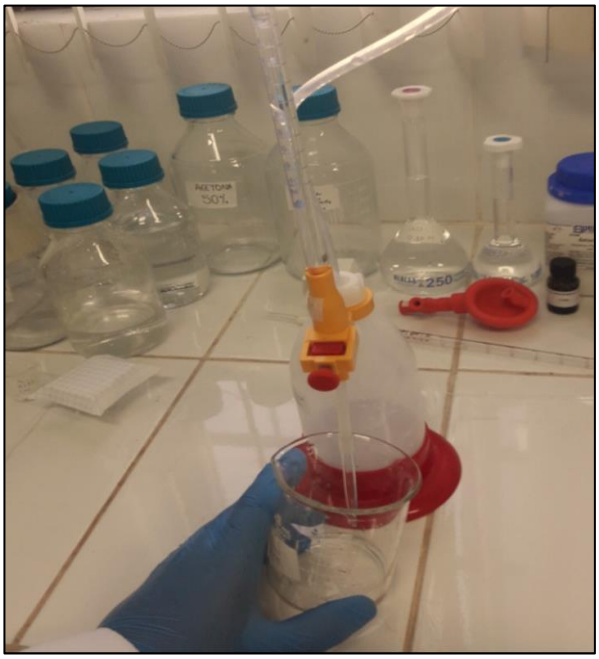
Fotografía 10: *Dilución de reactivos en función al ácido tánico*



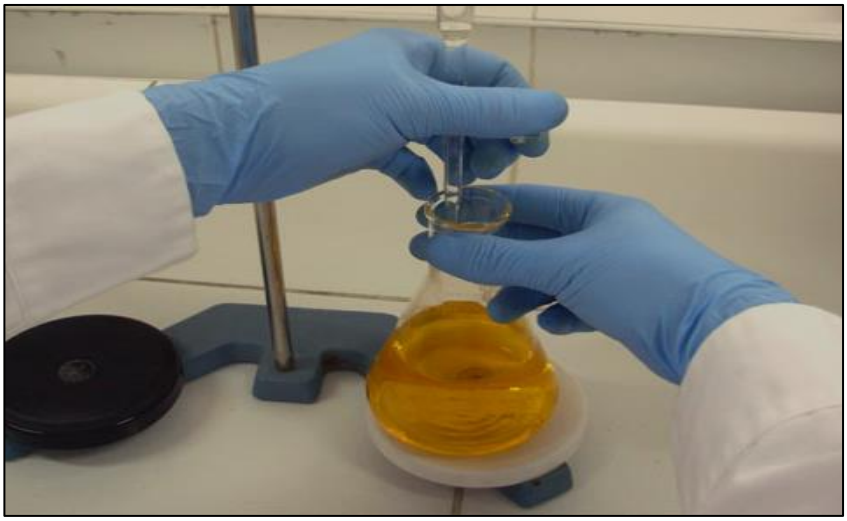
Fotografía 11: *Análisis espectrofotométrico a 700 nm*



Fotografía 12: *Acondicionamiento para titulación ácido – base*



Fotografía 13: *Determinación de taninos hidrolizables*



Fotografía 14: *Determinación del perfil de tanino por HPLC.*



Anexo 2: Caracteristicas morfologicas del fruto de tara maduro, identificadas en la region Moquegua – INIA

CARACTERISTICA	Forma	Color	Apariencia superficial	Relación ancho/largo	Foto
Almidon grande	Ligeramente falcada	anaranjado pajizo en ambos lados de la vaina	Globosa	9.52cm largo x 1.90cm ancho	
Almidón común	Oblonga	anaranjado pajizo en ambos lados de la vaina	Intermedia	7.99cm largo x 1.96cm ancho	
Verde esmeralda	Oblonga y ligeramente falcada	Cremoso con bordes rojo a un lado de la vaina y en el otro lado es cremoso	Aplanada	7.21cm largo x 1.90cm ancho	
Precoz	Ligeramente falcada	rojo intenso ambos lados de la vaina	Aplanada	9.08cm largo x 2.07cm ancho	
Morocho	Falcada	Rojo intenso en ambos lados de la vaina	Globosa	6.05cm largo x 1.78cm ancho	

Anexo 3: *Operacionalización de variables*

Tabla 7: *Variables*

Variables		Definición de conceptos	Definición de variable	
			Factor a medir	**Indicador**
Variables independientes	Cinco ecotipos de tara	- Es una leguminosa de porte arbustivo natural	- Masa	Gramos
	Solventes	- Es una sustancia que permite la dispersión de otra en su medio	- Concentración de etanol - Concentración de acetona	40 %, 50 %, 60 %
Variables dependientes	Concentración de taninos totales	- Son sustancias químicas	- Concentración	mg/l
	Concentración de taninos hidrolizables	- Determinado por Metodología volumétrico	- Concentración	mg/l
	Concentración de taninos condensados	- Determinado por la Metodología Staisny	- Concentración	mg/l
	Perfil de taninos	- Determinado por HPLC	- Concentración	mg/l

Anexo 4: *Obtención de polvo de vaina de tara*

Se recolectaron 1.8 kg de muestra de tara por cada ecotico (almidón grande, almidón común, precoz, verde esmeralda y morocho) siendo un total de 9 kg, de las cuales solo se utilizó las vainas, seguidamente se almacenó a ºT ambiente de 23ºC en el laboratorio de biotecnología de la EPIA para su posterior análisis para su posterior análisis como se describe en el siguiente flujograma.

