

**DESARROLLO DE UN PROCESO A ESCALA LABORATORIO PARA LA
OBTENCIÓN DE PECTINA Y TANINOS A PARTIR DE LA ALGARROBA
(HYMENAEA COURBARIL-L), PARA SER UTILIZADOS EN LA INDUSTRIA
ALIMENTICIA Y LA DEL CUERO, RESPECTIVAMENTE**

ERIKA MARÍA ÁLVAREZ RAMÍREZ

ASESOR

GUILLERMO LEÓN PALACIO G.

Ph.D. en Química

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE PROCESOS

ESCUELA DE INGENIERÍA

UNIVERSIDAD EAFIT

MEDELLÍN

2007

1

**DESARROLLO DE UN PROCESO A ESCALA LABORATORIO PARA LA
OBTENCIÓN DE PECTINA Y TANINOS A PARTIR DE LA ALGARROBA
(HYMENAEA COURBARIL-L), PARA SER UTILIZADOS EN LA INDUSTRIA
ALIMENTICIA Y LA DEL CUERO, RESPECTIVAMENTE**

ERIKA MARÍA ÁLVAREZ RAMÍREZ

**Trabajo de grado para optar al título de
Ingeniero de Procesos**

**ASESOR
GUILLERMO LEÓN PALACIO G.
Ph.D. en Química**

**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE PROCESOS
ESCUELA DE INGENIERÍA
UNIVERSIDAD EAFIT
MEDELLÍN
2007**

Nota de Aceptación

Firma Presidente del jurado

Firma del Jurado

Firma del Jurado

Ciudad y Fecha (día, mes, año)

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mis agradecimientos a todas aquellas personas que de una u otra forma colaboraron con el desarrollo de éste trabajo de investigación:

A Mis padres, Jorge Enrique Álvarez Gaviria y a mi madre Dora Olivia Ramírez Zuluaga, que siempre han estado a mi lado apoyándome en todo lo que he necesitado, a ellos gracias por su guía y compañía durante todos estos años.

A Guillermo León Palacio, Ph.D. en Química, profesor Universidad EAFIT por su guía y ayuda constante en este proyecto de investigación.

A Elizabeth Ocampo, Luisa Fernanda Sierra y Diter Borja, por su apoyo en todo éste proceso.

A Jhon Jairo Estrada, Edgar Arbelaez y Sigifredo Cárdenas, personal de los laboratorios de Ingeniería de Procesos, que con su constante colaboración hicieron más agradable los ensayos y prácticas realizadas en las instalaciones.

Y sobre todo le doy gracias a Dios por haberme permitido culminar una etapa más de mi vida acompañada por personas tan valiosas como las mencionadas anteriormente.

A todos muchísimas gracias.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	14
INTRODUCCIÓN	16
1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACION DEL PROBLEMA	17
2. OBJETIVOS	20
2.1. Objetivo general	20
2.2. Objetivos específicos	20
3. MARCO TEÓRICO	21
3.1. La Hymenaea Courbaril	21
3.1.1. <i>El árbol</i>	21
3.1.2. <i>El tronco</i>	22
3.1.2.1. <i>La madera</i>	22
3.1.2.2. <i>La resina</i>	23
3.1.3. <i>Las hojas</i>	24
3.1.4. <i>El fruto</i>	24
3.1.4.1. <i>La pulpa</i>	25
3.1.4.2. <i>Las semillas</i>	26
3.1.4.3. <i>La vaina exterior</i>	26
3.2. Pectina.....	26
3.2.1. <i>Descripción</i>	26
3.2.2. <i>Características</i>	28
3.2.2.1. <i>Solubilidad</i>	28
3.2.2.2. <i>pH</i>	28
3.2.2.3. <i>Color</i>	28
3.2.3. <i>Propiedades</i>	29
3.2.3.1. <i>Capacidad de formar geles</i>	29
3.2.3.2. <i>Viscosidad</i>	29

3.2.3.3.	<i>Peso molecular</i>	29
3.2.3.4.	<i>Grado de esterificación (metoxilación)</i>	30
3.2.4.	<i>Historia</i>	32
3.2.5.	<i>Antecedentes</i>	32
3.2.6.	<i>Usos de la pectina en la industria alimenticia</i>	33
3.3.	<i>Taninos</i>	34
3.3.1.	<i>Descripción</i>	34
3.3.2.	<i>Características</i>	35
3.3.3.	<i>Tipos de taninos</i>	36
3.3.3.1.	<i>Taninos hidrolizables o pirogálicos</i>	36
3.3.3.2.	<i>Taninos Condensados</i>	38
3.3.4.	<i>Uso de los taninos en la industria del cuero</i>	41
3.3.4.1.	<i>Curtido vegetal</i>	41
4.	<i>MERCADO</i>	43
4.1.	<i>Mercado de la pectina</i>	43
4.2.	<i>Mercado de los taninos</i>	49
5.	<i>METODOLOGÍA</i>	57
5.1.	<i>Metodología para la obtención de Pectina</i>	57
5.1.1.	<i>Equipos utilizados</i>	57
5.1.2.	<i>Materiales utilizados</i>	58
5.1.3.	<i>Procedimiento General</i>	59
5.1.3.1.	<i>Descripción general del proceso</i>	60
5.1.3.2.	<i>Caracterización de la pectina</i>	61
5.1.3.2.1.	<i>Espectroscopía</i>	62
5.1.3.2.1.1.	<i>Espectroscopía infrarroja (IR)</i>	62
5.1.3.2.2.	<i>Procedimiento para hallar el Grado de metoxilación (DM)</i> ...	66
5.1.4.	<i>Ensayos preliminares</i>	67
5.1.5.	<i>Diseño de experimentos</i>	68
5.1.5.1.	<i>Tabla ANOVA</i>	71

5.1.5.2.	<i>Tabla de los grupos homogéneos</i>	73
5.1.6.	<i>Ensayo definitivo</i>	76
5.1.6.1.	<i>Caracterización de la pectina obtenida</i>	80
5.1.6.1.1.	<i>Espectro Infrarrojo</i>	80
5.1.6.1.2.	<i>Grado de metoxilación de la pectina obtenida</i>	85
5.1.7.	<i>Rendimiento de la pectina obtenida</i>	86
5.1.8.	<i>Balance de materia</i>	88
5.2.	<i>Metodología para la obtención de Taninos</i>	89
5.2.1.	<i>Equipos utilizados</i>	89
5.2.2.	<i>Materia prima utilizada</i>	90
5.2.3.	<i>Procedimiento</i>	92
5.2.3.1.	<i>Descripción del proceso</i>	92
5.2.3.2.	<i>Reacciones de reconocimiento de taninos</i>	95
5.2.3.3.	<i>Espectroscopia Infrarroja</i>	97
5.2.3.4.	<i>Espectroscopia Ultravioleta visible (UV)</i>	102
6.	<i>BALANCE PRELIMINAR ECONÓMICO</i>	107
6.1.	<i>Costo de equipos</i>	107
6.2.	<i>Costos de materia prima</i>	108
6.3.	<i>Costos de mano de obra</i>	109
6.4.	<i>Costos de servicios industriales involucrados</i>	110
	<i>CONCLUSIONES</i>	112
	<i>RECOMENDACIONES</i>	114
	<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	115

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación de la pectina HM según el grado de gelificación.	31
Tabla 2: Importaciones de pectinas realizadas en los años 2004, 2005 y 2006. ...	44
Tabla 3: Empresas con mayor cantidad de pectina importada en los últimos tres años.	46
Tabla 4: Exportaciones de taninos realizadas en los años 2004, 2005 y 2006.	50
Tabla 5: Importaciones Colombianas de taninos en los años 2004, 2005 y 2006.	51
Tabla 6: Precios del ácido tánico y la Catequina.....	56
Tabla 7: Equipos usados en la obtención de pectina.	58
Tabla 8: Materia prima usada en la obtención de pectina.	58
Tabla 9: Picos y longitudes de onda característicos en el espectro infrarrojo de la pectina.....	64
Tabla 10: Ensayos preliminares y condiciones de operación.....	68
Tabla 11: Elementos del diseño de experimentos realizado.	69
Tabla 12: Datos ingresados en el software STATGRAPHICS Plus 5.0.	70
Tabla 13: ANOVA obtenida del diseño de experimentos.	71
Tabla 14: Tabla de grupos homogéneos de cada uno de los factores analizados en el diseño de experimentos, utilizando el método de Tukey HSD.	73
Tabla 15: Comparación de la relación %Ta / %Te de la pectina obtenida con la pectina comercial.	83
Tabla 16: Resultados obtenidos por método de Schultz.	85
Tabla 17: Prueba de Schultz realizada a la pectina comercial.	85
Tabla 18: Rendimiento de la pectina obtenida en los tratamientos del diseño de experimentos.....	87
Tabla 19: Equipos utilizados en la obtención de taninos a partir de la Algarroba.	90
Tabla 20: Materia prima usada en la obtención de taninos.	91
Tabla 21: Pruebas colorimétricas para Taninos.	96
Tabla 22: Costo de los equipos.	107

Tabla 23: Costos de materia prima	108
Tabla 24: Costos de la mano de obra	110
Tabla 25: Costos de energía eléctrica.....	111

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Área de distribución natural del Algarrobo, <i>Hymenaea Courbaril</i> , en la América tropical.	21
Figura 2: Tronco, madera y resina del <i>Hymenaea Courbaril</i>	23
Figura 3: Forma de las hojas del <i>Hymenaea Courbaril</i>	24
Figura 4: Estructura del fruto del <i>Hymenaea courbaril</i>	25
Figura 5: Estructura molecular de la pectina.	27
Figura 6: Pectina de alto Metoxilo.	30
Figura 7: Pectina de bajo Metoxilo.	30
Figura 8: Estructuras del ácido gálico y el ácido elágico.	37
Figura 9: Estructura del ácido tánico.	38
Figura 10: Estructuras características de los taninos condensados.....	39
Figura 11: Estructura general de un tanino condensado.....	41
Figura 12: Diagrama de Bloques del Curtido vegetal.	42
Figura 13: Países de los cuales Colombia importó pectina en el año 2004.	46
Figura 14: Países de los cuales Colombia importó pectina en el año 2005.	47
Figura 15: Países de los cuales Colombia importó pectina en el año 2006.	47
Figura 16: Cantidad total de pectina importada por Colombia en los últimos tres años.	48
Figura 17: Importaciones de taninos realizadas por Colombia en el año 2004.	53
Figura 18: Importaciones de taninos realizadas por Colombia en el año 2005.	53
Figura 19: Importaciones de taninos realizadas por Colombia en el año 2006.	54
Figura 20: Importaciones de taninos realizadas por Colombia en los últimos tres años.	55
Figura 21: Diagrama BFD de la producción de pectina a partir de la Algarroba. ...	60
Figura 22: Espectro infrarrojo de la pectina “Rapid set” estándar.	63
Figura 23: Espectro infrarrojo de la pectina “Slow set”.....	63

Figura 24: Espectro infrarrojo de la pulpa sin ningún tratamiento.	65
Figura 25: Diagrama de de bigotes para cada uno de los factores analizados en el diseño de experimentos.	75
Figura 26: Enfriamiento superficial después de la hidrólisis.....	77
Figura 27: Primer proceso de separación (Centrifugación 1).....	78
Figura 28: Precipitación de la pectina con etanol.....	78
Figura 29: Segundo proceso de separación (Centrifugación 2).	79
Figura 30: Pectina húmeda después del proceso de centrifugación.....	79
Figura 31: Pectina seca de la Algarroba.	80
Figura 32: Espectro infrarrojo de la pectina obtenida a condiciones de 100 ml de solución, 2 ml de ácido muriático y 1 min de hidrólisis.	81
Figura 33: Primera réplica del Experimento definitivo.	82
Figura 34: Segunda replica del Experimento definitivo.	83
Figura 35: Comparación de espectros IR entre la pectina “Rapid set” y la pectina obtenida.	84
Figura 36: Espectro infrarrojo para el tratamiento con mayor rendimiento de pectina.....	88
Figura 37: Balance de materia para el proceso de pectina a partir de la Algarroba.	89
Figura 38: Diagrama de bloques general de la obtención de Taninos.	92
Figura 39: Tamaño de partícula de la semilla y de la vaina exterior aptas para ser trabajadas.	93
Figura 40. Lavado con etanol de la semilla y la vaina exterior de la Algarroba.....	94
Figura 41: Proceso de centrifugación al lavado con etanol de las semillas y la vaina de la Algarroba.	94
Figura 42: Producto extraído de la semilla y de la vaina exterior.	95
Figura 43: Pruebas colorimétricas al producto obtenido de las semillas y la vaina exterior.	96
Figura 44: Espectro infrarrojo del ácido tánico.....	97

Figura 45: Espectro infrarrojo del ácido gálico.	98
Figura 46: Espectro infrarrojo del ácido pirogálico.	98
Figura 47: Espectro infrarrojo del Pirogalol.	99
Figura 48: Espectro infrarrojo de la (-) Epicatequina.	99
Figura 49: Espectro IR del producto obtenido de la semilla.	100
Figura 50: Espectro IR del producto obtenido de la vaina.	100
Figura 51: Comparación del espectro infrarrojo mostrado por el producto obtenido de la semilla y el del ácido tánico.	101
Figura 52: Comparación del espectro infrarrojo mostrado por el producto obtenido de la vaina y el del ácido tánico.	101
Figura 53: Espectro UV del producto obtenido de las semillas de la Algarroba. .	103
Figura 54: Espectro UV del producto obtenido de la vaina de la Algarroba.	103
Figura 55: Espectro UV visible del ácido tánico.	104
Figura 56: Espectro UV visible de la (-) Epicatequina, (-) Epigallocatequina, (-) Epicatequina Galato y (-) Epigallocatequina Galato.	105

LISTA DE ECUACIONES

Ecuación 1: Método de Schultz.....	67
Ecuación 2: Variable de respuesta en el Diseño de Experimentos.....	70
Ecuación 3: Cálculo de la varianza	71

RESUMEN

En este trabajo se encontraron y analizaron algunas condiciones para el proceso de producción de pectina a partir de la pulpa de la Algarroba, y también, se estudiaron las semillas y la vaina de dicha fruta para detectar la existencia o no de taninos en dichas partes.

El proceso de producción de pectina a partir de la Algarroba, cuenta con una etapa crítica llamada hidrólisis, en la cual la protopectina se transforma en pectina. El ácido utilizado en esta etapa fue ácido muriático (ácido clorhídrico comercial) por su bajo costo, no carboniza la materia orgánica y es menos oxidante que el ácido nítrico.

Se hicieron 16 experimentos preliminares a partir de los cuales se realizó un diseño de experimentos, en el cual se tomaron tres variables importantes en el proceso de producción de pectina, tales variables fueron: la cantidad de solución a tratar, la cantidad de ácido adicionada y el tiempo de hidrólisis. Se dejaron constantes la temperatura de la hidrólisis y el pH.

Del diseño de experimentos se concluye que las mejores condiciones del proceso encontradas para extraer pectina de la pulpa de la Algarroba, tomando como variable de respuesta la relación entre porcentaje de transmitancia del grupo ácido y el grupo éster obtenida en los espectros IR, son:

- Cantidad de solución a tratar: 100 ml (10% de sólidos).
- Cantidad de ácido muriático: 2 ml.
- Tiempo de hidrólisis: 1 min
- Temperatura de hidrólisis: 95°C.

La pectina obtenida se caracterizó con base en la espectroscopía infrarroja y el grado de metoxilación, tomando como patrones las pectinas comerciales “Rapid Set” y “Slow Set” de la empresa CPKelco.

El rendimiento de la pectina obtenida con base en las mejores condiciones encontradas con el diseño de experimentos fue del 14% en base seca.

Al realizar el análisis financiero se observa que en el proceso de producción de pectina a partir de la Algarroba es necesario instalar una torre de destilación lo suficientemente eficiente para obtener agua y etanol (al 96%), para poder reutilizarlos en el proceso y convertirlo en un proyecto económicamente viable.

Las semillas y la vaina exterior de la Algarroba, se trataron con etanol para retirar los fenoles de bajo peso molecular; el material sólido remanente se extrajo con agua y/o metanol, con el fin de determinar la posible presencia de taninos en estos materiales.

Luego de analizar los productos obtenidos de las extracciones anteriores, mediante pruebas colorimétricas, espectroscopía infrarroja y ultravioleta, no se detectó la presencia de taninos en estas partes de la algarroba.

INTRODUCCIÓN

En el mercado Colombiano el fruto de la *Hymenaea Courbaril* es conocido con el nombre de Algarroba, caracterizado por su olor desagradable.

Las plantaciones de Algarroba a nivel nacional se encuentran distribuidas en los departamentos de Atlántico, Bolívar, Córdoba, Meta, Guajira, Magdalena, Antioquia, Huila y Tolima. (Colombia sin hambre, 2005)

La amplia localización hace que la materia prima, objeto de la investigación, sea de fácil adquisición, debido a que la Algarroba se consigue todo el año a bajo costo.

En la medicina popular, la Algarroba se emplea en bebidas para el tratamiento de diferentes trastornos estomacales y para la absorción de toxinas del tracto digestivo. (HIPERnatural, 2007).

Gran cantidad de Algarroba comercializada en Antioquia es adquirida por los consumidores con fines medicinales (Homeopatía), ya que la opción alimenticia muchas veces es descartada por el olor de dicha leguminosa.

Con base en los resultados de este proyecto de investigación se quiere mostrar como la Algarroba puede utilizarse integralmente como un fruto para productos de valor agregado, del cual puede obtenerse sustancias como pectina y taninos útiles para la industria alimenticia y la industria del cuero, respectivamente.

1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACION DEL PROBLEMA

En la actualidad la industria alimenticia Colombiana cuenta con una gran variedad de productos como jaleas, compotas, gelatinas, helados, mermeladas y otros alimentos que requieren un aspecto viscoso en su presentación. En la mayoría de los casos, la pectina es el componente base en dichos alimentos, debido a que posee propiedades espesantes y gelificantes. En el caso de los jugos naturales, la pectina también juega un papel importante como estabilizante.

En América latina existen países productores y distribuidores de pectina como Brasil, México, Argentina, Ecuador, Costa Rica, Bolivia y Chile. En algunos de estos países, se obtiene la pectina a partir de cítricos como la naranja y en unos países industrializados como los europeos, también se obtiene de la manzana. En Colombia la pectina se importa en su totalidad, con un costo aproximado en los últimos cinco años de \$ 8 mil millones. (Comfama ,2004).

Surge entonces la necesidad de buscar nuevas posibilidades de mercado en cuanto al tema de la pectina se refiere y explotar de dicha manera las frutas y leguminosas que en su mayoría no son aprovechadas ni se les da un valor agregado apreciable.

La mayor parte de la Algarroba no se aprovecha, igual ocurre con la cosecha de la guayaba y los excedentes agroindustriales de muchos productos que como el café y cacao sólo se emplean como abonos sin mucho valor agregado.

“Más del 50% de la Algarroba se pierde en el campo, un 15% se consume como alimento para ganado y el 35% restante va a los mayoristas que lo venden para diversos usos”. (Colombia sin hambre, 2005).

Es de ésta manera como resulta importante realizar estudios de investigación a escala laboratorio relacionados con la extracción de pectinas de la Algarroba y así potencializar la obtención de pectinas a partir de frutas y verduras nacionales.