Figura 13: *Flujograma de la obtención de polvo de vaina de tara*



Descripción de procedimiento

- **Recepción:** La materia prima se cosechó en el mes de noviembre y se recepcionó por ecotipo en 5 bolsas de polietileno cada uno, luego se almacenó en un lugar fresco y seco a 23ºC. (laboratorio de biotecnología de la EPIA).

- **Selección y pesado:** Se separó la tara con presencia de daños microbiológicos y defectuosos, luego se pesó a fin de determinar la cantidad requerida para la obtención de polvo de tara.

- **Lavado y desinfección:** Se procedió al lavado manual con el propósito de eliminar impurezas tales como piedras, tierras o astillas, con agua potable a 23ºC. La desinfección se realizó en una solución de NaClO a concentración de 200 ppm por 8 minutos en la relación de solución desinfectante y tara de 5:1, posteriormente se realizó el enjuague para eliminar residuos.

- **Desvainado:** En este proceso se separó las semillas de las vainas de la tara *(Caesalpinia Spinosa).*

- **Secado:** El secado se efectuó en una estufa universal modelo UN 110 a 55 ± 1 ºC por 20 horas.

- **Molienda:** Se realizó la molienda con la finalidad de obtener polvo de vaina de tara en partículas finas que facilite el proceso de extracción de tánica.

- **Tamizado:** Se utilizó un tamiz de 60mesh (0.0098 pulg) para obtener polvo de tara con tamaño de partículas homogéneas.

- **Polvo de tara:** Se almacenó las 15 muestras de 200 g cada uno de polvo de vaina de tara en bolsas de polietileno a temperatura ambiente en un ambiente seco y fresco para su posterior análisis.

***Anexo 5**: Elaboración de curva de calibración en base al ácido tánico*

Tabla 8: *Datos para cuantificación de taninos*

Reactivos	Blanco	E1	E2	E3	E4	E5	Muestra
Solución muestra	-	-	-	-	-	-	5ml
Solución estándar ac. Tánico	-	1ml	2ml	3ml	4ml	5ml	
Agua destilada	5ml	4ml	3ml	2ml	1ml	-	
Reactivo para taninos	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml
Se agitó y se dejó en reposo por 5 minutos							
Solución Na_2CO_3 al 20%	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml
Se aforó con agua destilada por 50ml							

Se realizó las lecturas de absorbancia por triplicado a 700nm.

Tabla 9: *Datos para curva de calibración en base al ácido tánico*

Nombre	Concentración de A.T. (mg/ml)	Absorbancia
Estándar 1	0.0506	0.001
Estándar 2	0.0995	0.002
Estándar 3	0.1353	0.003
Estándar 4	0.1896	0.004
Estándar 5	0.2318	0.005

Procedimiento para calcular la solución estándar del ac. tánico.

Peso del estándar (W std): 0.0250g = 25.0mg

$$C\ Std = \frac{W\ Std}{100}\ x\ \frac{20}{100} = 0.05 mg/ml$$

Solución de referencia: Se disolvió 25 mg de ác. tánico en 100 ml de agua destilada, luego se trasladó 20 ml de la misma solución en un vaso precipitado y se aforó a 100 ml.

Cálculos para la elaboración de la curva de calibración:

Concentración del estándar 1 = $\frac{W\ Std}{100}\ x\ \frac{20}{100} x \frac{1}{50} = 0.001 mg/ml$

Concentración del estándar 2 = $\frac{W\ Std}{100}\ x\ \frac{20}{100} x \frac{2}{50} = 0.002 mg/ml$

Concentración del estándar 3 = $\frac{W\ Std}{100}\ x\ \frac{20}{100} x \frac{3}{50} = 0.003 mg/ml$

Concentración del estándar 4 = $\frac{W\ Std}{100}\ x\ \frac{20}{100} x \frac{4}{50} = 0.004 mg/ml$

Concentración del estándar 5 = $\frac{W\ Std}{100}\ x\ \frac{20}{100} x \frac{5}{50} = 0.005 mg/ml$