Por otro lado, los taninos son sustancias ampliamente utilizadas en la industria del cuero, debido a que mediante un análisis tánico en las curtimbres se detectan los porcentajes de humedad, insolubles, pH, acidez y sales de las pieles a tratar. (Cueronet, 2007)

A nivel nacional, hay varias empresas productoras de taninos, entre las que se encuentran ECOFLORA LTDA, GRUPO ABC LEDER LATINOAMERICA LTDA, BRENNTAG COLOMBIA S.A. (Legiscomex, 2007), pero la mayoría de taninos usados en la industria nacional es importada.

El principal objetivo del presente proyecto es estudiar las condiciones para el proceso de obtención de pectina a partir de la pulpa de la Algarroba, mencionada en la bibliografía (HIPERnatural, 2007), sin embargo no se establecen detalles de las condiciones ni el proceso de obtención.

En el presente trabajo se analizaron las semillas y la vaina exterior de la Algarroba como fuente de obtención de taninos, ya que se ha encontrado que el Algarrobo tiene en su corteza taninos aun no determinados, (Oxford plant systematics, 2000).

Al obtener pectina y taninos de la Algarroba se pretende mostrar el aprovechamiento integral que se le puede dar a dicho fruto, cambiando de dicha manera el concepto que la población posee del mismo (olor desagradable).

Con esta investigación se da respuesta a las siguientes preguntas:

- ¿Cuáles son las condiciones más apropiadas a escala de laboratorio, para la obtención de pectinas y taninos de la Algarroba?
- ¿Qué características posee la pectina obtenida de la Algarroba?
- ¿Cuál es el rendimiento de la pectina con relación al peso de una Algarroba y al peso de la pulpa seca?
- ¿Hay taninos en la vaina exterior y semillas de la Algarroba?
- ¿Si hay taninos, cuál es el rendimiento con relación al peso seco de la vaina exterior y semillas?
- ¿Cuáles son los costos preliminares involucrados en la producción de pectinas?
- ¿Cuáles son los costos preliminares involucrados en la producción de taninos?

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Desarrollar un proceso a escala laboratorio para la obtención de pectina y taninos a partir de la Algarroba (*Hymenaea Courbaril-L*), para ser utilizados en la industria alimenticia y del cuero, respectivamente.

2.2. Objetivos específicos

- Encontrar las condiciones mas apropiadas para obtener pectina comercial y taninos de la Algarroba, por medio de un diseño de experimentos.
- Caracterizar la pectina obtenida de la Algarroba, por infrarrojo, y método de Schultz.
- Establecer el rendimiento de pectina obtenida con base en el peso de la Algarroba y de la pulpa seca.
- Comprobar la existencia de taninos en la vaina exterior y en las semillas de la Algarroba mediante un análisis en el infrarrojo.
- Establecer el rendimiento de taninos, si los hay, con base en el peso seco de la vaina exterior y las semillas de la Algarroba, si éstos realmente existen.
- Realizar un análisis preliminar de los costos involucrados en la producción de pectina a partir de la Algarroba.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. La *Hymenaea Courbaril*

3.1.1. *El árbol*

El árbol *Hymenaea courbaril* L, conocido comúnmente como Algarrobo, es un frondoso árbol forestal perteneciente al grupo de las leguminosas. (Francis, 1990).

Se encuentra ubicado en gran proporción en el continente americano y se distribuye desde México hasta Brasil y en Colombia se encuentra en áreas de bosque seco y tropical, debido a su habilidad para captar nitrógeno y agua por sus largas raíces. Por su hermoso porte y su amplia copa es un árbol que se utiliza en la ornamentación de las ciudades. (Arroyave, 2005)

Figura 1: Área de distribución natural del Algarrobo, *Hymenaea Courbaril*, en la América tropical.



Fuente: (Francis, 1990)

Las áreas en donde el Algarrobo crece de una mejor manera es en aquellas que poseen una precipitación promedio de 1900 a 2150 mm por año y dicha precipitación puede ser monzonal (variable en el año) o distribuida de manera uniforme a través de todo el año. (Francis,1990)

En Colombia se haya en los departamentos de Atlántico, Bolívar, Córdoba, Meta, Guajira, Magdalena, Antioquia, Huila y Tolima. Entre diciembre y marzo es su principal fructificación, pero vuelve a dar fruto entre junio y julio, aunque en menor cantidad. (Colombia sin hambre, 2005)

3.1.2. El tronco

El tronco del Algarrobo es de textura lisa y bastante regular, de color café o gris claro, y una de las cosas más notables es la extrema dureza de su corteza. (Ver figura 2a). (Mundo forestal, 2002)

3.1.2.1. La madera

La madera del Algarrobo es muy apreciada, dado que es dura, pesada, muy bella y de excelente calidad. (Ver figura 2b).

→ Características:

- ✓ No muestra olor o sabor característicos.
- ✓ Es dura y pesada (0.70- 0.89), de textura mediana a gruesa y grano entrecruzado.
- ✓ La albura es blanca, grisácea o rosada, lustre dorado.
- ✓ El duramen es rojo salmón o marrón, con bandas negras, posee un muy característico color a miel y es muy resistente a la pudrición por hongos y

las termitas.

- ✓ Se deja curvar bien tras ponerla al vapor.
- ✓ Es fácil de encolar y el acabado es satisfactorio.

→ Usos:

Se usa en construcción pesada, postes, columnas y vigas, ejes de carretas, ebanistería y carpintería en general, así como durmientes para ferrocarril y en embarcaciones. (Oxford plant systematics, 2000).

3.1.2.2. La resina

Su corteza produce un exudado resinoso llamado *copal* de color ámbar que mana del tronco y ramas y se acumula en la base del árbol. “En Brasil se recogen hasta 35 toneladas por año para uso local”. (Ver figura 2c). (Oxford plant systematics, 2000)

Figura 2: Tronco, madera y resina del *Hymenaea Courbaril*.



a) Tronco



b) Madera



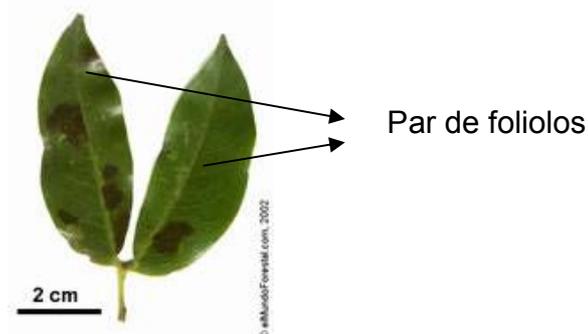
c) Resina

Fuente: (Mundo forestal, 2002)

3.1.3. Las hojas

Las hojas del *Hymenaea courbaril* pertenecen al grupo de las bifoliadas, las cuales son hojas compuestas con un solo par de folíolos grandes. (Mundo forestal, 2002)

Figura 3: Forma de las hojas del *Hymenaea Courbaril*.



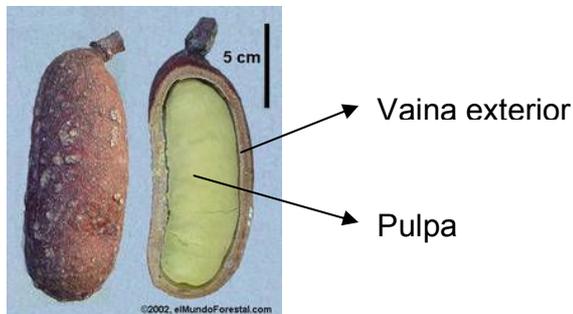
Fuente: (Mundo forestal, 2002)

3.1.4. El fruto

Los frutos del Algarrobo son unas legumbres grandes, de hasta 15 centímetros de longitud con una cáscara muy dura de color café rojizo cuando maduran, dicha dureza se debe al alto contenido de resina cristalizada, que exuda el árbol y forma acumulaciones de cristales en el exterior del fruto. (Mundo forestal, 2002).

En promedio cada fruto pesa unos 12 gramos y está compuesta por tres unidades principales, que son la pulpa, las semillas y una cáscara difícil de abrir por su dureza (vaina exterior). (Colombia sin hambre, 2005)

Figura 4: Estructura del fruto del Hymenaea courbaril.



Fuente: (Mundo forestal, 2002)

Se calcula que a nivel nacional, cada árbol produce unos 40 Kilos de fruto por año, teniendo un promedio de 70 árboles por hectárea, pero más del 50% del fruto se pierde en el campo sin ser aprovechado, 35% se emplea como alimento para ganado y el resto es vendido por los mayoristas. (Colombia sin hambre, 2005)

3.1.4.1. La pulpa

Es de color amarillento, totalmente seca, de textura harinosa o polvosa, de penetrante olor y sabor muy particular pero con un altísimo valor nutritivo. (Mundo forestal, 2002).

La pulpa es la parte comestible del fruto del Algarrobo y es utilizada ya sea cruda, tostada o fermentada para la elaboración de refrescos, a veces es utilizada como antidiarreico, cuando es preparada en pastillas. “La pulpa contiene un 3.2 por ciento de azúcar, 1.1 por ciento de grasa y 35.8 por ciento de fibra cruda”. (Francis, 1990).

3.1.4.2. Las semillas

Las semillas son grandes, esféricas, de testa o cascarita roja, muy duras y de unos 20 milímetros de diámetro. Cada fruto puede contener de 1 a 5 semillas. (Mundo forestal, 2002).

Las semillas de una planta de *Hymenaea* posee las siguientes características: (1) Polisacáridos cuyo peso molecular está entre 5.000-2.000.000 g/mol.g. (2) Las azúcares presentes en estos polisacáridos son Arabinosa, Galactosa, Xilosa y Glucosa. (3) La cadena principal es β - 1,4-glucano. (Uno, 1996).

3.1.4.3. La vaina exterior

La vaina exterior es de color café rojizo y de un grosor de aproximadamente 5 milímetros, es muy dura, tanto que cuando cae del árbol naturalmente no alcanza a romperse. (Mundo forestal, 2002)

La vaina exterior es la que protege la pulpa y las semillas de los insectos y de la humedad, de lo contrario los frutos cerrados y sus semillas se pudrirán rápidamente en el suelo una vez que se inicia la estación lluviosa. (Mundo forestal, 2002)

3.2. Pectina

3.2.1. Descripción

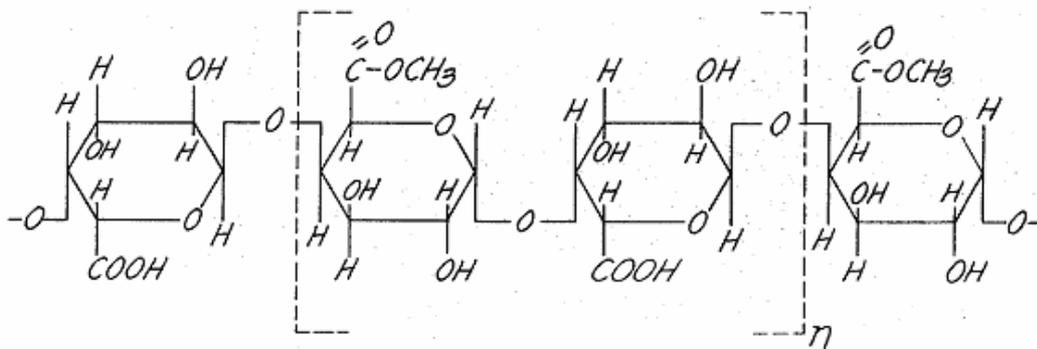
La pectina es una familia compleja de los polisacáridos extraídos de la pared celular de las plantas. Químicamente esta constituida por una cadena lineal de ácido poligalacturónico, formado por moléculas de ácido D-galacturónico. (Canteri,

2005) y sus derivados simples como las sales del ácido poligacturónico y ésteres metilados del mismo. (James, 1947)

Las pectinas son particularmente abundantes en los tejidos de las plantas suaves bajo condiciones de rápido crecimiento y altos contenidos de humedad y son producidas y depositadas durante el crecimiento de la pared celular. (Yates, 1999)

La mayoría de pectina presente en las frutas cítricas y en diferentes vegetales, se encuentra en forma de un complejo insoluble llamado protopectina, la cual es conocida por muchos autores como la combinación de pectina y celulosa (Myers, 1943), dicha combinación le otorga a la pared celular la habilidad de absorber grandes cantidades de agua.

Figura 5: Estructura molecular de la pectina.



Fuente: (Wiles, 1971)

La pectina esta conformada por varios carbohidratos como lo son la ramnosa, la arabinosa y la galactosa, por lo general la galactosa y la arabinosa se encuentran en las cadenas laterales unidas a la cadena principal formando ramificaciones, mientras que la ramnosa forma parte de la cadena principal. (Heredia et al, 1995).

3.2.2. Características

3.2.2.1. Solubilidad

Con respecto a la solubilidad, las pectinas son solubles en agua e insolubles en la mayoría de solventes orgánicos. Las pectinas con bajo nivel de esterificación y los ácidos pécticos son solamente solubles en sales de Sodio y Potasio. (Yates, 1999).

3.2.2.2. pH

Las pectinas son estables bajo condiciones ácidas con pH entre 3 y 4. (Yates, 1999).

3.2.2.3. Color

Al analizar la coloración de una pectina, es necesario entrar a considerar dos factores importantes para dicho estudio, tales factores son:

- La coloración natural (pigmento) de la fruta utilizada
- El contenido de polifenoles de la misma.

Todas las pectinas comerciales que han pasado por un proceso de transformación posterior tienen cierto grado de coloración como producto final.

En general, los rangos de color van desde amarillo a café claros (pectinas cítricas) hasta amarillo a café oscuros (pectina de la manzana). (Yates, 1999).

3.2.3. Propiedades

3.2.3.1. Capacidad de formar geles

Las pectinas pueden considerarse precursores de gelación, debido a que tienen la propiedad de formar agregados. (Marshall, 2000).

El grado de gelificación está definido como la cantidad de gramos de azúcar que necesita un gramo de pectina para formar un gel de firmeza estándar bajo condiciones establecidas de acidez y de sólidos solubles. A este proceso se le denomina graduación de la pectina y sus unidades son los grados SAG. Las pectinas comerciales de buena calidad tienen grados de gelificación entre 150 y 300° SAG. (Sierra, 2007).

3.2.3.2. Viscosidad

La viscosidad de la pectina, depende de la calidad de la misma y de la fruta o vegetal del cual se obtiene, de acuerdo a esto, puede presentar valores de viscosidad altos o bajos. Las pectinas de más alta viscosidad suelen emplearse en la elaboración de alimentos tales como las mermeladas. (Sierra, 2007).

3.2.3.3. Peso molecular

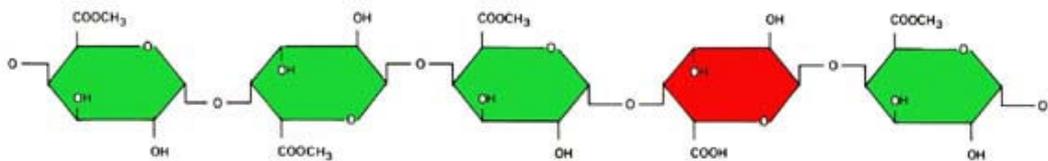
El peso molecular está influido directamente por la fuente de extracción de la pectina y de los componentes que constituyen la misma; pero por lo general se encuentra en un amplio rango entre 2.500 a 1.000.000 g/mol.g (Pescador, 2003).

3.2.3.4. Grado de esterificación (metoxilación)

La pectina comercial está actualmente clasificada según el grado de esterificación (DE), el cual se define como el porcentaje de grupos carboxilos esterificados con metanol (número de moles de metanol por 100 moles de ácido galacturónico). (Yates, 1999).

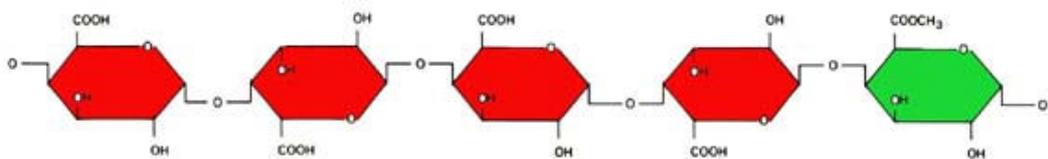
De acuerdo a lo anterior, las pectinas pueden clasificarse en dos grupos según su grado de esterificación: Alto metoxilo (HM) y Bajo metoxilo (LM). Una pectina con un grado de metoxilación mayor al 50% es considerada de alto metoxilo (HM) y una pectina menor al 50% es considerada de bajo metoxilo (LM). (Yates, 1999).

Figura 6: Pectina de alto Metoxilo.



Fuente: (Calvo, 2006)

Figura 7: Pectina de bajo Metoxilo.



Fuente: (Calvo, 2006)

Tanto las pectinas de HM y las de LM tiene la capacidad de formar geles, pero con mecanismos totalmente diferentes. Las pectinas HM forman geles en presencia de altas concentraciones de sacarosa a bajo pH. Las pectinas LM forman geles en presencia de calcio. (Yates, 1999).

Las pectinas de bajo metoxilo pueden obtenerse a partir de pectinas de alto metoxilo, mediante un proceso químico de des-esterificación.

De igual forma a partir de las pectinas HM puede obtenerse un tipo de pectina denominada pectina amidada. Esta transformación es posible mediante el tratamiento de la pectina HM con amoniaco bajo condiciones alcalinas en suspensiones alcohólicas, en éste proceso el éster es reemplazado por el grupo amida. (Yates, 1999).

La pectina amidada tiene una mejor habilidad para formar geles en presencia de calcio en comparación con la pectina regular de bajo metoxilo.

Según su rapidez para formar geles, las pectinas de alto metoxilo (HM), se clasifican en:

Tabla 1: Clasificación de la pectina HM según el grado de gelificación.

Clasificación	Grado de gelificación (SAG)	Denominación
Ultra Rapid set	150°	URS 150°
Rapid set	150°	RS 150°
Medium rapid set	150°	MRS 150°
Slow set	150°	SS 150°

Fuente: (Navarro, 1985)

3.2.4. Historia

Desde el siglo pasado se vienen elaborando alimentos con pectina incorporada, tal es el caso de las mermeladas y derivados de frutas.

La primera vez que se aisló la pectina fue en 1825, cuando el químico francés Henri Braconnot le dio el nombre de “ácido péctico” debido a sus propiedades gelificantes al añadirle ácido a la solución. (Calvo, 2006). Fue en el año 1924 cuando se identificó el ácido poligalacturónico como componente de la pectina. (Soriano, 2004).

La producción comercial de pectinas comenzó en 1908 en Alemania, a partir de los restos de la fabricación de zumo de manzana. Desde sus comienzos éste mercado ha estado ligado a la industria de conservación de alimentos y el poder gelificante de la pectina ha sido la propiedad más importante para su uso. (Pagan, 1998).

Actualmente la pectina comercial se obtiene de los restos de la extracción de zumo de manzana y, sobre todo, de los residuos de la industria de los zumos de cítricos. La pectina de manzana suele ser de un color algo más oscuro, debido a las reacciones de pardeamiento enzimático. (Calvo, 2006).

3.2.5. Antecedentes

A través de la historia se han realizado varios estudios sobre la obtención de pectina a partir de diferentes materias primas, algunos de los estudios son:

- “Extraction of Pectin from Apple Pomace” (Canteri, 2005). Este estudio estuvo enfocado a determinar un procedimiento práctico de la extracción de

pectina a partir de la pulpa de la manzana y caracterizarla, estableciendo las condiciones optimas para la extracción ácida.

- “Extracción a escala laboratorio de la pectina del maracayá y escalado preliminar a planta piloto” (Gaviria, 2005). En esta investigación se describen los equipos básicos para la obtención de pectina y el procedimiento para la extracción de la misma a partir del maracuyá.
- “Diseño de un proceso para la obtención y purificación de pectina a partir de los productos secundarios del beneficio del café” (Sierra, 2007). En este trabajo se encontraron y evaluaron las condiciones para el proceso de extracción de pectinas a partir del mucílago y de la pulpa del café.

Luego de una exhaustiva revisión bibliográfica en las bases de datos disponibles en la Universidad Eafit (Ebsco Host, Proquest, Science Direct y Dialog Select, entre otras), no se ha encontrado hasta ahora ningún estudio en el cual se obtenga pectina a partir de la Algarroba, lo que hace innovador este proyecto y de alto valor agregado en cuanto al aprovechamiento integral de la Algarroba se refiere.

3.2.6. Usos de la pectina en la industria alimenticia

La pectina se usa en la industria alimenticia en combinación con los azúcares como un agente espesante, por su alta propiedad de formar geles en medio ácido y en presencia de azúcares. Cuando la pectina se calienta junto con el azúcar se forma una red, que se endurece al enfriarse. (Food-info, 2006).

Generalmente se aprovecha en la producción de jaleas, preparaciones de fruta, jugos de fruta concentrados, zumos de fruta, postres, helados, mermeladas y

fermentado productos lácteos. (Canteri, 2005).

Sin embargo, el uso de estas sustancias también se ha extendido al área farmacéutica con muy buenos resultados, debido a que posee efectos antidiarreicos. (Yates, 1999).

3.3. Taninos

3.3.1. Descripción

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

Se producen en diversas partes de las plantas, como son: corteza, frutos, hojas, raíces y semillas; a pesar de tener un origen común, la especificidad de las plantas le da a los taninos diferencias en color, calidad y concentración.

Los taninos son una mezcla heterogénea variable y compleja de compuestos químicos, de sabor amargo y astringente, pero en general son ésteres de una azúcar con un número variable de ácidos fenólicos.

El azúcar es generalmente glucosa y el ácido fenólico es ácido gálico o ácido hexahidroxifenoico. Uno de los componentes más comunes de los taninos es el pentagalactoglucosa. A estas mezclas de ésteres fenólicos se les conoce como ácido tánico. (Alnicolsa, 2007).

Los taninos tienen pesos moleculares entre 500 y 3000 g/g.mol. (Hung, 2007)

Alrededor de todo el mundo, se calcula que existen aproximadamente 500 especies de plantas que contienen varias cantidades de taninos, entre las que se encuentran: *Leguminosae*, *Rosaceae*, *Polygonaceae*, *Fgaceae*, *Rhizophoraceae* y *Myrtaceae*. (Alnicolsa, 2007).

3.3.2. Características

Los taninos son sustancias que poseen un olor característico y un color que va desde el amarillo al castaño oscuro.

Sus principales características son:

- Son compuestos químicos no cristalizables cuyas soluciones acuosas son coloidales, de reacción ácida, sabor astringente y amargo. (Encarta, 2007).
- Precipitan con gelatina, albúmina y alcaloides en solución. (Alnicolsa, 2007).
- La exposición a la luz oscurece su color, debido a que son compuestos que se oxidan al contacto con el aire. (Encarta, 2007).
- Con sales férricas dan coloraciones negro azuladas o verdosas. (Alnicolsa, 2007).
- Se disuelven con facilidad en agua, acetona o alcohol, pero son insolubles en benceno, éter o cloroformo. (Encarta, 2007).
- Producen un color rojo intenso con ferricianuro de potasio y amoniaco. (Alnicolsa, 2007).

- Cuando se calientan a 210 °C, se descomponen, y producen pirogalol y dióxido de carbono. (Encarta, 2007).
- Forman complejos con iones metálicos y polisacáridos. (Moya, 2007).
- Es combustible con un punto de inflamación de 199°C, una temperatura de autoignición de 528.5°C. (Alnicolsa, 2007).
- Debido a los grupos fenólicos, precipitan las proteínas en solución y se combinan con ellas, haciéndolas resistentes a las enzimas proteolíticas. (Moya, 2007).
- Poco tóxico por ingestión o inhalación. (Alnicolsa, 2007).

3.3.3. Tipos de taninos

De acuerdo a su composición química, los taninos pueden ser divididos en dos grupos, los taninos hidrolizables que son ésteres de azúcar (glucosa) con uno o más ácidos carboxílicos de tri-hidroxibenceno y los taninos condensados que son derivados de flavonas. (Wong, 2004)

3.3.3.1. Taninos hidrolizables o pirogálicos

Los taninos hidrolizables son comunes de observar en plantas dicotiledóneas y son los que mayor interés toxicológico encierran. (Alnicolsa, 2007).

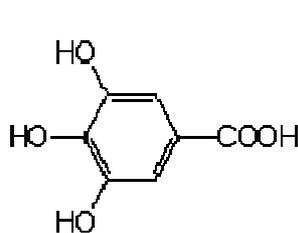
Son ésteres fácilmente hidrolizables formados por una molécula de azúcar (en general glucosa) unida a un número variable de moléculas de ácidos fenólicos (ácido gálico o su dímero, el ácido elágico). (Howell, 2002).

Dependiendo de la naturaleza del ácido fenol carboxílico, los taninos hidrolizables se dividen en galotaninos (del ácido gálico) y elagitaninos (del ácido elágico). (Alnicolsa, 2007).

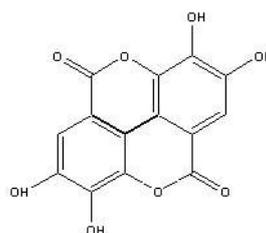
Como su nombre lo indica, los taninos hidrolizables se hidrolizan con facilidad por la acción de los ácidos, bases o enzimas, en un azúcar, un polialcohol y un ácido fenolcarboxílico. (Alnicolsa, 2007).

La hidrólisis de galotaninos produce ácido gálico (Ver figura 8a), mientras que la de elagitaninos produce ácido hexahidroxifenólico, el cual se aísla normalmente con su dilactona estable, ácido elágico (Ver figura 8b). (Alnicolsa, 2007).

Figura 8: Estructuras del ácido gálico y el ácido elágico.



a) Ácido gálico

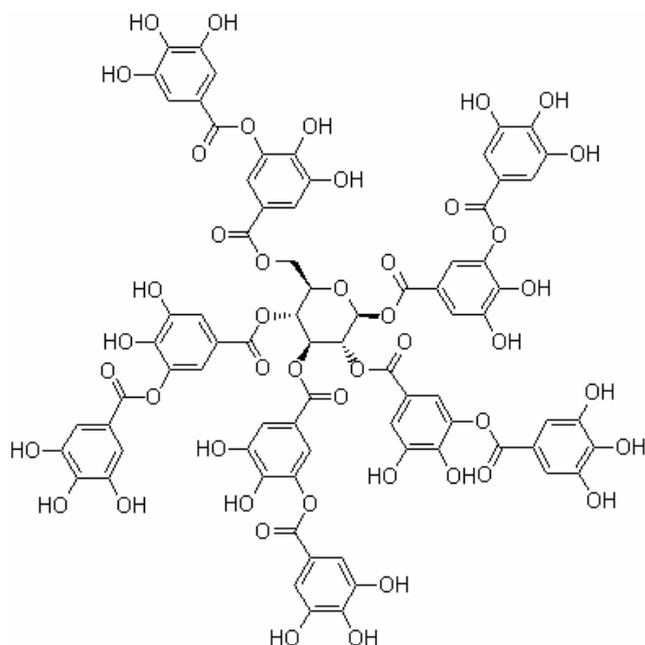


b) Ácido elágico

Fuente: (Alnicolsa, 2007).

El tanino hidrolizable más conocido y usado industrialmente es el ácido tánico, el cual se muestra a continuación:

Figura 9: Estructura del ácido tánico.



Fuente:(Chemblink, 2007).

Los taninos hidrolizables poseen propiedades como (Alnicolsa, 2007):

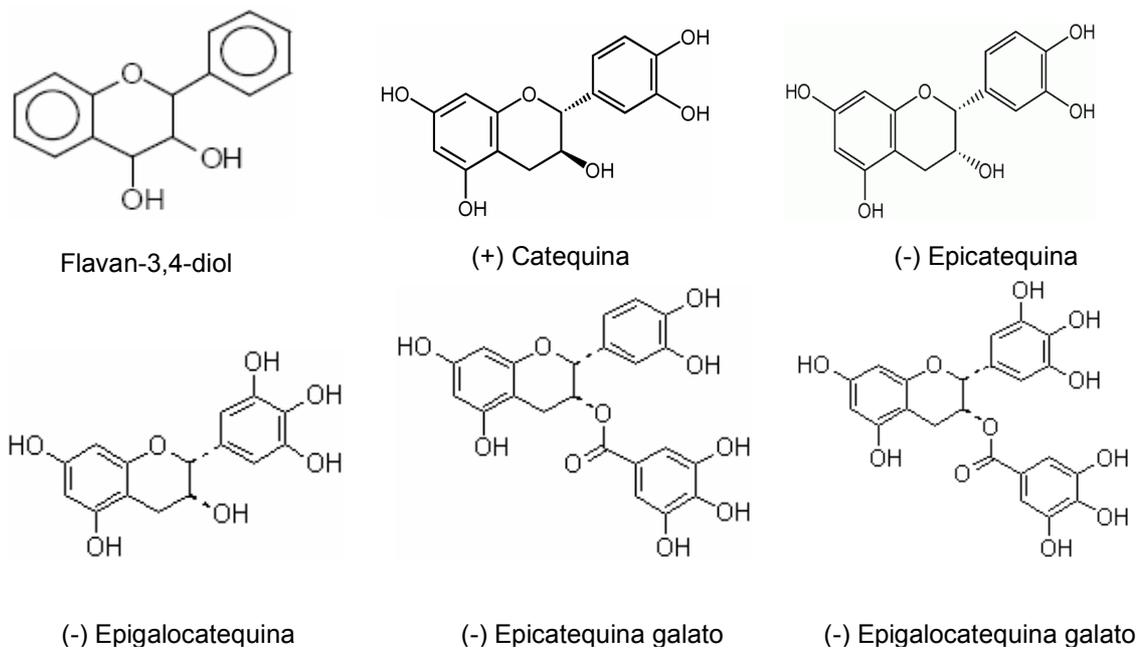
- Cuando se destilan en seco producen pirogalol.
- Los núcleos bencénicos están unidos por medio de átomos de oxígeno D
- Dan coloración azul con FeCl_3 .
- No precipitan con soluciones de bromo.

3.3.3.2. Taninos Condensados

Son derivados de unidades de flavan-3,4-dioles (leucoantocianidinas o proantocianidinas monómeras), conocidos actualmente también como proantocianidinas condensadas. Algunos flavonoides característicos presentes en

la estructura de los taninos condensados son la Catequina, Epicatequina y sus derivados. (Alnicolsa, 2007).

Figura 10: Estructuras características de los taninos condensados.



Fuente: (Universidad de la República Oriental del Uruguay, 2006)

Los taninos condensados presentes en leguminosas tropicales se encuentran en tres formas principales:

- Extractables (reactivos con proteína)
- Ligados a proteína
- Ligados a fibra.

Existen leguminosas donde todos los taninos son extractables (e.g. *Acacia boliviana*) y en otras donde todos son ligados (e.g. *Gliricidia sepium*). (Alnicolsa,

2007).

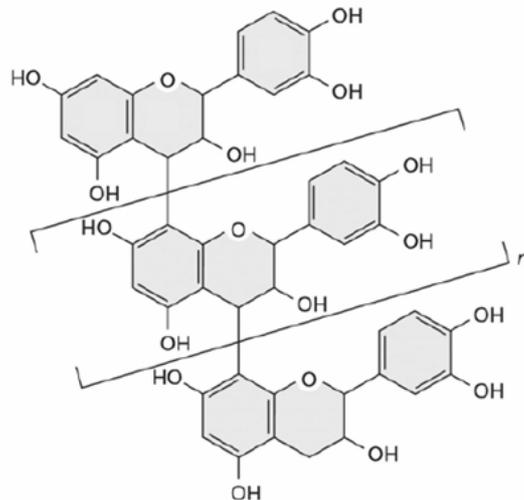
Algunas propiedades de los taninos condensados son (Alnicolsa, 2007):

- Se transforman en taninos amorfos, llamados flobafenos o taninos rojos, al ser tratados con ácidos en caliente.
- Los átomos de carbono de los núcleos bencénicos presentes en su estructura están unidos así: C-4 a C-8, C-4 a C-6.
- Al ser tratados con FeCl_3 dan coloración verde.
- Precipitan con soluciones de bromo.
- Tienen la propiedad de desnaturalizar, precipitar o bloquear los grupos funcionales de las proteínas al estar en contacto con ellas. (Levinson, 1988).

Ejemplo de este tipo de taninos se encuentran en la corteza de mimosa (*Acacia mollissima* Willd), en la madera de quebracho (*Schinopsis lorenzii*, Engl.), en la corteza de mangle (*Rhizophora mangle*), en las hojas de lentisco (*Pistacia lentiscus*), en la madera del castaño (*Castanea sativa*), entre otros. (Cowan, 2005).

La estructura general de un tanino condensado se muestra en la figura 11.

Figura 11: Estructura general de un tanino condensado.



Fuente: (Universidad de la República Oriental del Uruguay, 2006)

3.3.4. *Uso de los taninos en la industria del cuero*

A través de los años, los taninos vegetales han adquirido una importancia indudable, conforme se ha profundizado su conocimiento y encontrado aplicaciones tan variadas.

Quizás la aplicación más antigua es en la industria del cuero, para el proceso del curtido, aprovechando su capacidad de precipitar proteínas, aunque también ha sido usado ampliamente en la medicina debido a su capacidad para detener pequeñas hemorragias locales, desinflamar la cavidad bucal, entre otras. (Alnicolsa, 2007).

3.3.4.1. *Curtido vegetal*

Para la transformación de la piel en cuero, existen dos tipos de curtidos usados actualmente como lo son el curtido vegetal y el curtido al cromo, que se eligen

según el uso al que esté destinado el cuero.

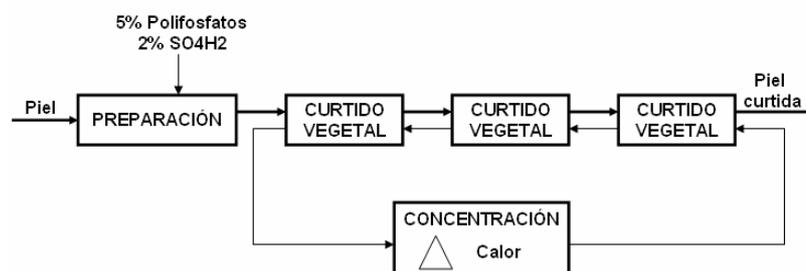
Por su gran poder curtiente, tanto los taninos hidrolizables como los condensados, se emplean como agente curtidor en el proceso del curtido vegetal, permitiendo obtener una amplia variedad de cueros, que se diferencian en flexibilidad y resistencia. (Encarta, 2007).

Los taninos hacen que el cuero adquiera las siguientes propiedades (Alnicolsa, 2007):

- Inmunes al ataque bacteriano.
- Alta temperatura de encogimiento.
- Material poroso, suave y flexible, ya que los taninos impiden que las fibras colágenas aglutinen en grumos al secarse.

La piel es penetrada por los taninos después de largos períodos de tiempo, durante los cuales los agregados moleculares de tanino forman entrecruzados entre las cadenas polipeptídicas de las proteínas de la piel. En este proceso la formación de puentes de hidrógeno es un factor importante. (Encarta, 2007).

Figura 12: Diagrama de Bloques del Curtido vegetal.



Fuente: (Alnicolsa, 2007).

4. MERCADO

4.1. Mercado de la pectina

La cantidad consumida de pectina a nivel nacional es importada en su totalidad, debido a que no existe ninguna empresa productora de pectina en Colombia, lo cual implica altos precios de venta de dicho producto.

En el mercado, la pectina es ofrecida en Kilogramos y de acuerdo a su clasificación es su precio de venta. La pectina de bajo metoxilo es ofrecida a \$60.000 mas IVA por Kilogramo, la “Rapid set” y “Slow set” tienen un precio de venta de \$35.000 mas IVA por Kilogramo. (Datos suministrados por Bell Chem Internacional S.A., Medellín).

En el mercado Colombiano existen diferentes distribuidores de pectina a nivel nacional entre los que se encuentra la compañía Quimerco S.A. y Danisco Colombia Ltda.

Quimerco S.A es una empresa que representa a once compañías líderes extranjeras; almacena y distribuye ingredientes alimenticios, materias primas químicas y plásticos, para la industria de adhesivos, pinturas y de alimentos; su actividad se concentra únicamente en Colombia.

El proveedor de pectina de Quimerco S.A. es CPKelco, una empresa productora de pectina a nivel global, posee más de 2.000 clientes distribuidos en 100 países. Cuenta con instalaciones de producción en Norteamérica, Europa, Asia y América Latina (Brasil).

Otro productor importante de pectina a nivel mundial es Danisco; esta empresa tiene plantas de producción ubicadas en Brasil, México y República Checa. La parte de Danisco en el mercado de la pectina es alrededor del 25%. A nivel nacional Danisco cuenta con la distribuidora Danisco Colombia Ltda.

Tanto Quimerco S.A. como Danisco Colombia Ltda., tienen sede en Bogotá y desde allí distribuyen sus productos a todo el país. A nivel regional, la pectina es distribuida por las empresas Bell Chem Internacional S.A. y Distribuidora Córdoba.

Las importaciones de pectina vienen de diferentes países tales como: México, Argentina, Francia, Brasil, China, Dinamarca, Suiza, Alemania, Bélgica, entre otros. (Legiscomex, 2007).

La tabla 2 muestra la cantidad de pectina importada en los últimos tres años, la razón social del importador, el país de origen y el Valor FOB en USD.

Tabla 2: Importaciones de pectinas realizadas en los años 2004, 2005 y 2006.