Anexo 6: *Determinación de absorbancia extraídos con etanol*

Tabla 10: *Datos obtenidos en absorbancia con tres repeticiones para etanol*

Muestras	Replicas	Etanol (%)	Absorbancia	Taninos totales (%)	Desviación estándar
Almidón grande	1		0.1936	24.0759	
Almidón grande	2		0.1939	24.1263	0.0423
Almidón grande	3		0.1941	24.1599	
Almidón común	1		0.1822	22.1606	
Almidón común	2		0.1826	22.2278	0.1305
Almidón común	3		0.1837	22.4126	
Precoz	1		0.1861	22.8159	
Precoz	2	40	0.1867	22.9167	0.0582
Precoz	3		0.1867	22.9167	
Verde esmeralda	1		0.1819	22.1102	
Verde esmeralda	2		0.1799	21.7742	0.1990
Verde esmeralda	3		0.1798	21.7574	
Morocho	1		0.1978	24.7816	
Morocho	2		0.1949	24.2944	0.4061
Morocho	3		0.1997	25.1008	
Almidón grande	1		0.2995	41.8683	
Almidón grande	2		0.2984	41.6835	0.1238
Almidón grande	3		0.2981	41.6331	
Almidón común	1		0.2105	26.9153	
Almidón común	2		0.2082	26.5289	0.1947
Almidón común	3		0.2096	26.7641	
Precoz	1		0.2609	35.3831	
Precoz	2	50	0.2682	36.6095	0.8034
Precoz	3		0.2699	36.8952	
Verde esmeralda	1		0.1992	25.0168	
Verde esmeralda	2		0.1993	25.0336	0.0540
Verde esmeralda	3		0.1998	25.1176	
Morocho	1		0.3107	43.7500	
Morocho	2		0.3111	43.8172	0.1027
Morocho	3		0.3119	43.9516	
Almidón grande	1		0.2704	36.9792	
Almidón grande	2		0.2713	37.1304	0.2402
Almidón grande	3		0.2732	37.4496	
Almidón común	1		0.1943	24.1935	
Almidón común	2		0.1939	24.1263	0.0672
Almidón común	3		0.1935	24.0591	
Precoz	1		0.2368	31.3340	
Precoz	2	60	0.2357	31.1492	0.1683
Precoz	3		0.2348	30.9980	
Verde esmeralda	1		0.1871	22.9839	
Verde esmeralda	2		0.1869	22.9503	0.0699
Verde esmeralda	3		0.1863	22.8495	
Morocho	1		0.3015	42.2043	
Morocho	2		0.3008	42.0867	0.0862
Morocho	3		0.3018	42.2547	

Anexo 7: *Determinación de absorbancia extraídos con acetona*

Tabla 11: *Datos obtenidos en absorbancia con tres repeticiones para acetona*

Muestras	Réplicas	Acetona (%)	Absorbancia	Taninos totales (%)	Desviación estándar
Almidón grande	1		0.2784	38.3233	
Almidón grande	2		0.2823	38.9785	0.33
Almidón grande	3		0.2804	38.6593	
Almidón común	1		0.2494	33.4509	
Almidón común	2		0.2694	36.8112	1.75
Almidón común	3		0.2544	34.2910	
Precoz	1		0.2748	37.7184	
Precoz	2	40	0.2765	38.0040	0.36
Precoz	3		0.2722	37.2816	
Verde esmeralda	1		0.2494	33.4509	
Verde esmeralda	2		0.2593	35.1142	0.85
Verde esmeralda	3		0.2560	34.5598	
Morocho	1		0.2987	41.7339	
Morocho	2		0.2888	40.0706	0.83
Morocho	3		0.2932	40.8098	
Almidón grande	1		0.3066	43.0612	
Almidón grande	2		0.3064	43.0276	0.03
Almidón grande	3		0.3067	43.0780	
Almidón común	1		0.2767	38.0376	
Almidón común	2		0.2797	38.5417	0.80
Almidón común	3		0.2860	39.6001	
Precoz	1		0.2972	41.4819	
Precoz	2	50	0.2970	41.4483	1.10
Precoz	3		0.3084	43.3636	
Verde esmeralda	1		0.2735	37.5000	
Verde esmeralda	2		0.2697	36.8616	0.45
Verde esmeralda	3		0.2684	36.6431	
Morocho	1		0.3256	46.2534	
Morocho	2		0.3244	46.0517	0.57
Morocho	3		0.3192	45.1781	
Almidón grande	1		0.3364	48.0679	
Almidón grande	2		0.3304	47.0598	0.77
Almidón grande	3		0.3394	48.5719	
Almidón común	1		0.3085	43.3804	
Almidón común	2		0.3028	42.4227	0.81
Almidón común	3		0.3124	44.0356	
Precoz	1		0.3116	43.9012	
Precoz	2	60	0.3297	46.9422	1.68
Precoz	3		0.3279	46.6398	
Verde esmeralda	1		0.3039	42.6075	
Verde esmeralda	2		0.3010	42.1203	0.48
Verde esmeralda	3		0.2982	41.6499	
Morocho	1		0.3406	48.7735	
Morocho	2		0.3429	49.1599	0.21
Morocho	3		0.3410	48.8407	