Año 2004			
Razón social importador	Peso neto (Kg)	País origen	Valor FOB (US\$)
Bioindustrial Marpolo Ltda Marpolo Ltda.	6320	Argentina.	40898,21
	19000	Francia.	186814
Danisco Colombia Ltda.	25150	México.	214584,25
	300	Brasil.	2279,38
Rocsa Colombia s.a.	2468	China.	10756
Quimerco s.a.	30600	Dinamarca.	297333,75
	31375	Brasil.	258331,25
	3875	Djibouti. (Africa)	43785
Alpina productos alimenticios s.a. Alpina	4000	Suiza.	74428,26

Productora nacional de aromas y colorantes Ltda. Disaro	2000	Alemania.	14500
Conservas California s a	4000	México.	38800
Gaseosas Posada Tobón s a	50000	México.	346700
T Vapan 500 s a	13951	Bélgica.	55953,17
Año 2005			
Bioindustrial Marpolo Ltda Marpolo Ltda.	26592	Francia.	264938,53
	4000	Argentina.	25846,6
Sanofi-synthelabo de Colombia s a	9	Brasil.	233,37
Danisco Colombia Ltda	32950	México.	291160,5
Quimerco s a	29950	Djibouti. (Africa)	361720
	23200	Brasil.	193190
	8050	Dinamarca.	97082,5
Productora nacional de aromas y colorantes Ltda Disaro	3500	Alemania.	27479,9
Conservas California s a	5500	México.	53350
Gaseosas Posada Tobón s a	60000	México.	409148
T Vapan 500 s a	26485	Bélgica.	77396,93
Año 2006			
Bioindustrial Marpolo Ltda Marpolo Ltda.	19650	Francia.	198780
	6700	Argentina.	44638,6
Danisco Colombia Ltda	41650	México.	391718,25
Quimerco s a	42400	Dinamarca.	476886,36
	31850	Brasil.	262455
Conservas California s a	6000	México.	58200
Procaps s.a.	7	Estados unidos.	280
Gaseosas Posada Tobón s a	70000	Francia.	581000
T Vapan 500 s a	37835	Bélgica.	92033,55

Fuente: (Legiscomex, 2007).

De la tabla anterior se puede concluir que la mayor cantidad de pectina importada en los últimos tres años la reportan las empresas Quimerco S.A, Danisco Colombia Ltda. y Gaseosas Posada Tobón S A (POSTOBÓN), con la siguiente cantidad de importación:

Tabla 3: Empresas con mayor cantidad de pectina importada en los últimos tres años.

RAZON SOCIAL	AÑO 2004 (Ton)	AÑO 2005 (Ton)	AÑO 2006 (Ton)
Quimerco S.A.	65.85	61.2	74.25
Gaseosas Posada Tobón S.A	50	60	70
Danisco Colombia Ltda.	25.45	32.95	41.65

Las figuras 13.14 y 15 muestran un resumen de los países que enviaron pectina a Colombia en los últimos tres años:

Figura 13: Países de los cuales Colombia importó pectina en el año 2004.

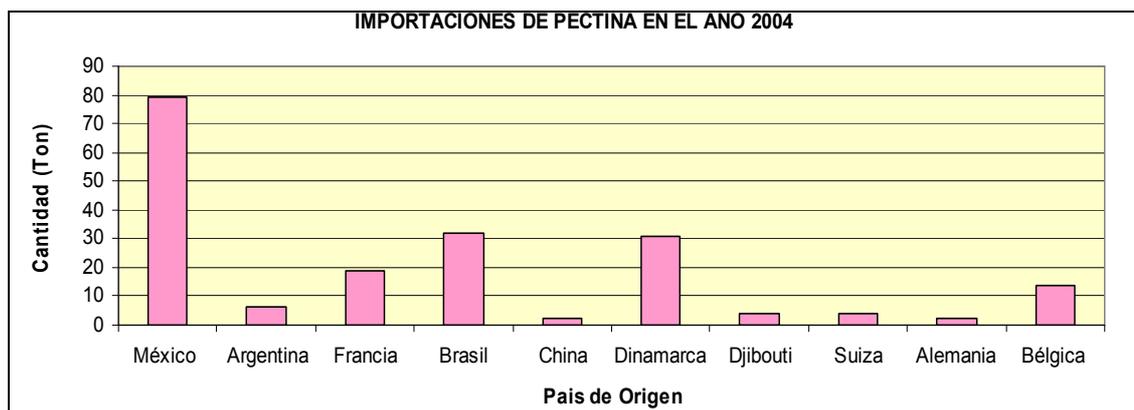


Figura 14: Países de los cuales Colombia importó pectina en el año 2005.

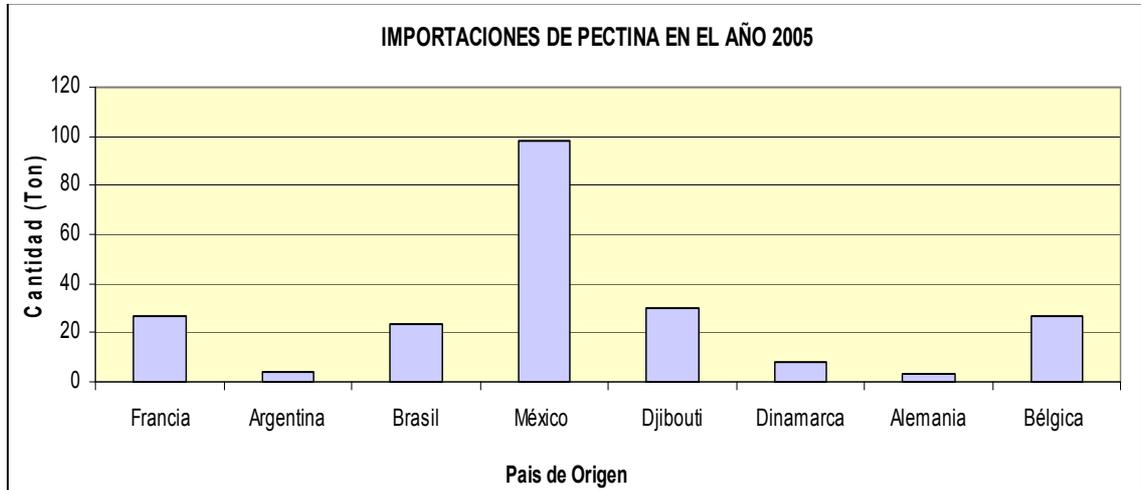
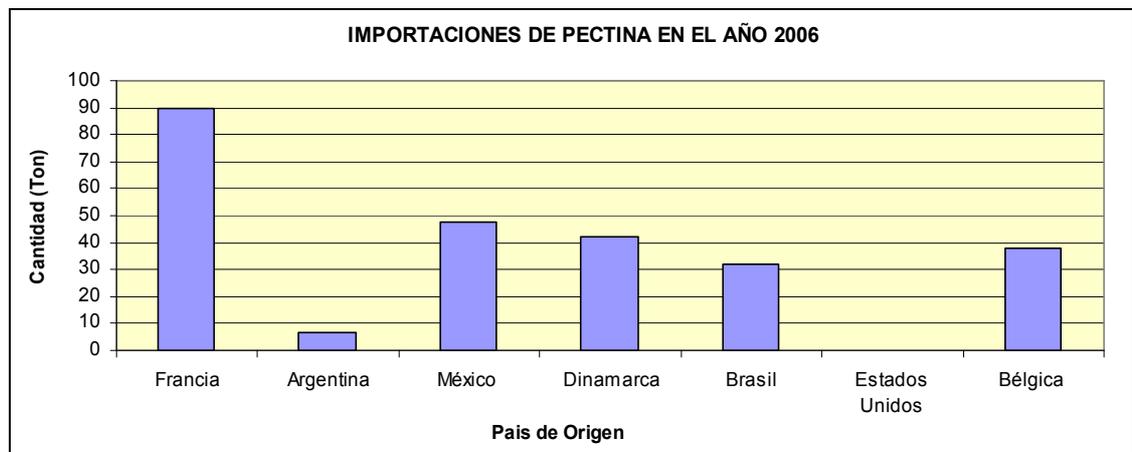


Figura 15: Países de los cuales Colombia importó pectina en el año 2006.



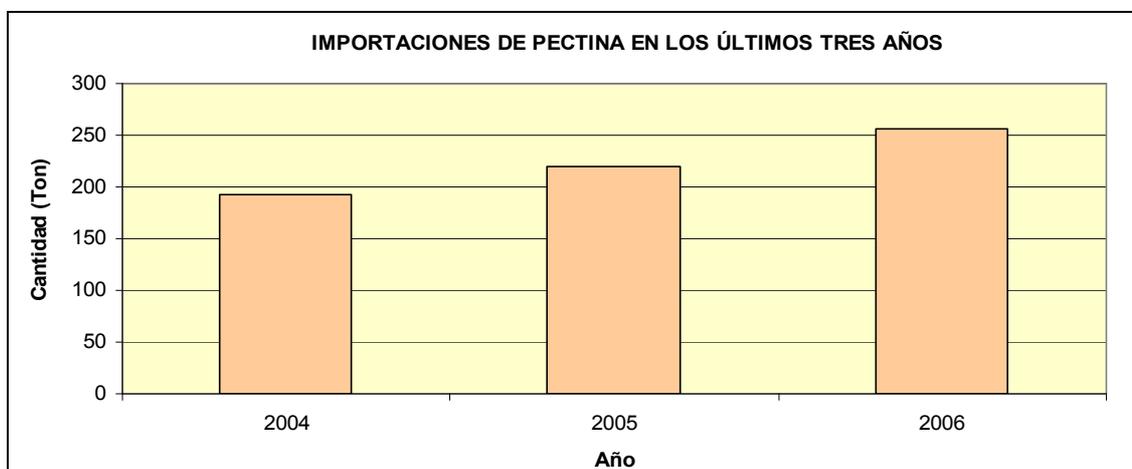
De la figura 13, puede concluirse que en el año 2004, Colombia importó de México la mayor cantidad de pectina, con un 41% del total importado ese año, dicho porcentaje es distribuido de la siguiente manera: 26% corresponde a Gaseosas Posada Tobón S.A., 13.03% a la empresa Danisco Colombia Ltda. y el porcentaje restante corresponde a Conservas California S.A.

En la Figura 14 se observa que el mayor país exportador de pectina al mercado Colombiano en el 2005 fue México con un 44.7% del total de pectina importada en ese año, dicho porcentaje es distribuido de la siguiente manera: Danisco Colombia Ltda. importó un 14,96%, Conservas California S.A. un 2,49% y Gaseosas Posada Tobón S.A. un 27,24%.

En el año 2006 la mayor cantidad de pectina ingresada al país provino de Francia con un 35% de las importaciones totales de ese año, dicho porcentaje corresponde un 27,33% a Gaseosas Posada Tobón S.A. y un 7,67% a Bioindustrial Marpolo Ltda.

Por último es importante destacar la cantidad total de pectina importada a través de los tres últimos años como se muestra a continuación:

Figura 16: Cantidad total de pectina importada por Colombia en los últimos tres años.



En la figura 16 puede observarse como a través de los años el uso de pectina se ha ido incrementando progresivamente, en el 2004 se importaron 193,039 toneladas de pectina, mientras que en el 2005 se importaron 271,970 toneladas

mas de las que se importaron en el 2004 y en el 2006 se importaron 35,856 Tonmas de las importadas en el año anterior.

Es importante notar, como la cantidad de pectina empleada en el mercado colombiano ha venido aumentando a través de los tiempos, es por eso que se hace necesario realizar nuevos proyectos en los cuales se les de valor agregado a los frutos nacionales como la Algarroba para la obtención de pectina y de ésta manera reducir los costos de importación que la industria alimenticia invierte anualmente para la adquisición de dicha sustancia.

4.2. Mercado de los taninos

Los taninos a nivel nacional son producidos por diversas empresas entre las cuales se encuentran Brenntag Colombia S.A., Grupo abc Leder Latinoamérica Ltda, Ecoflora Ltda, entre otras.

Brenntag Colombia S.A. es una sucursal de Brenntag en Colombia que comenzó en los años 20 del siglo pasado y esta dedicada a la distribución química en Latinoamérica.

EcoFlora Ltda. es una empresa dedicada a aprovechar sosteniblemente la biodiversidad de Colombia e incrementar el valor agregado de sus productos agrícolas. Entre los productos comercializados por dicha empresa se encuentran los taninos vegetales, los cuales exporta a diferentes países como Francia y Reino unido. (Legiscomex, 2007).

La tabla 4 muestra la cantidad de taninos exportada en los últimos tres años, la razón social del exportador, el país destino y el Valor FOB en USD.

Tabla 4: Exportaciones de taninos realizadas en los años 2004, 2005 y 2006.

Año 2004			
Razón social exportador	País destino	Peso neto Kg	Valor FOB (US\$)
Brenntag Colombia s.a.	Ecuador.	3628	6476,8
Grupo abc leder Latinoamérica Ltda.	El salvador.	25	52,43
Año 2005			
Ecoflora Ltda.	Francia.	15	278
Año 2006			
Ecoflora Ltda.	Reino unido.	3	2390
	Francia.	2	580

Fuente: (Legiscomex, 2007).

De la tabla anterior se puede observar que en el 2004 se exportó la mas alta cantidad de taninos y en su mayoría fue realizada por la empresa Brenntag Colombia S.A. con una participación del 99.31%.

La mayor cantidad de taninos consumidos en Colombia provienen del extranjero, es por dicha razón que a través de los años se ha venido importando dicha sustancia en proporción a las necesidades del mercado Colombiano. La tabla 5 muestra la cantidad de taninos importada en los últimos tres años, la razón social del importador, el país de origen y el Valor FOB en USD.

Tabla 5: Importaciones Colombianas de taninos en los años 2004, 2005 y 2006.

Año 2004			
Razón social	Peso neto (Kg)	País de origen	Valor FOB (US\$)
Luz Melida Carrillo Lozano	7250	Italia.	4782,1
Tecur Ltda.	7010	Italia.	5019,3
C.I. Curtiembres Matteucci Ltda.	17500	India	14000
Curtipiel Ltda.	1000	Italia.	2610
Pinotho Ltda.	500	Alemania	4740
Silvateam Colombia Ltda.	500	Italia.	340
Lucta grancolombiana s a	10	España	420.6
Productora de gelatina s a Progel	4	Alemania	288,11
Químicos y reactivos Ltda. Quimirel	3	Italia.	376,55
Pedro Sánchez Ramírez y CIA Ltda.	514	Estados Unidos	6472,62
Yanbal de Colombia s a	125	Francia	24207,79
	100	Estados Unidos	19089,9
La tour s a	22	Estados Unidos	4290.3
Año 2005			
Razón social	Peso neto (Kg)	País de origen	Valor FOB (US\$)
Luz Melida Carrillo Lozano	10750	Italia.	7523,8
Tecur Ltda.	2000	Italia.	1360
Presquim Ltda.	5	Suiza.	331,99
C.I. Curtiembres Matteucci Ltda.	17500	India	14000
Pinotho Ltda.	1000	China	9000
Merck s a	1	Alemania.	65.97
Lucta grancolombiana s a	10	España	359.7
Químicos y reactivos Ltda. Quimirel	4,3	Italia.	652,01
Pedro Sánchez Ramírez y CIA Ltda.	583	Estados Unidos	6112,55

Agatex s.a.	50	Italia.	465.09
Año 2006			
Razón social	Peso neto (Kg)	País de origen	Valor FOB (US\$)
Ismael Enrique Rojas Munevar	125	Brasil.	20
Luz Melida Carrillo Lozano	29500	Italia.	22514,45
Químicos f.g. Ltda.	1,5	España	115,9
Annar diagnostica import Ltda.	17,06	España	146,93
Pinotho Ltda.	1000	China	8600
Silvateam Colombia Ltda.	400	Brasil.	354,06
Abc laboratorios s a	11,7	India	508,1
Químicos y reactivos Ltda. Quimirel	2	Italia.	421,07
Pedro Sánchez Ramírez y CIA Ltda.	264,35	Estados Unidos	2685,1
Laboratorios Wacol Ltda.	1	Estados Unidos	51,03
Agatex s.a.	75	Italia.	1102,05

Fuente: (Legiscomex, 2007).

De la tabla anterior se puede concluir que la mayor cantidad de taninos importada en los años 2004 y 2005 la realizó la empresa C.I. Curtiembres Matteucci Ltda., con un porcentaje del 51% y 55%, respectivamente, con respecto a la cantidad total importada en estos años.

Igualmente se observa que en el año 2006, la empresa Luz Melida Carrillo Lozano, importó la mayor cantidad de taninos, con un 93,95% del total de las importaciones realizadas en dicho año.

Las figuras 17, 18 y 19 muestran un resumen de los países que enviaron taninos a Colombia en los últimos tres años:

Figura 17: Importaciones de taninos realizadas por Colombia en el año 2004.

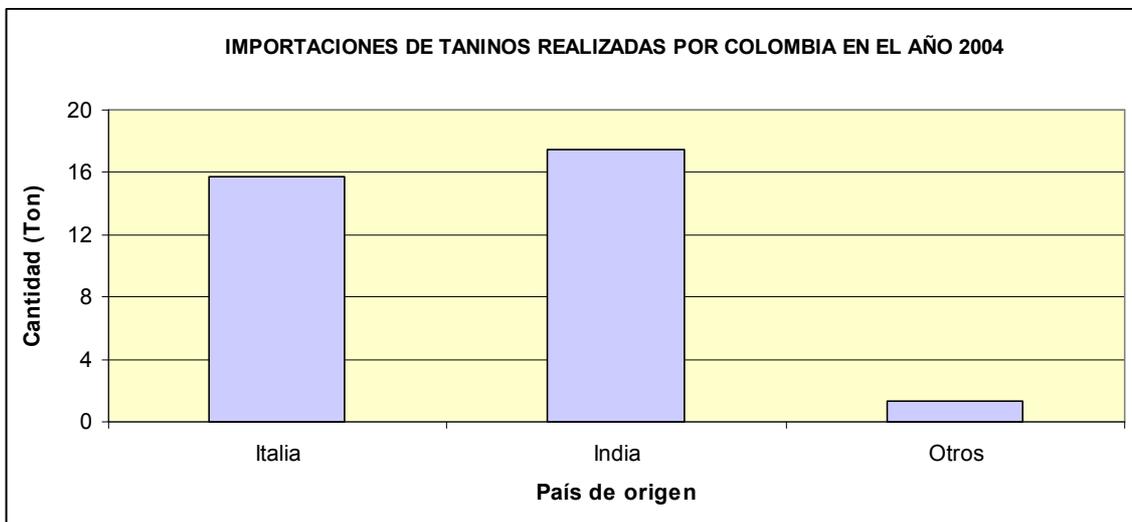


Figura 18: Importaciones de taninos realizadas por Colombia en el año 2005.