Anexo 8: *Determinación de taninos totales en base al ácido tánico*

Dilución de la muestra

Wm…….500

4…….50

4……50

5……...50

Ecuación de la recta

y = 46.5x + 0.0503

Donde:

Y: absorbancia

X: Concentración de taninos (mg/ml)

Cálculo del porcentaje de taninos en la muestra

Muestra 1: Ecotipo de polvo de tara almidón grande al 40%

$$\mathbf{X = \frac{Y - 0.0503}{46.5}} = \frac{0.1939 - 0.0503}{46.5} = 0.003088 \text{mg/ml}$$

0.003088mg----------1ml
x----------50ml x = 0.154409mg

0.154409mg----------5ml
x----------50ml x = 1.544086mg

1.544086mg----------4ml
x----------50ml x = 19.301075mg

19.301075mg----------4ml
x----------500ml x = 2412.634409mg

$$x = \frac{1g}{1000mg} = \mathbf{2.412634}$$

Tabla 12: *Datos obtenidos para determinar porcentaje de T.T. extraídos con etanol EAT*

Muestras	Etanol (%)	Promedio Absorbancia	Concentración tánica (mg/ml)	Dilución 1 y 50 (mg/ml)	Dilución 5 y 50 (mg/ml)	Dilución 4 y 50 (mg/ml)	Dilución 4 y 500 (mg/ml)	Taninos en 10g	Taninos totales %
Almidón grande		0.1939	0.003087	0.154373	1.543728	19.296595	2412.074373	2.412074	24.1207
Almidón común		0.1828	0.002850	0.142509	1.425090	17.813620	2226.702509	2.226703	22.2670
Precoz	40	0.1865	0.002929	0.146452	1.464516	18.306452	2288.306452	2.288306	22.8831
Verde esmeralda		0.1805	0.002801	0.140036	1.400358	17.504480	2188.060036	2.188060	21.8806
Morocho		0.1975	0.003165	0.158244	1.582437	19.780466	2472.558244	2.472558	24.7256
Almidón grande		0.2987	0.005341	0.267061	2.670609	33.382616	4172.827061	4.172827	41.7283
Almidón común		0.2094	0.003422	0.171111	1.711111	21.388889	2673.611111	2.673611	26.7361
Precoz	50	0.2663	0.004646	0.232294	2.322939	29.036738	3629.592294	3.629592	36.2959
Verde esmeralda		0.1994	0.003207	0.160358	1.603584	20.044803	2505.600358	2.505600	25.0560
Morocho		0.3112	0.005611	0.280573	2.805735	35.071685	4383.960573	4.383961	43.8396
Almidón grande		0.2716	0.004760	0.237993	2.379928	29.749104	3718.637993	3.718638	37.1864
Almidón común		0.1939	0.003088	0.154409	1.544086	19.301075	2412.634409	2.412634	24.1263
Precoz	60	0.2358	0.003989	0.199427	1.994265	24.928315	3116.039427	3.116039	31.1604
Verde esmeralda		0.1868	0.002935	0.146738	1.467384	18.342294	2292.786738	2.292787	22.9279
Morocho		0.3014	0.005399	0.269964	2.699642	33.745520	4218.189964	4.218190	42.1819

Tabla 13: *Datos obtenidos para determinar porcentaje de T.T. extraídos con acetona EAT*

Muestras	Acetona (%)	Promedio absorbancia	Concentración tánica (mg/ml)	Dilución 1 y 50 (mg/ml)	Dilución 5 y 50 (mg/ml)	Dilución 4 y 50 (mg/ml)	Dilución 4 y 500 (mg/ml)	Taninos en 10g	Taninos totales %
Almidón grande		0.2804	0.004948	0.247384	2.473835	30.922939	3865.367384	3.865367	38.6537
Almidón común		0.2577	0.004461	0.223047	2.230466	27.880824	3485.103047	3.485103	34.8510
Precoz	40	0.2745	0.004822	0.241075	2.410753	30.134409	3766.801075	3.766801	37.6680
Verde esmeralda		0.2549	0.004400	0.220000	2.200000	27.500000	3437.500000	3.437500	34.3750
Morocho		0.2936	0.005232	0.261577	2.615771	32.697133	4087.141577	4.087142	40.8714
Almidón grande		0.3066	0.005511	0.275556	2.755556	34.444444	4305.555556	4.305556	43.0556
Almidón común		0.2808	0.004957	0.247849	2.478495	30.981183	3872.647849	3.872648	38.7265
Precoz	50	0.3009	0.005389	0.269427	2.694265	33.678315	4209.789427	4.209789	42.0979
Verde esmeralda		0.2705	0.004736	0.236810	2.368100	29.601254	3700.156810	3.700157	37.0016
Morocho		0.3231	0.005866	0.293297	2.932975	36.662186	4582.773297	4.582773	45.8277
Almidón grande		0.3354	0.006131	0.306559	3.065591	38.319892	4789.986559	4.789987	47.8999
Almidón común		0.3079	0.005540	0.276989	2.769892	34.623656	4327.956989	4.327957	43.2796
Precoz	60	0.3231	0.005866	0.293297	2.932975	36.662186	4582.773297	4.582773	45.8277
Verde esmeralda		0.3010	0.005392	0.269606	2.696057	33.700717	4212.589606	4.212590	42.1259
Morocho		0.3415	0.006262	0.313118	3.131183	39.139785	4892.473118	4.892473	48.9247