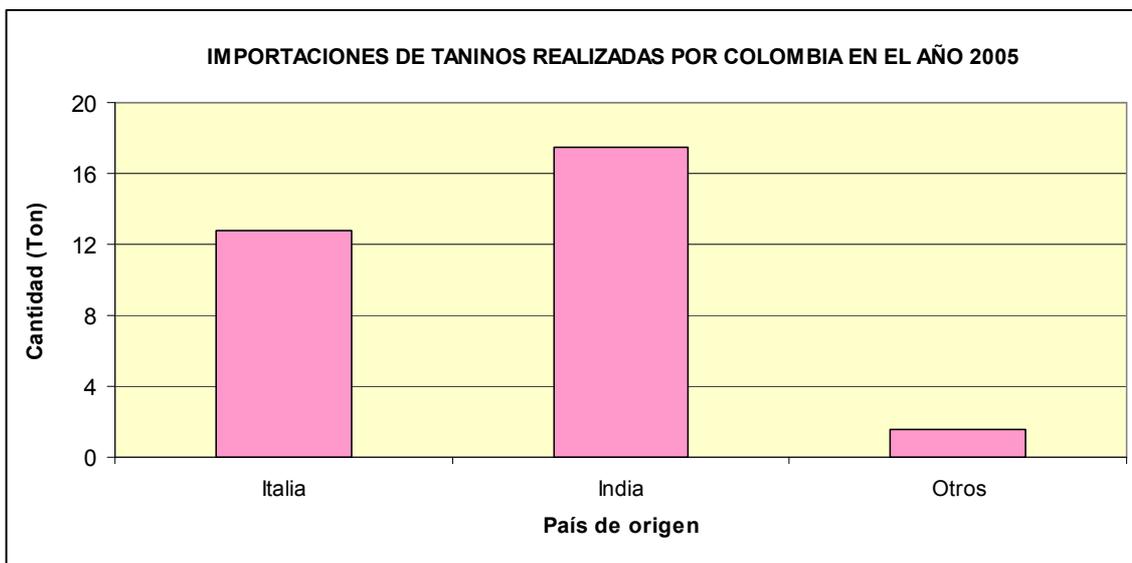
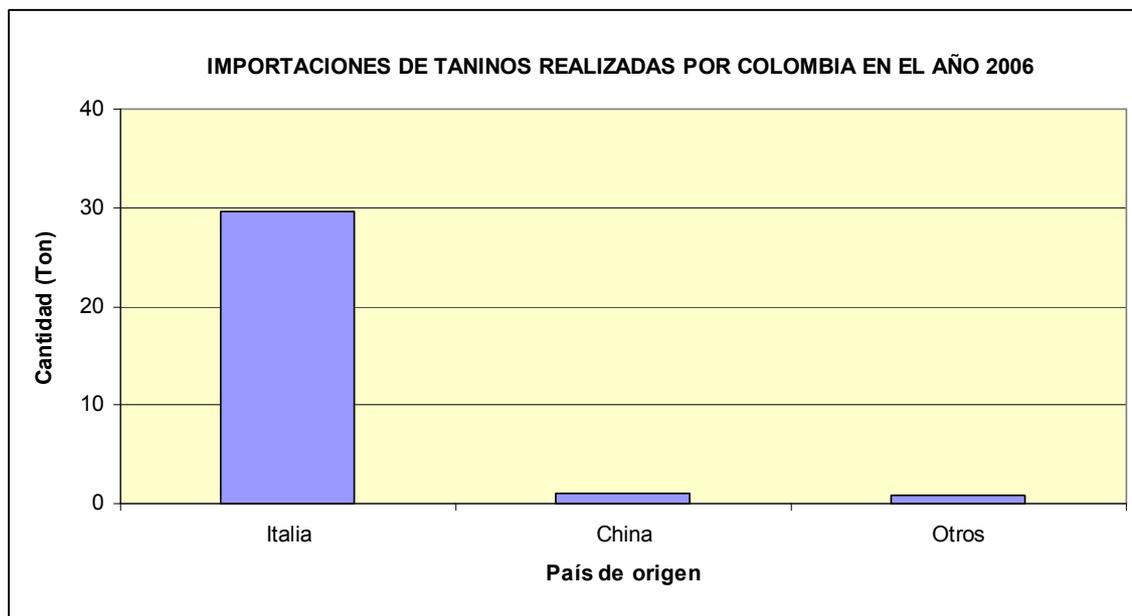


Figura 19: Importaciones de taninos realizadas por Colombia en el año 2006.



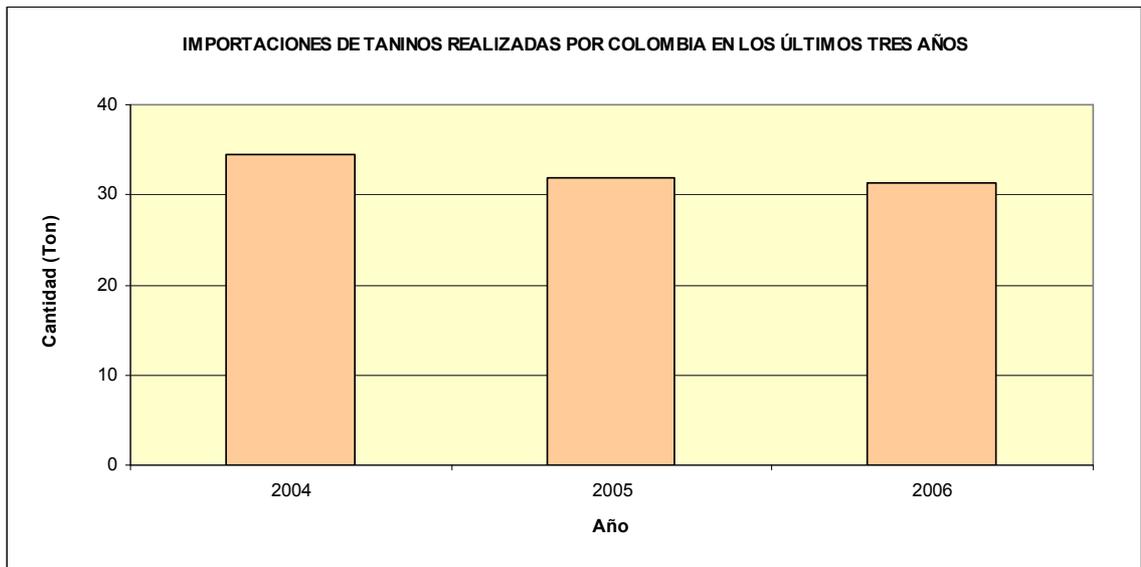
De la figura 17, puede concluirse que en el 2004, Colombia importó de la India y de Italia la mayor cantidad de taninos, con un 50,66% y 45,66%, respectivamente, del total importado ese año.

En figura 18 se observa que el mayor país exportador de taninos al mercado Colombiano en el 2005 fue la India con un 54,85% del total de pectina importada en ese año, dicho porcentaje es distribuido de la siguiente manera: Luz Melida Carrillo Lozano importó un 33,69%, Tecur Ltda. un 6,268%, Químicos y reactivos Ltda. un 0,013% y AGATEX S.A. un 0,156%.

En el año 2006 la mayor cantidad de taninos ingresada al país provino de Italia con un 94,2% de las importaciones totales de ese año, dicho porcentaje corresponde un 93,95% a Luz Melida Carrillo Lozano, un 0,238% a Agatex s.a. y un 0,0063% a Químicos y Reactivos Ltda.

Por último es importante destacar la cantidad total de taninos importada a través de los tres últimos años como se muestra a continuación:

Figura 20: Importaciones de taninos realizadas por Colombia en los últimos tres años.



En la figura 20 puede observarse como a través de los años el uso de taninos ha ido disminuyendo progresivamente, en el 2004 se importaron 34,538 toneladas de taninos, mientras que en el 2005 se importaron 2,635 toneladas menos de las que se importaron en el 2004 y en el 2006 se importaron 0,50569 Ton menos de las importadas en el año anterior.

A nivel regional, uno de los distribuidores de taninos es la empresa Filtración y Análisis Ltda., la cual ofrece tanto ácido tánico como catequina en diferentes presentaciones como son:

Tabla 6: Precios del ácido tánico y la Catequina.

Tipo de tanino	Precio/unidad (\$/Kg)
Ácido tánico	1.290.100
(+) Catequina	508.300

Fuente: (Filtración y análisis Ltda.)

Con el estudio de mercado realizado para los taninos, mostrado anteriormente, puede concluirse que el precio por kilogramo es muy alto, debido a que la mayor cantidad de taninos consumidos en Colombia es importada.

Lo anterior puede ser una de las mayores razones por las cuales el consumo de taninos en la industria del cuero ha venido decayendo en el tiempo, ya que las curtimbres actualmente usan el cromo como agente curtiente en sus procesos.

Es necesario entonces, analizar la posibilidad de obtener taninos de diferentes frutas nacionales desperdiciadas en el campo, tal es el caso de la Algarroba, empleando de ésta manera la vaina exterior y las semillas de la misma para tal fin, haciendo un aprovechamiento integral de dicho fruto.

De dicha manera se pueden ofrecer taninos nacionales a menor precio, pudiendo ser aprovechados como agente curtiente en la industria del cuero.

..

5. METODOLOGÍA

5.1. Metodología para la obtención de Pectina

Las condiciones del proceso de obtención de pectina, según la literatura son: pH entre 3.5, 70°C de temperatura y 60 min de hidrólisis. (Delgado, 2000).

Igualmente en el proyecto de investigación “Diseño de un proceso para la obtención y purificación de pectina a partir de subproductos del beneficio del café” se proponen las siguientes condiciones: 100 gr o 300 gr de materia prima a tratar, 5 ml de ácido muriático, con una temperatura y tiempo de hidrólisis de 80°C y 20 minutos, respectivamente. (Sierra, 2007)

Los resultados obtenidos con las condiciones arriba mencionadas no fueron positivos, ya que al realizar los análisis respectivos en el espectro infrarrojo, no se detectaron grupos éster característicos, por lo que se optó por trabajar con el método de ensayo y error, tomando como variable de respuesta la presencia del grupo éster en el espectro infrarrojo. La prueba era aceptada si dicho grupo aparecía y sino, era necesario cambiar algunas de las variables.

5.1.1. Equipos utilizados

Los equipos usados en la obtención de pectina a partir de la Algarroba se muestran en la tabla 7.

Tabla 7: Equipos usados en la obtención de pectina.

EQUIPO	ESPECIFICACIONES	CONDICIONES DE OPERACIÓN
Licuadaora	Osterizer classic	N.A
Vidriería	N.A	N.A
Plancha de Agitación magnética y calentamiento	Marca: Corning Modelo: PC-420. Laboratory Stirrer	N.A
Centrifuga	Marca: Hettich Modelo: Universal 16	RPM: 4000 Tiempo: 10 min.
Balanza electrónica	Marca: Ohaus Modelo: TS 600 Capacidad máx: 600gr	N.A
Espectrofotómetro	Software: Spectrum BX Modelo: FT-IR System Marca: Perkin Elmer	Rango de Longitud de onda (λ) cm^{-1} : 450 -4000
Estufa	Marca: Heraeus Modelo: TU 250	Temperatura: 40°C
pHmetro	Marca: Metrohm Modelo: 744	pH: Entre 3 y 4

5.1.2. Materiales utilizados

La cantidad de materia prima utilizada para la producción de pectina a partir de la Algarroba varía según la cantidad que se desee producir de dicha sustancia. La materia prima consiste básicamente en:

Tabla 8: Materia prima usada en la obtención de pectina.

Sustancia	Detalle	Uso	Proveedor
Ácido muriático	al 25%	Proceso de Hidrólisis	Productos Químicos Panamericanos S.A.
Etanol	al 95%	Precipitación de la pectina	Fábrica de Licores de Antioquia (FLA)
Agua	N.A	Formación de la mezcla a tratar	Empresas Públicas de Medellín (E.E.P.P)

Pulpa de la Algarroba	N.A	Materia prima básica	Central Mayorista de Antioquia.
Pectina Comercial (Rapid set y Slow set)	Obtenidas de la naranja	Son usadas como estándar en el análisis del espectro infrarrojo (IR)	Bell Chem Internacional S.A.

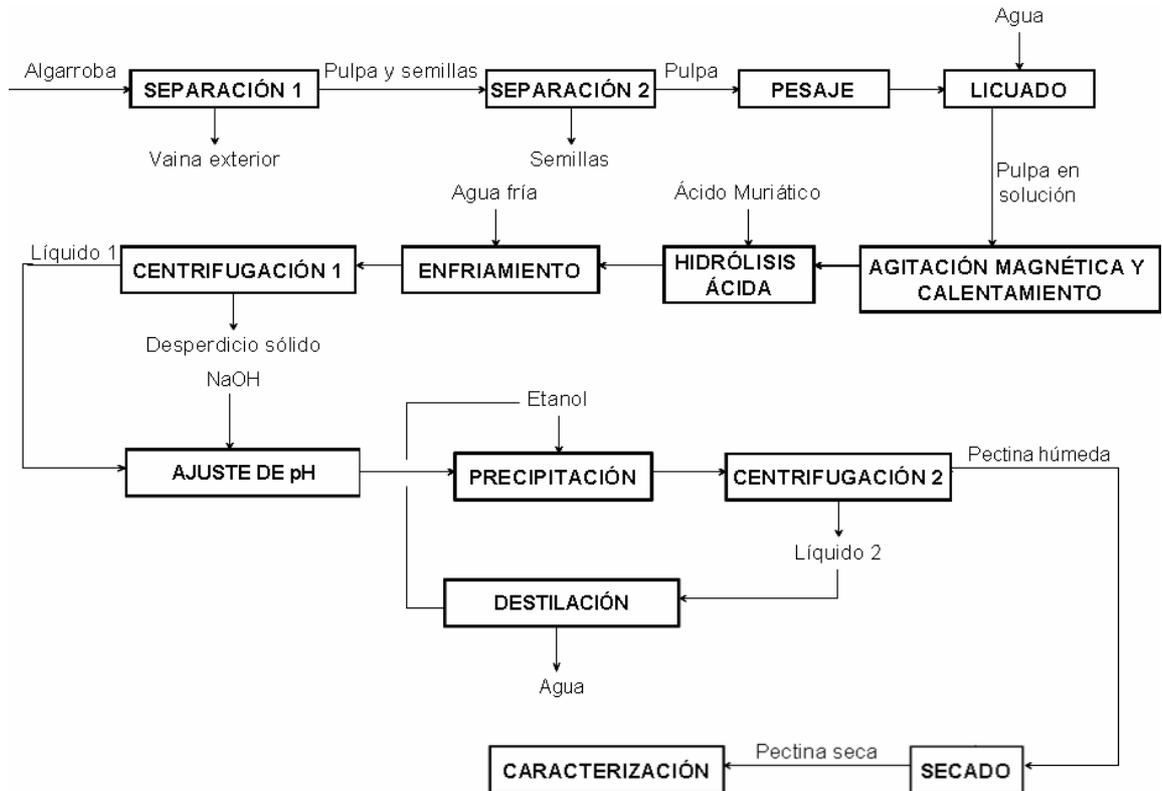
El Bromuro de Potasio (KBr), se usa como soporte en la elaboración de la pastilla para la toma del Espectro infrarrojo (IR) y lo suministra la empresa Filtración y Análisis Ltda.

5.1.3. Procedimiento General

El procedimiento general para la obtención de pectina de diferentes materias primas no varia, en su esencia es el mismo para todas, todos cuentan con un proceso de hidrólisis, un proceso de separación y otro de precipitación, ya sea con etanol o con otro solvente.

El procedimiento general para la obtención de pectina a escala de laboratorio se muestra en el diagrama BFD de la figura 21, en éste se tienen en cuenta todas las etapas necesarias para la producción de pectina a partir de la pulpa de la Algarroba.

Figura 21: Diagrama BFD de la producción de pectina a partir de la Algarroba.



5.1.3.1. Descripción general del proceso

El primer paso consiste en separar las semillas y la pulpa de la vaina exterior, dicho procedimiento se realiza golpeando la Algarroba con un material duro para lograr separar dichos componentes.

Como la pulpa encierra en su interior las semillas, es necesario realizar una segunda separación, para aislar la pulpa que en este proceso es la materia prima básica.

La pulpa se pesa para determinar la cantidad de material con el cual se va a trabajar, se le agrega suficiente agua y se licúa con el fin de obtener una mezcla

completamente homogénea.

La mezcla se agita constantemente con un agitador magnético y se calienta hasta 95°C.

A la mezcla caliente se le agrega el ácido muriático requerido y se sigue calentando y agitando por un tiempo de hidrólisis entre 1 y 2 minutos.

Luego, la mezcla se enfría indirectamente con agua fría para detener el proceso de hidrólisis y realizar la primera centrifugación, en la cual se obtiene un líquido (Líquido 1) rico en pectina y un sólido que es descartado.

Al líquido 1 se le adiciona etanol comercial, con el fin de precipitar la mayor parte de pectina presente. Después de adicionar etanol, se espera que el resto de pectina precipite.

La pectina se recupera por centrifugación. El líquido sobrenadante (líquido 2), se destila para recuperar etanol y poderlo incorporar al proceso.

La pectina se seca en una estufa por convección a 40°C hasta peso constante y finalmente se caracteriza por comparación de espectro infrarrojo y por el método de Schultz.

5.1.3.2. Caracterización de la pectina

Existen varios métodos para caracterizar la pectina obtenida, en éste trabajo fueron usados dos métodos, espectroscopía infrarroja y grado de esterificación (método de Schultz).

5.1.3.2.1. Espectroscopía

5.1.3.2.1.1. Espectroscopía infrarroja (IR)

Este tipo de espectroscopia se fundamenta en la absorbancia de la radiación IR por las moléculas en vibración.

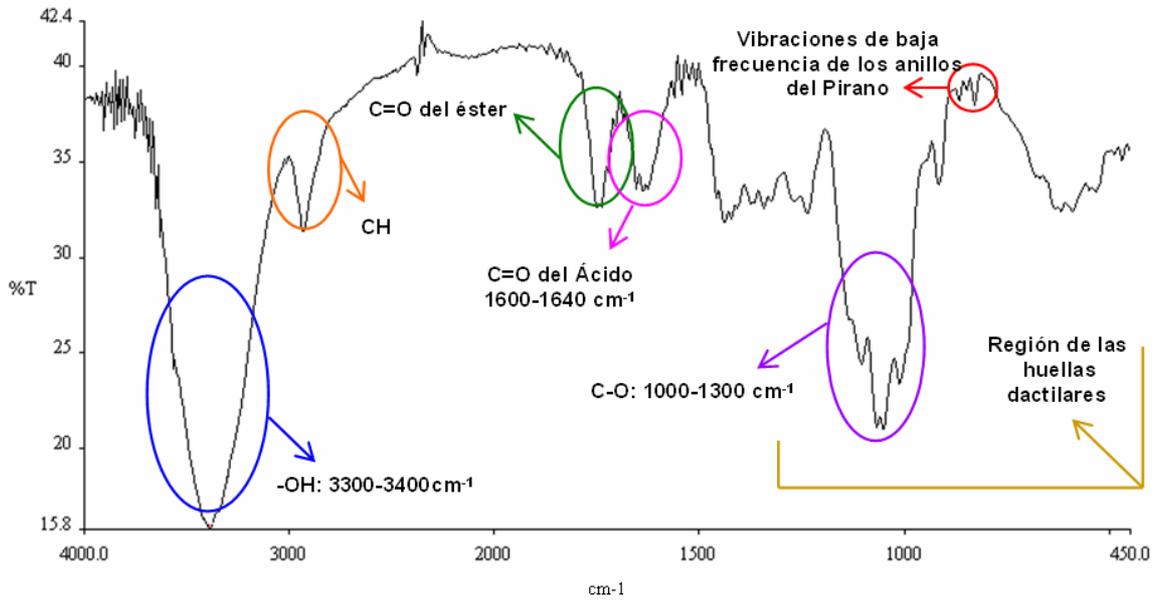
Para que cierta molécula absorba energía en el infrarrojo, es necesario que la energía incidente sea igual a la necesaria para que se de una transición vibracional de la molécula.

Si una sustancia determinada empieza a vibrar cuando se irradia con un haz de luz infrarroja, es porque dicha sustancia está absorbiendo la energía de dicho haz.

En el caso de la pectina comercial, tanto la “Rapid set” como la “Slow set”, poseen un espectro infrarrojo característico, el cual se muestra en las figuras 23 y 24 respectivamente. Dicho espectro fue tomado como estándar para analizar la pectina obtenida a partir de la Algarroba a nivel de laboratorio.