Anexo 9: *Análisis de varianza para taninos totales*

Tabla 14: *Cuadro de ANOVA para taninos totales*

Fuente	SC	GL	CM	Razón F	Valor P
FACTORES					
A: Ecotopo	1456.85	4	364.21	878.07	<0.0001
B: Solvente	3030.07	1	3030.07	7305.12	<0.0001
C: Nivel de solvente	1306.9	2	653.45	1575.38	<0.0001
INTERACCIONES					
AB	162.08	4	40.52	97.69	<0.0001
AC	245.27	8	30.66	73.91	<0.0001
BC	280.58	2	140.29	338.22	<0.0001
ABC	189.67	8	23.71	57.16	<0.0001
Error	24.89	60	0.41		
Total	6696.29	89			

Tabla 15: *Prueba comparativa tukey alfa=0.05 DMS para interacción factor A*B*

Ecotipo	Solvente	Medias	n	E.E.								
Morocho	Acetona	45.21	9	0.21	A							
Almidón grande	Acetona	43.2	9	0.21		B						
Precoz	Acetona	41.86	9	0.21			C					
Almidón común	Acetona	38.95	9	0.21				D				
Verde esmeralda	Acetona	37.83	9	0.21					E			
Morocho	Etanol	36.92	9	0.21					E			
Almidón grande	Etanol	34.35	9	0.21						F		
Precoz	Etanol	30.11	9	0.21							G	
Almidón común	Etanol	24.38	9	0.21								H
Verde esmeralda	Etanol	23.29	9	0.21								I

Tabla 16: *Prueba comparativa tukey alfa=0.05 DMS para interacción factor A*C*

Ecotipo	Nivel de solvente (%)	Medias	n	E.E.							
Morocho	60	45.55	6	0.26	A						
Morocho	50	44.83	6	0.26	A						
Almidón grande	60	42.54	6	0.26		B					
Almidón grande	50	42.39	6	0.26		B					
Precoz	50	39.2	6	0.26			C				
Precoz	60	38.49	6	0.26			C				
Almidón común	60	33.7	6	0.26				D			
Morocho	40	32.8	6	0.26				D			
Almidón común	50	32.73	6	0.26				D			
Verde esmeralda	60	32.53	6	0.26				D	E		
Almidón grande	40	31.39	6	0.26					E	F	
Verde esmeralda	50	31.03	6	0.26						F	
Precoz	40	30.28	6	0.26						F	
Almidón común	40	28.56	6	0.26							G
Verde esmeralda	40	28.13	6	0.26							G

Tabla 17: *Prueba comparativa tukey alfa=0.05 DMS para interacción factor B* C*

Solvente	Nivel de solvente (%)	Medias	n	E.E.					
Acetona	60	45.61	15	0.17	A				
Acetona	50	41.34	15	0.17		B			
Acetona	40	37.28	15	0.17			C		
Etanol	50	34.73	15	0.17				D	
Etanol	60	31.52	15	0.17					E
Etanol	40	23.18	15	0.17					F

Tabla 18: *Prueba comparativa tukey alfa=0.05 DMS para interacción factor A*B* C*

Ecotipo	Solvente	Concentración (%)	Medias	n	E.E.														
Morocho	Acetona	60	48.93	3	0.37	A													
Almidón grande	Acetona	60	47.9	3	0.37	A													
Morocho	Acetona	50	45.83	3	0.37		B												
Precoz	Acetona	60	45.83	3	0.37		B												
Morocho	Etanol	50	43.84	3	0.37		B	C											
Almidón común	Acetona	60	43.28	3	0.37			C	D										
Almidón grande	Acetona	50	43.06	3	0.37			C	D										
Morocho	Etanol	60	42.18	3	0.37			C	D	E									
Verde esmeralda	Acetona	60	42.13	3	0.37			C	D	E									
Precoz	Acetona	50	42.1	3	0.37			C	D	E									
Almidón grande	Etanol	50	41.73	3	0.37					D	E								
Morocho	Acetona	40	40.87	3	0.37						E								
Almidón común	Acetona	50	38.73	3	0.37							F							
Almidón grande	Acetona	40	38.65	3	0.37							F							
Precoz	Acetona	40	37.67	3	0.37							F	G						
Almidón grande	Etanol	60	37.19	3	0.37							F	G						
Verde esmeralda	Acetona	50	37	3	0.37							F	G						
Precoz	Etanol	50	36.3	3	0.37								G	H					
Almidón común	Acetona	40	34.85	3	0.37									H					
Verde esmeralda	Acetona	40	34.38	3	0.37									H					
Precoz	Etanol	60	31.16	3	0.37										I				
Almidón común	Etanol	50	26.74	3	0.37											J			
Verde esmeralda	Etanol	50	25.06	3	0.37											J	K		
Morocho	Etanol	40	24.73	3	0.37											J	K	L	
Almidón común	Etanol	60	24.13	3	0.37												K	L	M
Almidón grande	Etanol	40	24.12	3	0.37												K	L	M
Verde esmeralda	Etanol	60	22.93	3	0.37													L	M N
Precoz	Etanol	40	22.88	3	0.37													L	M N
Almidón común	Etanol	40	22.27	3	0.37														M N
Verde esmeralda	Etanol	40	21.88	3	0.37														N

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

Anexo 10: *Determinación de taninos hidrolizables por el método volumétrico EAT.*

Se calculó de porcentaje de taninos en el extracto del polvo de vaina para determinar taninos hidrolizables, considerando la concentración del nivel que obtuvo mayor contenido de taninos totales.

$$\%\text{Taninos en el extracto} = \left(\frac{((ml)KMnO4-(ml)Blanco)*\frac{4.2mg}{mlKMnO4}*(2e)}{mg\ extracto\ obtenido}\right)*100 \quad \textit{(ec.1)}$$

Donde:

ml $KMnO_4$ = mililitros de permanganato de potasio gastados en titulación de extracto.

ml $KMnO_4$ = mililitros de permanganato de potasio gastados en titulación blanco.

$$\%\text{Taninos en el extracto} = \left(\frac{(8.9ml-1.8ml)*4.2*2}{182.5mg}\right)*100$$

% Taninos en el extracto = 32.6795%

Tabla 19: *Datos obtenidos para determinar T.H. extraídos con etanol*

Muestras	Etanol (%)	T.T. %	Réplicas	Gasto KMnO4 (ml)	Extracto seco obtenido (g)	T.H. (%)	Promedio
Almidón grande	50	41.73	1	8.9	0.1825	32.6795	32.87 ± 0.67
			2	8.7	0.1793	32.3257	
			3	8.6	0.1699	33.6198	
Almidón común		26.74	1	6.2	0.1761	20.9881	18.98 ± 2.39
			2	5.8	0.1712	19.6262	
			3	5.1	0.1697	16.3347	
Precoz		36.30	1	6.9	0.1516	28.2586	26.39 ± 1.78
			2	6.4	0.1474	26.2144	
			3	6.1	0.1462	24.7059	
Verde esmeralda		25.06	1	5.4	0.1564	19.3350	18.85 ± 0.95
			2	5.1	0.1425	19.4526	
			3	4.8	0.1419	17.7590	
Morocho		43.84	1	9.1	0.1851	33.1280	31.64 ± 2.87
			2	8.9	0.1783	33.4492	
			3	7.8	0.1779	28.3305	

Tabla 20: *Datos obtenidos para determinar T.H. extraídos con acetona*

Muestras	Acetona (%)	T.T. (%)	Replicas	Gasto $KMnO_4$ (ml)	Extracto seco obtenido (g)	T.H. (%)	Promedio
Almidón grande	60	47.90	1	9.5	0.1776	36.4189	35.52 ± 0.87
			2	9.1	0.1729	35.4655	
			3	8.8	0.1695	34.6902	
Almidón común		43.28	1	8.2	0.1652	32.5423	32.32 ± 0.59
			2	7.3	0.1460	31.6525	
			3	7.1	0.1359	32.7593	
Precoz		45.83	1	8.1	0.1564	33.8363	33.12 ± 0.67
			2	7.9	0.1551	33.0367	
			3	7.6	0.1499	32.5016	
Verde esmeralda		42.13	1	8.2	0.1689	31.8294	31.12 ± 0.92
			2	7.8	0.1603	31.4410	
			3	7.5	0.1592	30.0753	
Morocho		48.92	1	9.7	0.1800	36.8666	36.51 ± 0.46
			2	9.6	0.1786	36.6853	
			3	9.4	0.1774	35.9864	

Tabla 21: *Cuadro de ANOVA para taninos hidrolizables*

Fuente	SC	GL	CM	Razón-F	p-valor
FACTORES					
Ecotipos	468.4	4	117.1	55.51	<0.0001
Solvente	476.73	1	476.73	226	<0.0001
INTERACCIÓN					
A*B	129.91	4	32.48	15.4	<0.0001
Error	42.19	20	2.11		
Total	1117.23	29			

Tabla 22: *Prueba comparativa tukey alfa = 0.05 DMS para factor A*

Ecotipos	Medias	n	E.E.			
Almidón grande	34.2	6	0.59	A		
Morocho	34.08	6	0.59	A		
Precoz	29.76	6	0.59		B	
Almidón común	25.65	6	0.59			C
Verde esmeralda	24.98	6	0.59			C