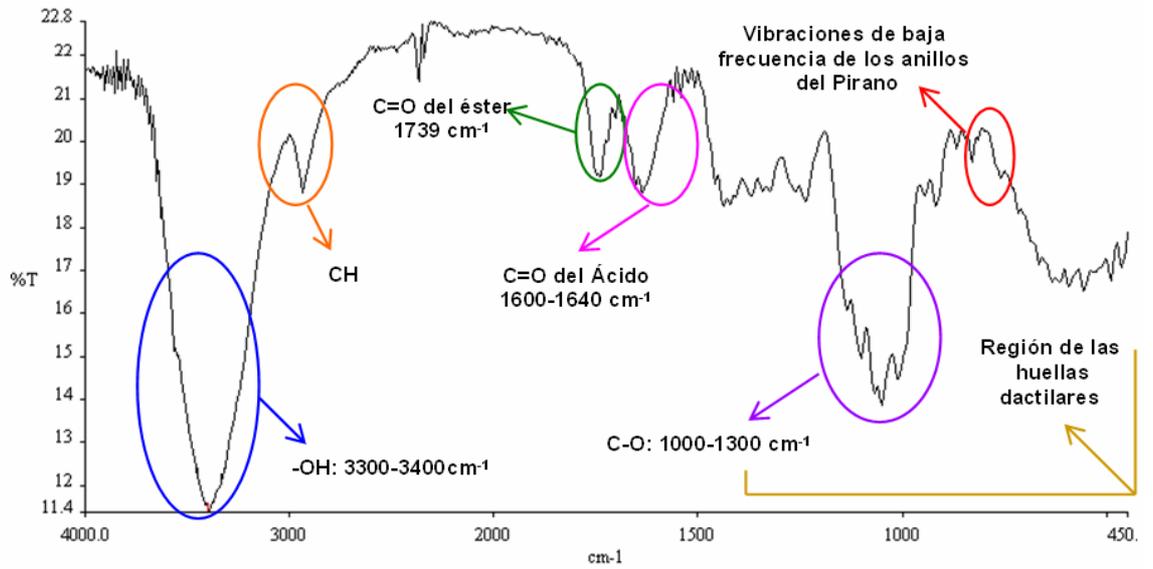
Esta metodología fue empleada para caracterizar la pectina obtenida en el proceso, para observar y analizar la cantidad de grupos éster presentes en la misma de acuerdo al porcentaje de transmitancia de dicho grupo.

Figura 22: Espectro infrarrojo de la pectina "Rapid set" estándar.



Fuente: (Kamnev A.A, 1998)

Figura 23: Espectro infrarrojo de la pectina "Slow set".



Fuente: (Kamnev A.A, 1998)

El espectro infrarrojo de la pectina muestra unos picos característicos en ciertas longitudes de onda como se observó en las figuras 22 y 23, tales picos son:

Tabla 9: Picos y longitudes de onda característicos en el espectro infrarrojo de la pectina.

Longitud de onda λ (cm^{-1})	Grupo característico
3300-3400	-OH
2942	$\nu(\text{CH})$
2653	$\nu(\text{OH})_{\text{COOH}}$
1730-1760	C=O del éster
1645	$\delta(\text{H}_2\text{O})$
1600-1640	C=O del ácido
1403	$\nu; \delta(\text{C}-\text{OH})_{\text{COOH}}$
1380	C-H
1335	$\delta(\text{CH})$
1253sh	$\delta(\text{CH})$
1226	$\delta(\text{OH})_{\text{COOH}}$
1156	$\nu(\text{COC})$ enlaces glucosídicos del anillo
1119	$\nu(\text{CC})(\text{CO})$
1085	$\nu(\text{CO}) + \delta(\text{OH})$
1034	$\nu(\text{CC})(\text{CO})$
990sh	$\gamma(\text{COOH})$ dimeros
954	$\delta(\text{CCH}), \delta(\text{COH})$
888	$\delta(\text{CCH}), \delta(\text{COH})$
830	$\gamma(\text{C}-\text{OH})$ anillo
790	$\gamma(\text{C}-\text{OH})$ anillo
760sh	Ring 'brezing'
738	$\gamma(\text{C}-\text{OH})_{\text{COOH}}$
700sh	$\gamma(\text{C}-\text{OH})$ anillo
682	Vibraciones de baja frecuencia de los anillos del Pirano

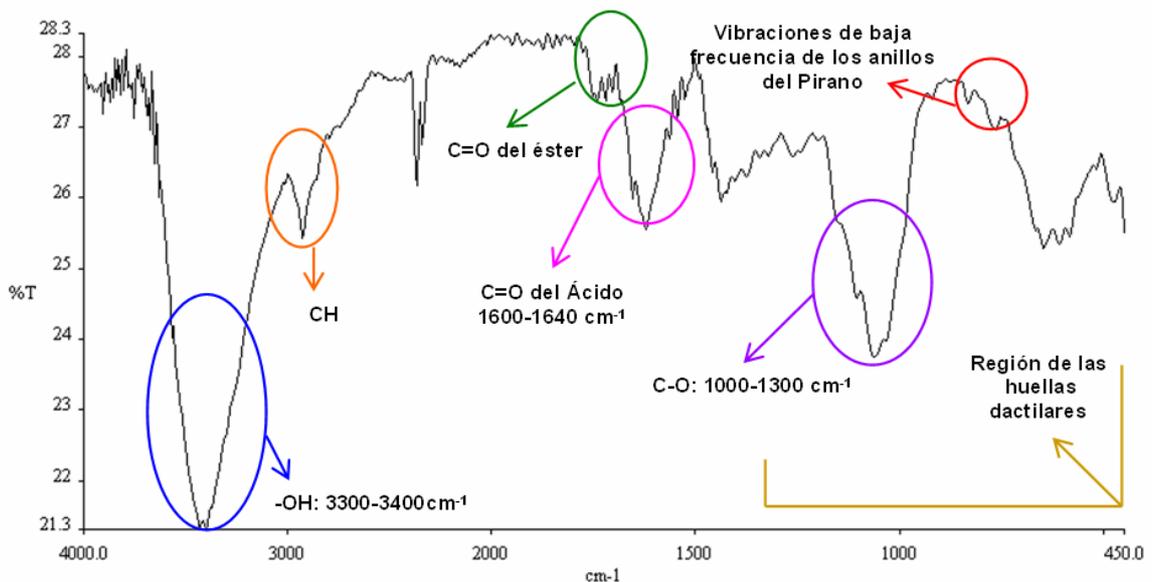
Fuentes: (Synytsya, 2003); (Kamnev A.A., 1998)

En el infrarrojo lejano como es llamada la zona que comprende las longitudes de onda entre 1300 y 400 cm^{-1} , la asignación de las bandas de absorción a vibraciones moleculares es más difícil de realizar, debido a que cada una de ellas está generada por absorciones individuales sumadas (multiplicidad de las bandas). (Universidad del país vasco, 2007).

La zona mencionada anteriormente recibe el nombre de zona de la huella dactilar y en ella ocurren flexiones de enlaces como CH, CO, CN, CC, etc. En esta zona de longitudes de onda, pequeñas diferencias en la estructura y constitución de las moléculas dan lugar a variaciones importantes en los máximos de absorción.

Al mirar con mayor detalle el espectro IR de la pulpa sin ningún tratamiento, se observa una banda en 1739 cm^{-1} , aproximadamente, que corresponde al grupo éster de una pectina, lo que indica que la pulpa posee una pequeña cantidad de pectina, aún sin hidrolizar. (Ver figura 24).

Figura 24: Espectro infrarrojo de la pulpa sin ningún tratamiento.



5.1.3.2.2. Procedimiento para hallar el Grado de metoxilación (DM)

Como se mencionó anteriormente, el grado de metoxilación de una pectina se define como el porcentaje de grupos carboxilos esterificados con metanol (número de moles de metanol por 100 moles de ácido galacturónico).

Para saber el grado de metoxilación de la pectina obtenida es necesario realizar un procedimiento denominado "Método de Schultz" el cual consiste en (Schultz, 1965):

- De la cantidad de pectina obtenida se toma 1 gr y se disuelven en 10 ml de agua.
- A la solución obtenida, se le agregan 3 gotas del indicador (en este caso fenoftaleína) y se titula con NaOH al 0.1 N. La cantidad de NaOH utilizado en la titulación es el Valor A.
- Luego se adicionan 20 ml de NaOH al 0.5 N y se deja en agitación magnética constante por media hora.
- Pasados los 30 minutos, se adicionan 20 ml de HCl al 0.5 N para neutralizar el NaOH.
- Luego, el exceso de HCl se valora con NaOH al 0.1 N. La cantidad adicionada de NaOH es el Valor B.

El % de metoxilación se calcula por la ecuación 1:

Ecuación 1: Método de Schultz.

$$\%DM = \frac{ValorB}{ValorA + ValorB} * 100$$

5.1.4. Ensayos preliminares

La obtención de pectina a partir del Algarrobo cuenta con un procedimiento general como se mostró anteriormente, pero este procedimiento puede sufrir modificaciones según:

- La cantidad de solución agua-pulpa que se vaya a tratar
- La cantidad de ácido muriático adicionado.
- El tiempo de hidrólisis

Las demás condiciones como lo son la temperatura de hidrólisis y la temperatura del secado de la pectina, permanecen constantes al variar las condiciones arriba mencionadas.

Antes de encontrar las mejores condiciones para producir pectina a partir de la Algarroba a escala de laboratorio, se llevaron a cabo varios ensayos preliminares entre los cuales se encuentran:

Tabla 10: Ensayos preliminares y condiciones de operación.

Número del ensayo	Peso de la pulpa (gr)	Cantidad de solución (ml)	Cantidad de ácido muriático (ml)	Tiempo de hidrólisis (min)
1	33	200	5	30
2	33	200	10	30
3	33	200	15	30
4	33	200	5	10
5	33	200	5	15
6	33	200	5	20
7	20	200	5	2
8	20	200	5	4
9	20	200	5	2
10	20	200	5	1
11	20	200	5	5
12	20	200	5	0.5
13	20	200	2	2
14	10	100	2	1
15	20	200	2	1
16	20	200	10	1

Los ensayos preliminares se realizaron con base en los tratamientos sugeridos por el programa STATGRAPHICS Plus 5.0.

En conclusión fueron 16 experimentos preliminares de los cuales se obtuvieron diferentes resultados y permitieron realizar el siguiente diseño de experimentos.

5.1.5. Diseño de experimentos

El análisis se realizó con un diseño factorial, en donde se analizan tres de las variables más críticas del proceso de obtención de pectina a partir de la Algarroba, como la cantidad de solución a tratar, la cantidad de ácido adicionada en el

proceso de hidrólisis y el tiempo de la misma.

Los elementos principales del diseño realizados son:

Tabla 11: Elementos del diseño de experimentos realizado.

Elemento	Asignación		Observaciones
Factores bajo estudio	<ol style="list-style-type: none"> 1. Cantidad de solución a tratar en ml (CS). 2. Cantidad de ácido muriático adicionada en ml (CA). 3. Tiempo de hidrólisis en min (t). 		<p>Se consideran como las variables más influyentes para obtener pectina según ensayos preliminares.</p> <p>Tanto la temperatura de la hidrólisis, como el pH y la temperatura del secado son variables que en todos los tratamientos analizados se mantuvieron constantes.</p>
Niveles del factor	Nivel 1 100 ml 2 ml 1 min	Nivel 2 200 ml 5 ml 2 min	Diseño de experimentos de dos niveles y tres factores en estudio, lo que corresponde a un Diseño de Experimentos factorial 2^3
Variable de respuesta	Relación obtenida entre la transmitancia del ácido y la transmitancia del éster en el espectro infrarrojo		La Relación esta dada como: $\%T_a / \%T_e$
Unidad experimental	Pulpa de la Algarroba		-----
Numero de replicas	Dos (2)		-----
Nivel de significancia (α)	0.05		-----
Hipótesis	Hipótesis nula: $H_0: \mu_A = \mu_B = \mu_C$		Todas las medias son iguales, es decir no hay interacción entre los factores analizados.

En la tabla 12 se presentan los datos obtenidos en el diseño de experimentos y la relación obtenida para cada nivel escogido. La relación obtenida de cada uno de los tratamientos analizados fueron los datos de entrada para el software STATGRAPHICS Plus 5.0. y ésta dada por la ecuación 2.

Ecuación 2: Variable de respuesta en el Diseño de Experimentos.

$$Relación = \frac{\%T_a}{\%T_e}$$

Tabla 12: Datos ingresados en el software STATGRAPHICS Plus 5.0.

Bloques	CS (ml)	CA (ml)	t (min)	Relación
1	200	5	2	0,922
1	200	2	2	0,988
1	100	2	2	0,962
1	100	2	1	1,050
1	200	5	1	0,984
1	100	5	1	0,984
1	100	5	2	0,916
1	200	2	1	0,979
2	100	5	1	0,985
2	100	2	1	1,060
2	200	5	2	1,000
2	200	2	1	0,983
2	200	5	1	0,989
2	100	2	2	0,902
2	200	2	2	1,002
2	100	5	2	0,994
3	100	5	2	0,970
3	100	2	2	0,946
3	200	5	1	0,992
3	100	2	1	1,040
3	200	2	1	0,970
3	200	5	2	0,923
3	100	5	1	0,979
3	200	2	2	0,980

Para realizar un análisis de la varianza de la variable de respuesta, se realiza el siguiente cálculo:

Ecuación 3: Cálculo de la varianza

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2}{n}$$

Fuente: (Moreno, 1998)

$$S^2 = \frac{0.0347}{24}$$

$$S^2 = 0.001449$$

Con base en la varianza obtenida, la agrupación de los valores conseguidos en torno a la media es grande y la variable de respuesta es concentrada con respecto a la media, es decir, la desviación de la variable de respuesta con respecto a la media aritmética es mínima.

Para detectar cuales factores influyen en la varianza de los datos obtenidos, se realizó un análisis de la misma mediante la tabla ANOVA mostrada a continuación.

5.1.5.1. Tabla ANOVA

Con los datos de la tabla 12 se obtuvo la siguiente tabla ANOVA:

Tabla 13: ANOVA obtenida del diseño de experimentos.

EFFECTOS	Suma de cuadrados	Df	Media cuadrada	F-Ratio	P-Value
A: CA	0,00207948	1	0,00207948	3,44	0,0823
B: CS	0,00023688	1	0,00023688	0,39	0,5404
C: t	0,0100287	1	0,0100287	16,57	0,0009
INTERACCIONES					
AB	0,00006936	1	0,00006936	0,11	0,7393
AC	0,00053393	1	0,00053393	0,88	0,3615
BC	0,00440646	1	0,00440647	7,28	0,0158
ABC	0,00772568	1	0,00772568	12,77	0,0025

Los "P-value" prueban el valor estadístico de cada uno de los factores analizados. Como se observa en la tabla ANOVA obtenida, tres P-value son menores al nivel de significancia (α) de 0.05, dichos efectos e interacciones son: el tiempo de hidrólisis (Efecto), la cantidad de solución y el tiempo de hidrólisis (Interacción) y los tres factores juntos (cantidad de solución, cantidad de ácido y tiempo de hidrólisis).

Al tener "P-value" menores al nivel de significancia, se concluye que estos factores tienen un efecto estadístico significativo en la variable de respuesta (Relación) con una confiabilidad del 95%.

El "F-Ratio" muestra la influencia estadística que posee cada elemento con respecto a la variable de respuesta. En la tabla 13 se puede observar que a medida que el "P-value" es menor el "F-Ratio" correspondiente es mayor.

A medida que el "F-Ratio" incrementa, la influencia estadística de los factores sobre la variable de respuesta es mayor.

Con lo mencionado anteriormente se concluye que el efecto que mayor influencia estadística posee sobre la variable de respuesta es el tiempo de hidrólisis, ya que tiene un "P-value" menor al nivel de significancia y el "F-Ratio" correspondiente es mayor al de los demás efectos e interacciones analizados.

De la tabla 13 se puede observar que el segundo factor que mas influencia tiene sobre la variable de respuesta es la cantidad de solución, ya que al analizar cada una de sus interacciones con el tiempo se generan altos valores de "F-Ratio", lo que no ocurre con las demás interacciones.

5.1.5.2. *Tabla de los grupos homogéneos*

Analizando cada uno de los factores, se obtiene la tabla de los grupos homogéneos, en la cual se estudian los dos niveles establecidos en cada uno de los factores, comparando sus medias, pudiendo concluir de ésta manera si hay una diferencia estadística significativa entre los dos niveles fijados.

La tabla de los grupos homogéneos fue desarrollada a partir del método de Tukey HSD, el cual se basa en el supuesto de que las μ medias de la muestra se basan en muestras aleatorias independientes, cada una de las cuales contiene el mismo número de observaciones. (Mendenhall, 1997)

Del mismo modo, dicho procedimiento selecciona una distancia crítica entre las medias, de modo que el error de concluir que existe una diferencia entre dos medias de tratamiento, cuando en realidad son idénticas, queda reducido a un error de experimentación. (Mendenhall, 1997)

A continuación se muestra la tabla de grupos homogéneos de cada uno de los factores analizados, dicha tabla fue obtenida utilizando el método de Tukey HSD.

Tabla 14: Tabla de grupos homogéneos de cada uno de los factores analizados en el diseño de experimentos, utilizando el método de Tukey HSD.

Factor	Nivel	Valor	Cantidad	Media	Grupos homogéneos	
CS (ml)	1	100	12	0,982342	X	
	2	200	12	0,976058		X
CA (ml)	1	2	12	0,988508		X
	2	5	12	0,969892	X	
T (min)	1	1	12	0,999642		X
	2	2	12	0,958758	X	

Los grupos homogéneos se generan cuando un conjunto de datos estadísticos tienen características similares. Por ejemplo, si en la tabla de grupos homogéneos los datos de los diferentes niveles del factor tienen un solo sentido, se tienen diferencias homogéneas entre los niveles del factor.

Si los niveles analizados tienen todos los grupos o factores homogéneos, se considera que entre ellos no existe una diferencia estadística significativa, lo que indica que con cualquier factor escogido se alcanzan los mismos resultados frente a la variable de respuesta.

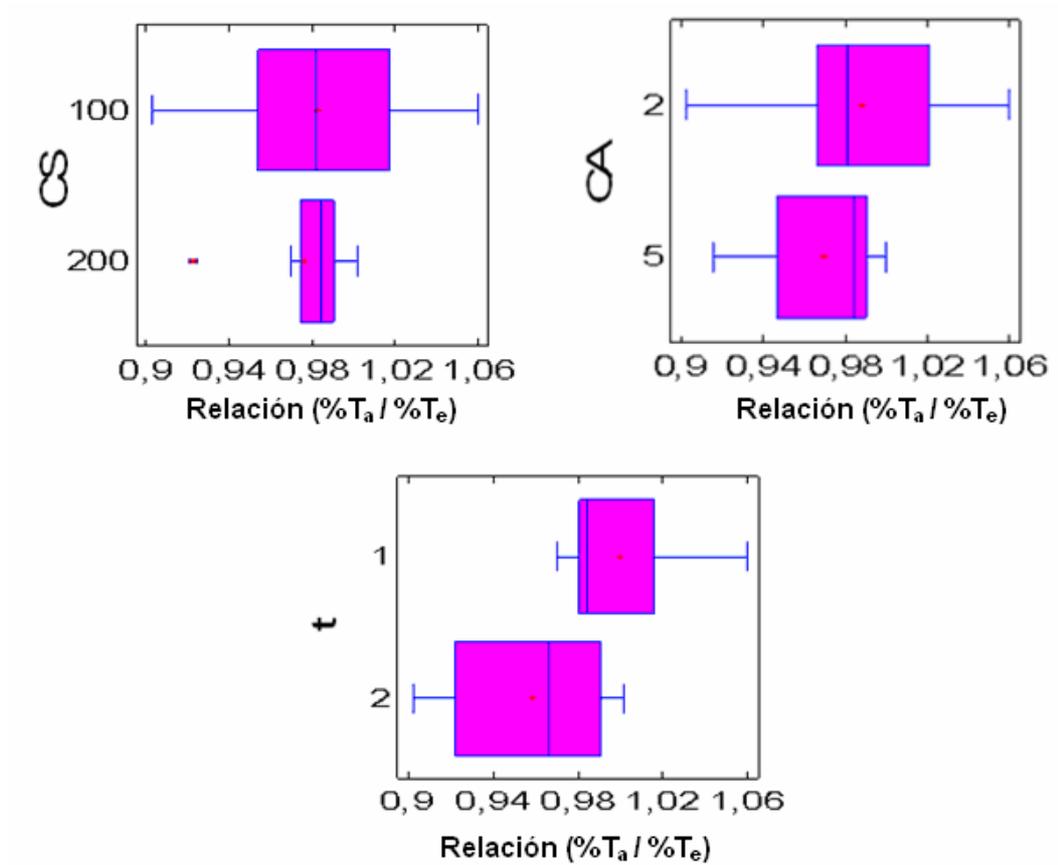
En la tabla 14 puede observarse que los dos niveles analizados de cada factor posee grupos no homogéneos, lo cual indica que cada factor posee una diferencia estadística significativa sobre la variable de respuesta.

Con base en lo anterior es necesario escoger de cada factor, aquel nivel que presente mayor valor en la media, ya que así se elegiría el tratamiento que mayor valor en la variable de respuesta arrojaría.

Se concluye entonces que la mejor combinación entre los factores para obtener una mayor relación (variable de respuesta) son: 100 ml de solución a tratar, 2 ml de ácido muriático y un tiempo de hidrólisis de 1 minuto, con una confiabilidad del 95% y dicho tratamiento es escogido como ensayo definitivo.

El diagrama de bigotes de cada uno de los factores se muestra a continuación.

Figura 25: Diagrama de de bigotes para cada uno de los factores analizados en el diseño de experimentos.



El diagrama de bigotes o diagrama de cajas, como lo llaman algunos autores, posee varios elementos como lo son (Moreno, 1998):

→ El rango intercuartil, formado por un rectángulo. Este rango indica que el 50% de la población centrada en la media se encuentra entre dichos valores. En la figura 25, puede observarse como cada nivel de los factores posee dicho rango.

- La mediana de cada uno de los niveles del factor, representada con una línea vertical dentro del cuadrado.
- El punto señalado en forma de cruz es el correspondiente a la media de cada uno de los niveles del factor.
- Las líneas horizontales muestran los límites inferior y superior de los datos, en el caso de que algún valor sea superior a alguno de los límites, se representan de forma aislada, tal es el caso del valor aislado en el factor CS en 200 ml.

5.1.6. Ensayo definitivo

Con el diseño de experimentos descrito anteriormente se puede observar que las mejores condiciones para la producción de pectina a partir de la Algarroba en el laboratorio son: 100 ml de solución, 2 ml de ácido, con un tiempo de hidrólisis de 1 minuto, ya que se genera una mayor cantidad de éster en el espectro infrarrojo.

Los pasos para obtener la pectina a estas condiciones fueron:

1. Separación de la vaina exterior de la pulpa y las semillas.
2. Separación de las semillas y la pulpa.
3. Se pesaron 10 gr de pulpa (tomada directamente de la fruta) y se les adicionó cierta cantidad de agua hasta completar 100 ml. Estos 10 gr de pulpa corresponden a 8.42 gr de pulpa seca.
4. Tanto la pulpa como la cantidad de agua adicionada se mezclaron en una licuadora, para obtener una mezcla homogénea.

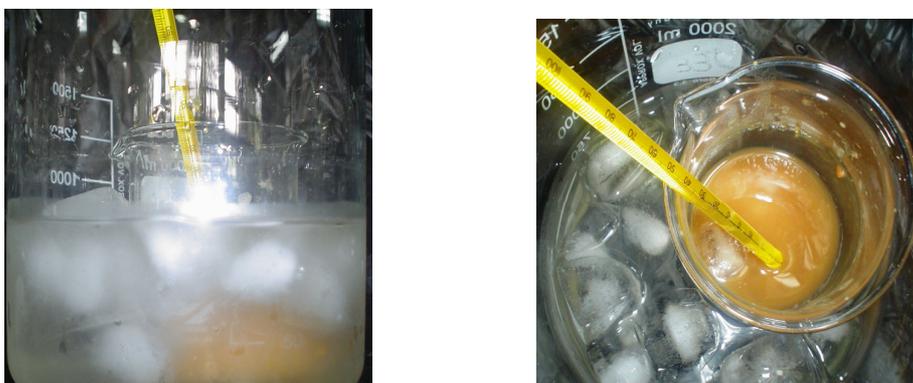
5. La mezcla obtenida se calentó a 95°C con agitación constante.
6. A estas condiciones, se agrega 2 ml de ácido muriático para convertir por hidrólisis, la protopectina en pectina. El tiempo de hidrólisis fue 1 min.

En el proceso de hidrólisis pueden utilizarse diferentes ácidos como cítrico, tartárico, málico, láctico, acético y fosfórico, pero por costo se prefieren el clorhídrico, sulfúrico y nítrico. (Canteri, 2005)

El ácido muriático (ácido clorhídrico comercial) fue escogido en el presente estudio por costo, no carboniza la materia orgánica y es menos oxidante que el nítrico.

7. El proceso de hidrólisis se suspende enfriando indirectamente la mezcla hasta 30°C.

Figura 26: Enfriamiento superficial después de la hidrólisis.



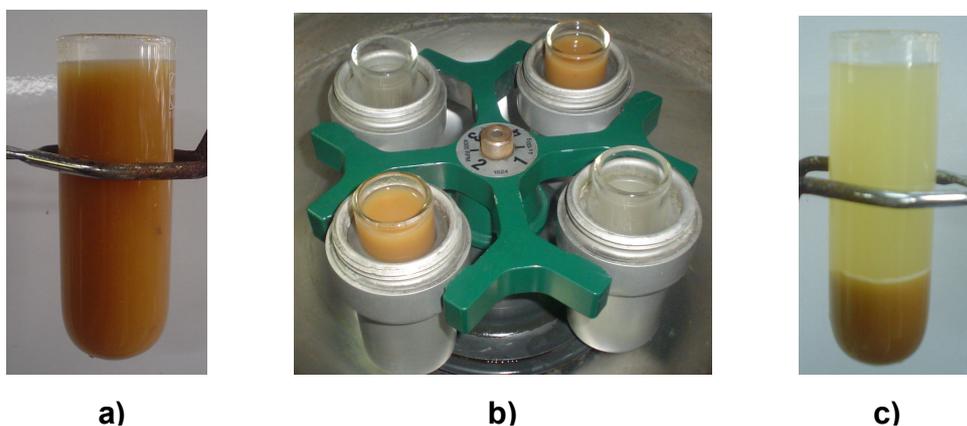
8. Luego se centrifuga en frío (ver figura 27a). De esta operación se obtienen dos fases: el sobrenadante (líquido 1) y un sólido que se descarta. El líquido 1 (pH entre 2.5 y 2.9) está compuesto principalmente por pectina cruda y agua. El

sólido está constituido por pulpa que no reacciona y agua. (Ver figura 27c).

Las condiciones a las cuales opera la centrifuga son: 4000 RPM y el tiempo en el que ocurre este proceso son 10 minutos, para obtener una total separación de las dos fases (Ver figura 27b).

Al liquido sobrenadante se le ajusta el pH entre 3 y 4 con suficiente NaOH al 0.1 N de concentración.

Figura 27: Primer proceso de separación (Centrifugación 1).



9. El sobrenadante se trata con 150 ml de etanol comercial aproximadamente, para precipitar la pectina y separarla parcialmente la pectina del etanol y el agua.

Figura 28: Precipitación de la pectina con etanol.



10. La pectina precipitada se separa por centrifugación y la mezcla de etanol-agua se destila para recuperar la mayor parte del etanol y poderlo utilizar nuevamente en el proceso.

Figura 29: Segundo proceso de separación (Centrifugación 2).



Después del proceso de separación, se obtiene una pectina muy húmeda, por tal motivo es necesario someterla a un proceso de secado.

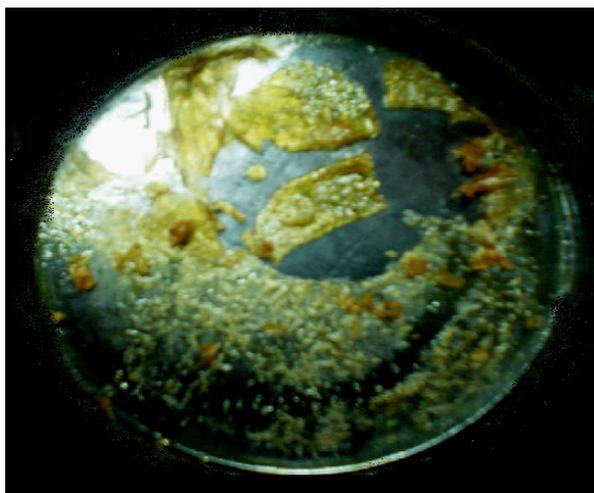
Figura 30: Pectina húmeda después del proceso de centrifugación.



11. La pectina húmeda se seca a 40°C en una estufa por convección hasta que su peso permanezca constante, luego se pesa y se caracteriza por el método de Schultz y por comparación de los espectros IR con las pectinas comerciales.

El color de la pectina obtenida fue ligeramente de café oscuro a amarillo como corresponde a la pectina comercial de la manzana. (Yates, 1999).

Figura 31: Pectina seca de la Algarroba.



La pectina seca obtenida no presenta olor o sabor particular contrario a lo que podría esperarse.

5.1.6.1. Caracterización de la pectina obtenida

5.1.6.1.1. Espectro Infrarrojo

En el diseño de experimentos, se mostró que la variable de respuesta es la relación entre el porcentaje de transmitancia del grupo ácido ($\%T_a$) y porcentaje de transmitancia del grupo éster ($\%T_e$) y concluyó que el mejor procedimiento consiste en tratar 100 ml de solución, con 2 ml de ácido muriático y un tiempo de hidrólisis de 1 min (Experimento definitivo).

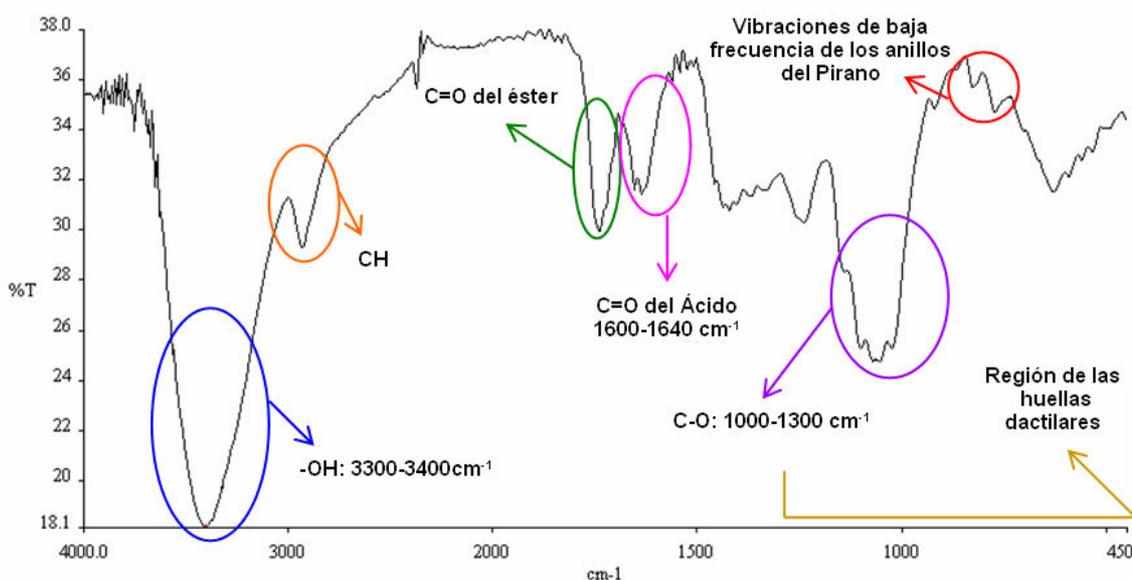
Con base en este experimento se plantea la caracterización de la pectina obtenida

con el espectro IR, en el cual se tuvo en cuenta lo siguiente:

- Todos los espectros se corrieron con pastilla de KBr.
- Se utilizaron como patrones los espectros infrarrojo de las pectinas comerciales “Rapid set” y “Slow set” de CPKelco.

El análisis de los espectros IR obtenidos y la comparación con los de las pectinas patrones se discuten a continuación.

Figura 32: Espectro infrarrojo de la pectina obtenida a condiciones de 100 ml de solución, 2 ml de ácido muriático y 1 min de hidrólisis.



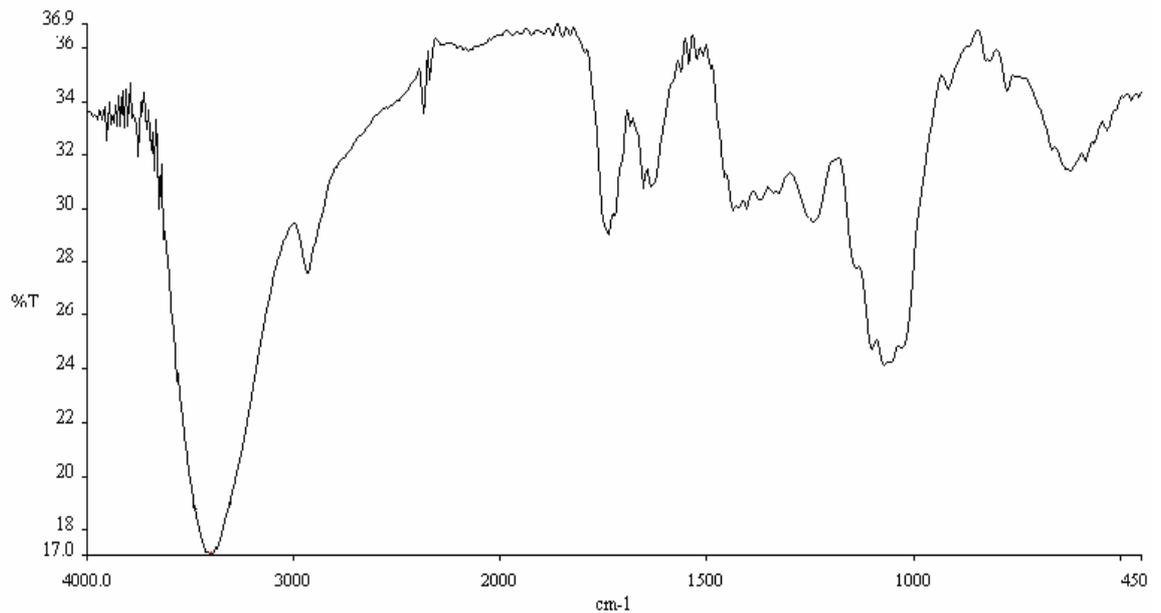
Como se observa en la figura 32, el espectro infrarrojo corresponde al de una pectina de alto metoxilo, ya que el grupo éster (1739 cm^{-1}) presenta una banda más extensa que la banda del ácido ($1600\text{ y }1640\text{ cm}^{-1}$). Esto es $\%T_a > \%T_e$, dando una relación:

$$\%T_a = 31.47$$

$$\%T_e = 29.95$$

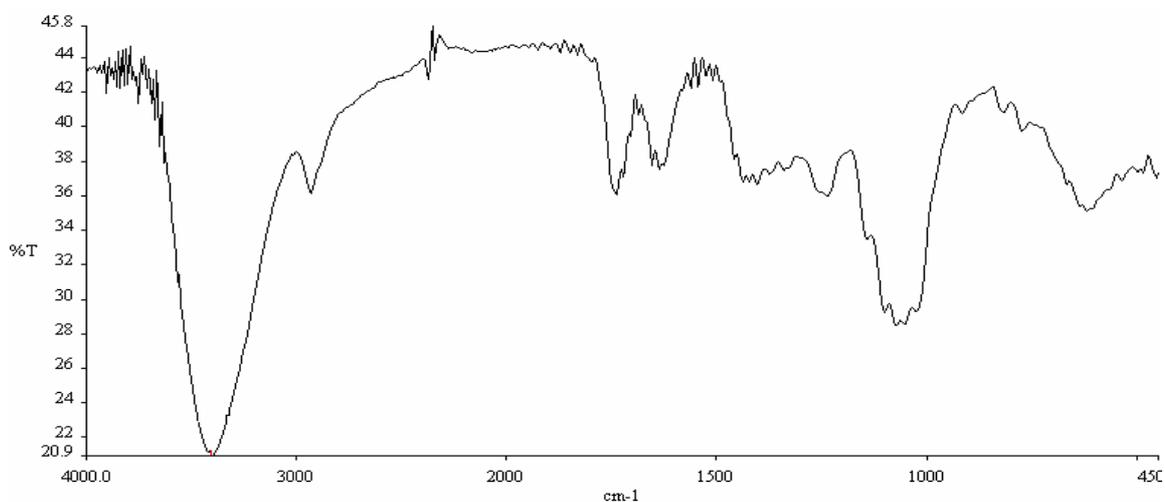
$$\text{Relación} = \frac{\%T_a}{\%T_e} = \frac{31.47}{29.95} = 1.050$$

Figura 33: Primera réplica del Experimento definitivo.



En esta réplica, el porcentaje de transmitancia del éster es mucho menor que la del ácido, esto es $\%T_a > \%T_e$ y la relación obtenida fue del 1.060, esto indica que el grupo éster está en mayor proporción que el grupo ácido.

Figura 34: Segunda replica del Experimento definitivo.



En esta última réplica se obtuvo igualmente una pectina donde el grupo éster está en mayor proporción que el grupo ácido, teniendo una relación ($\%T_a / \%T_e$) de 1.040.

Los porcentajes de transmitancia del ácido y del éster y la relación de los mismos, tanto para las muestras patrones como para los ensayos realizados aparecen en la tabla 15.