Tabla 23: *Prueba comparativa tukey alfa = 0.05 DMS para factor B*

Solvente	Medias	n	E.E.		
Acetona	33.72	15	0.38	A	
Etanol	25.75	15	0.38		B

Tabla 24: *Prueba comparativa tukey alfa = 0.05 DMS para factor A*B*

Ecotipos	Solvente	Medias	n	E.E.					
Morocho	Acetona	36.52	3	0.84	A				
Almidón grande	Acetona	35.53	3	0.84	A	B			
Precoz	Acetona	33.13	3	0.84	A	B	C		
Almidón grande	Etanol	32.88	3	0.84	A	B	C		
Almidón común	Acetona	32.32	3	0.84		B	C		
Morocho	Etanol	31.64	3	0.84		B	C		
Verde esmeralda	Acetona	31.12	3	0.84			C		
Precoz	Etanol	26.39	3	0.84				D	
Almidón común	Etanol	18.98	3	0.84					E
Verde esmeralda	Etanol	18.85	3	0.84					E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Anexo 11: *Determinación* de *Taninos Condensados por el método Stiasny*

Se calculó de porcentaje de taninos en el extracto del polvo de vaina para determinar taninos condensados, considerando la concentración del nivel que obtuvo mayor contenido de taninos totales.

% Taninos en el extracto = NS = $\frac{(PP)}{(PH)} * 100$

% Taninos en el extracto = NS = $\frac{(79.2mg)}{(1000mg)} * 100 = 7.92\%$

Tabla 25: *Datos obtenidos para determinar taninos condensados con etanol*

Muestras	Etanol (%)	T.T. %	Replicas	Extracto seco obtenido (g)	T.C. (%)	Promedio
Almidón grande	50	41.73	1	0.0792	7.92	7.53 ± 0.36
			2	0.0743	7.43	
			3	0.0712	7.23	
Almidón común		26.74	1	0.0461	4.61	4.26 ± 0.31
			2	0.0414	4.14	
			3	0.0413	4.02	
Precoz		36.30	1	0.0695	6.95	6.14 ± 0.7
			2	0.0581	5.81	
			3	0.0571	5.67	
Verde esmeralda		25.06	1	0.0370	3.70	3.36 ± 0.31
			2	0.0328	3.28	
			3	0.0319	3.09	
Morocho		43.84	1	0.0815	8.15	7.86 ± 0.26
			2	0.0763	7.63	
			3	0.0752	7.81	

Tabla 26: *Datos obtenidos para determinar T.C. extraídos con acetona*

Muestras	Acetona (%)	T.T. %	Replicas	Extracto seco obtenido (g)	T.C. (%)	Promedio
Almidón grande	60	47.90	1	0.1021	10.21	10.21 ± 1.59
			2	0.0984	9.84	
			3	0.0729	7.29	
Almidón común		43.28	1	0.0912	9.12	9.12 ± 0.87
			2	0.0893	8.93	
			3	0.0752	7.52	
Precoz		45.83	1	0.0995	9.95	9.95 ± 0.95
			2	0.0937	9.37	
			3	0.0809	8.09	
Verde esmeralda		42.13	1	0.0852	8.52	8.52 ± 0.86
			2	0.0797	7.97	
			3	0.0684	6.84	
Morocho		48.92	1	0.0946	9.46	9.46 ± 0.36
			2	0.0909	9.09	
			3	0.0874	8.74	

Tabla 27: *Cuadro de ANOVA para taninos condensados*

Fuente	SC	GL	CM	Razón-F	p-valor
FACTORES					
A; Ecotipos	38.27	4	9.57	16.1	<0.0001
B: Solvente	63.08	1	63.08	106.11	<0.0001
INTERACCIÓN					
A*B	13.03	4	3.26	5.48	0.0038
Error	11.89	20	0.59		
Total	126.27	29			

Tabla 28: *Prueba comparativa tukey alfa = 0.05 DMS para factor A*

Ecotipos	Medias	n	E.E.			
Morocho	8.48	6	0.31	A		
Almidón grande	8.32	6	0.31	A		
Precoz	7.64	6	0.31	A	B	
Almidón común	6.39	6	0.31		B	C
Verde esmeralda	5.57	6	0.31			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

Tabla 29: *Prueba comparativa tukey alfa = 0.05 DMS para factor B*

Solvente	Medias	n	E.E.		
Acetona	8.73	15	0.2	A	
Etanol	5.83	15	0.2		B

Tabla 30: *Prueba comparativa tukey alfa = 0.05 DMS para factor *A*B*

Ecotipos	Solvente	Medias	n	E.E.				
Precoz	Acetona	9.14	3	0.45	A			
Almidón grande	Acetona	9.11	3	0.45	A			
Morocho	Acetona	9.1	3	0.45	A			
Almidón común	Acetona	8.52	3	0.45	A			
Morocho	Etanol	7.86	3	0.45	A	B		
Verde esmeralda	Acetona	7.78	3	0.45	A	B		
Almidón grande	Etanol	7.53	3	0.45	A	B		
Precoz	Etanol	6.14	3	0.45		B	C	
Almidón común	Etanol	4.26	3	0.45			C	D
Verde esmeralda	Etanol	3.36	3	0.45				D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

"UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA"

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

FORMATO DE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL UNAM

Formulario de autorización para la publicación electrónica en la página web del Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Moquegua, de conformidad con la Ley N° 30035 Ley que regula el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto y Resolución de Comisión Organizadora N° 041-2022-UNAM que aprueba el Reglamento que regula el Repositorio Institucional Digital de la UNAM.

1. DATOS DEL AUTOR

Nombres y Apellidos : KATHERINE FLORES MANZANO
DNI/Carnet de Extranjería/Pasaporte N° : 46619855
Correo electrónico : KATHERINFLORES319@GMAIL.COM
Teléfono/Celular : 930855506

2. GRADO, TITULO O ESPECIALIZACIÓN (Marque con una X)

Bachiller	Título Profesional	Magister	Doctor	Segunda Especialidad
	x			

3. TIPO DE PUBLICACIÓN (Marque con una X)

a) Articulo ( )
b) Tesis de pregrado (X)
c) Tesis de Maestría ( )
d) Tesis de Doctorado ( )
e) Monografía ( )
f) Reporte de caso científico o hallazgos ( )
g) Libro ( )
h) Parte de un libro ( )
i) Revisión ( )
j) Conferencia ( )
k) Presentación ( )
l) Artículo preliminar ( )
m) Articulo antes de ser publicado ( )
n) Artículo de prensa ( )
o) Documentos internos ( )
p) Imagen ( )
q) Documentos técnicos ( )
r) Ponencias presentadas en eventos científicos (Jornada, Congreso, Simposio Conferencias, etc.) ( )
s) Informes de suficiencia profesional ( )
t) Patentes producidas por académicos/as ( )

4. TIPO DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN (Marque con una X)

a) Tesis **(X)**
b) Trabajo de Investigación **( )**
c) Trabajo de suficiencia profesional **( )**
d) Trabajo académico **( )**

5. DATOS DE LA PUBLICACION

a) Título: EVALUACIÓN DE CONTENIDO DE TANINOS DE CINCO ECOTIPOS DE TARA *(Caesalpinia spinosa)*

b) Campo del conocimiento OCDE (Indicar el código de clasificación OCDE de la obra : https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde_ford.html) : .....

c) Fecha de publicación : .....

6. DATOS DEL ASESOR:

a) Nombres y Apellidos : .....RENE GERMAN SOSA VILCA.....

b) DNI/Pasaporte/Cédula : ...01310659.....

c) ORCID : .....

FIRMA : .....

DOCUMENTO DE IDENTIDAD : 46619855.....

NOMBRES Y APELLIDOS : KATHERINE FLORES MANZANO.....

"UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA"

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

LICENCIAS

Licencia Estándar

Bajo los siguientes términos, autorizo el depósito de mi trabajo de investigación en el Repositorio Institucional Digital de la UNAM.

Con la autorización de depósito da mi trabajo de investigación, otorgo a la Universidad Nacional de Moquegua, una Licencia No Exclusiva para reproducir. distribuir, comunicar al público, transformar (únicamente mediante su traducción a otros idiomas) y poner a disposición del público mi trabajo de investigación (incluido el resumen), en formato físico o digital, en cualquier medio, conocido o por conocerse, a través de los diversos servicios provistos por la Universidad, creados o por crearse, tales como el Repositorio Institucional Digital de la UNAM, Colección de Tesis, entre otros, en el Perú y en el extranjero, por el tiempo y veces que considere necesarias, y libre de remuneraciones.

En virtud de dicha Licencia, la UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA, podrá reproducir mi trabajo de investigación en cualquier tipo de soporte y en más de un ejemplar, sin modificar su contenido, solo con los propósitos de seguridad, respaldo y preservación.

Declaro que el trabajo de investigación es una creación de mi autoría y exclusiva titularidad, o coautoría con titularidad compartida, y me encuentro facultado a conceder la presente licencia y, asimismo, garantizo que dicho trabajo de investigación no infringe derechos de autor de terceras personas.

La UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA consignara el nombre del/los autor/es del trabajo de investigación, y no le hará ninguna modificación más de la permitida en la presente licencia.

Autorizo el depósito (marque con una X).

(_X_) **SI autorizo que se deposite inmediatamente.**

FIRMA : .....

DOCUMENTO DE IDENTIDAD : 46619855

NOMBRES Y APELLIDOS : KATHERINE FLORES MANZANO

FECHA : 19 DE SETIEMBRE DEL 2022