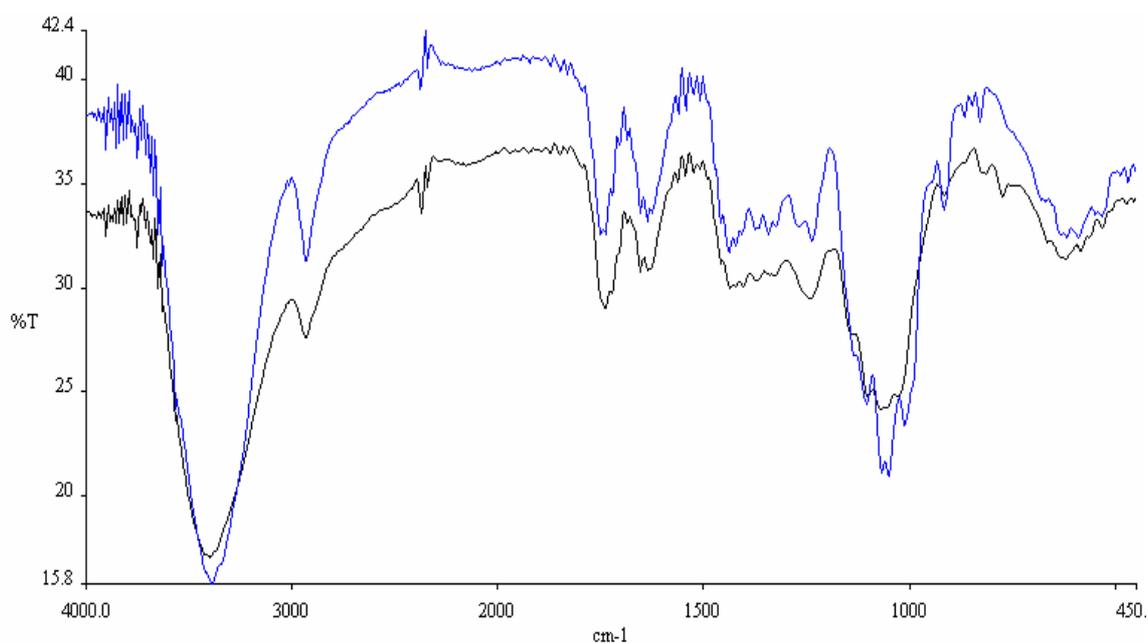
Tabla 15: Comparación de la relación $\%T_a / \%T_e$ de la pectina obtenida con la pectina comercial.

Tipo	$\%T_a$	$\%T_e$	Relación
“Rapid Set”	33.42	32.56	1.026
“Slow Set”	18.76	19.17	0.978
Ensayo definitivo	31.47	29.95	1.050
Primera replica	30.76	29	1.060
Segunda réplica	37.60	36.13	1.040

De las relaciones obtenidas tanto del experimento definitivo como las de sus réplicas, puede concluirse que la primera réplica fue la que mayor relación presentó, aún si se le compara con la pectina comercial "Rapid set". Lo mismo ocurre con los demás ensayos realizados (Ensayo definitivo y segunda réplica).

La comparación del espectro IR para la primera réplica y el de la pectina comercial "Rapid Set" se muestra en la figura 35.

Figura 35: Comparación de espectros IR entre la pectina "Rapid set" y la pectina obtenida.



El espectro mostrado en azul pertenece al de la pectina comercial "Rapid set" y el negro corresponde a la primera réplica obtenida del ensayo definitivo. En esta figura puede verse la gran similitud entre ambos espectros, las pequeñas diferencias de deben a la fuente de donde se obtiene la pectina.

5.1.6.1.2. Grado de metoxilación de la pectina obtenida

Tanto al ensayo preliminar como a las replicas del mismo, se determinó el grado de metoxilación por el método de Schultz descrito anteriormente. De igual manera cada procedimiento fue realizado por triplicado. Los resultados se muestran en la tabla 16.

Tabla 16: Resultados obtenidos por método de Schultz.

Tipo de muestra	Valor A	Valor B	Grado de metoxilación (%DM)			%DM Promedio
			Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	
Ensayo definitivo	0.7	1.3	65			70.37
	0.6	2		76.9		
	0.4	0.9			69.23	
Primera replica	0.5	2.4	82.7			80.56
	0.6	1.9		76		
	0.5	2.5			83	
Segunda replica	0.5	0.9	64.28			69.02
	0.5	1.6		76.19		
	0.6	1.2			66.6	

Igualmente, a la pectina comercial se le determinó el grado de metoxilación, arrojando los siguientes resultados:

Tabla 17: Prueba de Schultz realizada a la pectina comercial.

Tipo de pectina	Valor A	Valor B	Grado de metoxilación (%DM)			%DM Promedio
			Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	
"Rapid set"	0.4	1.8	81.8			78.45
	0.3	1.1		78.57		
	0.4	1.2			75	
"Slow set"	0.5	1	66.6			59.19
	0.6	0.7		53.84		
	0.6	0.8			57.14	

Comparando la tabla 16 con la tabla 17 se concluye que la pectina obtenida en los ensayos de cada una de las muestras (ensayo definitivo y sus réplicas) es de

alto metoxilo (HM), ya que obtuvieron valores de grado de metoxilación mayores al 50%.

Al comparar el grado de metoxilación para la primera réplica (80.96%) con el de la pectina comercial estándar “Rapid set” (78.45%), se concluye que la pectina obtenida en dicha réplica corresponde al tipo de pectina “Rapid set”.

5.1.7. Rendimiento de la pectina obtenida

Uno de los estándares de calidad más importantes de las pectinas comerciales es el grado de metoxilación. Al analizar los datos de la tabla 18, se encuentran rendimientos hasta del 33% aproximadamente; sin embargo, estos resultados no se tuvieron en cuenta porque la relación $\%T_a / \%T_e$ es menor al obtenido para el experimento que se tomó como definitivo con base en el diseño de experimentos previamente realizado.

El rendimiento para cada uno de los ensayos se muestran en la tabla 18, en ésta se tienen en cuenta las condiciones del proceso (cantidad de solución a tratar, cantidad de ácido muriático adicionado y el tiempo de hidrólisis) y la cantidad de pectina obtenida.

En los casos donde la cantidad de solución fueron 200 ml, la cantidad de pulpa tomada directamente de la fruta fueron 20 gr (16.84 gr pulpa seca) y en el caso donde fueron 100 ml, la cantidad de pulpa tomada directamente de la fruta fueron 10 gr (8.42 gr pulpa seca).

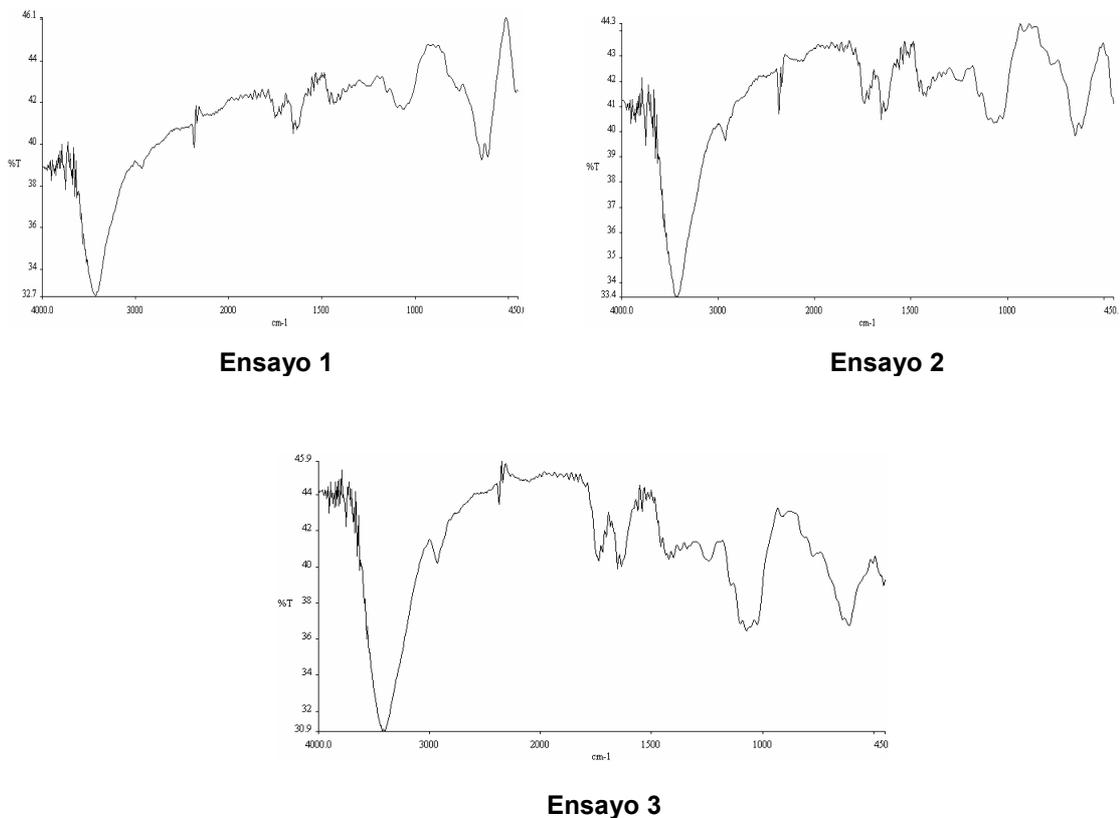
Tabla 18: Rendimiento de la pectina obtenida en los tratamientos del diseño de experimentos.

Condiciones			Ensayo	Peso de pectina (gr)	Rendimiento base seca(%)
Cantidad de solución (ml)	Cantidad de ácido (ml)	Tiempo (min)			
100	2	1	1	1.11	13.18
			2	1.16	13.77
			3	1.27	15.08
200	2	1	1	1.34	7.95
			2	1.35	8.01
			3	1.39	8.25
100	5	1	1	1.46	17.3
			2	1.8	21.3
			3	1.93	22.9
200	5	1	1	5.52	32.7
			2	2.11	12.5
			3	4.46	26.4
100	2	2	1	1.11	13.18
			2	1	11.8
			3	0.82	9.7
200	2	2	1	2.08	12.3
			2	2.02	11.9
			3	2.04	12.1
100	5	2	1	1.07	12.7
			2	1.2	14.25
			3	1.36	16.1
200	5	2	1	0.95	5.6
			2	0.94	5.58
			3	0.96	5.7

En la tabla anterior se observa que el mayor rendimiento se obtuvo en el ensayo de 200 ml de solución hidrolizados con 5 ml de ácido durante 1 minuto, sin embargo, la pectina obtenida fue mucho más oscura (casi negra) que la obtenida en el ensayo definitivo y la relación $\%T_a / \%T_e$ fue mucho menor comparada con dicho ensayo, con valores de 0.984, 0.989 y 0.992.

Los espectros IR que aparecen a continuación son un reflejo de estos valores numéricos. (Ver figura 36), allí logra verse como el porcentaje de transmitancia del grupo éster es menor a la del ácido, obteniendo de dicha manera un grado de metoxilación menor al obtenido en el ensayo definitivo (100 ml de solución, 2 ml de ácido por 1 min de hidrólisis).

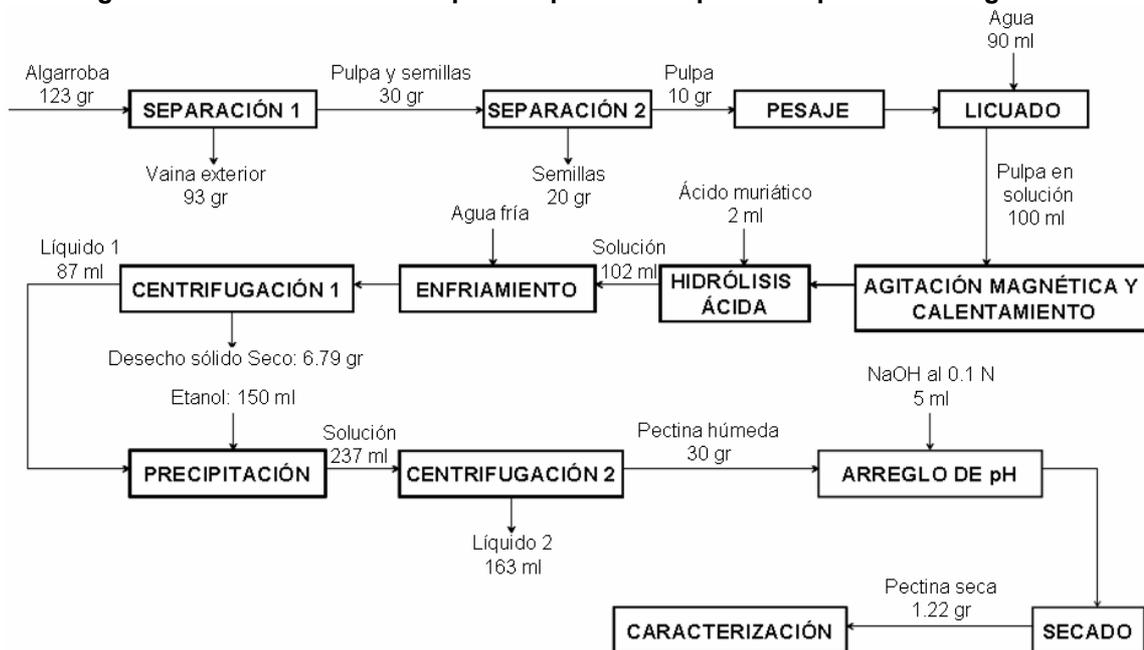
Figura 36: Espectro infrarrojo para el tratamiento con mayor rendimiento de pectina.



5.1.8. Balance de materia

El balance de materia planteado a continuación se realizó con base en la producción de 1.22 gr de pectina, con un rendimiento en base seca de 14.48%. (Ver figura 37).

Figura 37: Balance de materia para el proceso de pectina a partir de la Algarroba.



5.2. Metodología para la obtención de Taninos

El proceso de extracción de taninos de productos vegetales está basado en la extracción con agua en su punto de ebullición, en el cual la materia prima en solución se mezcla en caliente para obtener una concentración de taninos a medida que el agua se va evaporando por efectos de temperatura. (Mustacchi, 1999)

A continuación se mencionan los equipos utilizados y la materia prima necesaria para la obtención de taninos a partir de la Algarroba.

5.2.1. Equipos utilizados

Los equipos utilizados en el proceso de extracción de taninos de la Algarroba se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 19: Equipos utilizados en la obtención de taninos a partir de la Algarroba.

Equipo	Especificaciones	Condiciones de operación
Molino de cuchillas	Equipo Marca: Arthur Thomas Modelo: Willey N°1. N°serie: 1706673.	Motor Marca: Lancor-Himmel. Tipo: 48901 N°serie: 304954. R.P.M: 1690
Vidriería	N.A	N.A
Plancha de Agitación magnética y calentamiento	Marca: Corning Modelo: PC-420. Laboratory Stirrer	N.A
Centrífuga	Marca: Hettich Modelo: Universal 16	RPM: 4000 Tiempo: 10 min.
Balanza electrónica	Marca: Ohaus Modelo: TS 600 Capacidad máx: 600gr	N.A
Espectrofotómetro IR	Software: Spectrum BX Modelo: FT-IR System Marca: Perkin Elmer	Rango de Longitud de onda (λ) cm^{-1} : 450 -4000
Estufa	Marca: Heraeus Modelo: TU 250	Temperatura: 40°C
pHmetro	Marca: Metrohm Modelo: 744	pH: Entre 3 y 4
Espectrofotómetro UV	Software: Winspec Modelo: 2 PC Marca: Genesis	Rango de Longitud de onda (λ) nm: 202 - 400

5.2.2. Materia prima utilizada

Tanto en la extracción de taninos de la semilla como de la vaina exterior de la Algarroba, se usan las siguientes materias primas:

Tabla 20: Materia prima usada en la obtención de taninos.

Sustancia	Detalle	Uso	Proveedor
Agua	N.A	Solvente para la extracción	Empresas Públicas de Medellín (E.E.P.P)
Semillas y vaina exterior de la Algarroba	N.A	Materia prima básica	Central Mayorista de Antioquia.
Ácido tánico comercial	N.A.	Es usado como estándar en el análisis del espectro infrarrojo y ultravioleta.	Facilitado por la planta de tratamiento de agua San Fernando
Etanol	al 95%	Solvente en para eliminar fenoles de bajo peso molecular	Fábrica de licores de Antioquia (FLA)
Vainillina	N.A	Revelador en prueba calorimétrica	Filtración y análisis Ltda.
Ácido Muriático	al 25%	Proceso de Hidrólisis	Productos químicos panamericanos S.A.
Metanol	Al 96%	Como solvente en uno de los ensayos.	Bell Chem Internacional S.A.
Ácido gálico	N.A	Es usado como estándar en el análisis del espectro infrarrojo y ultravioleta.	Merck S.A.
Ácido pirogálico	N.A	Es usado como estándar en el análisis del espectro infrarrojo y ultravioleta.	Merck S.A.
Pirogalol	N.A	Es usado como estándar en el análisis del espectro infrarrojo y ultravioleta.	Merck S.A.
Ácido ascórbico	N.A.	Usado como antioxidante en la extracción.	Protokimica Ltda.

El Bromuro de Potasio (KBr), se usa como soporte en la elaboración de la pastilla

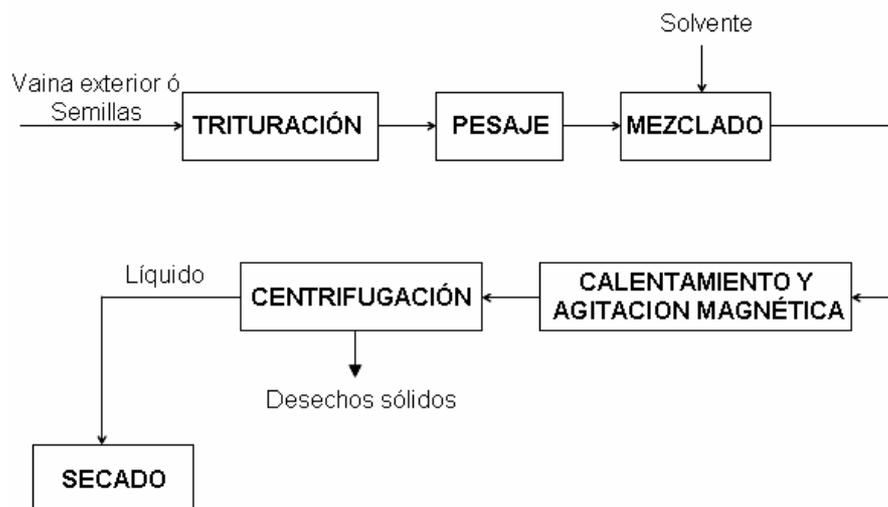
para la toma del Espectro infrarrojo (IR) y lo suministra la empresa Filtración y análisis Ltda.

5.2.3. Procedimiento

El proceso de obtención de taninos de la semilla y la vaina exterior de la Algarroba constan de cinco etapas principales, que son: trituración, mezclado, calentamiento y agitación magnética, filtración y secado.

A continuación se muestra el diagrama de bloques de dicho procedimiento.

Figura 38: Diagrama de bloques general de la obtención de Taninos.



5.2.3.1. Descripción del proceso

Son muchos y muy diversos los procedimientos que se encuentran en la literatura para extraer taninos. En el procedimiento que se describe a continuación se hizo una adaptación a varios de ellos. (Markom, 2006); (Chavan, 2001).

En el diagrama de bloques de la obtención de pectina, después de la primera y segunda separación, queda la materia prima básica para la extracción de taninos.

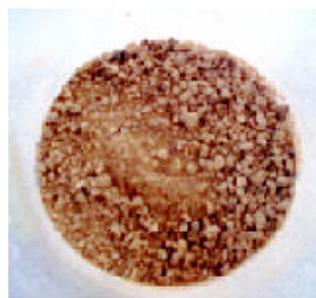
La metodología empleada fue la siguiente:

1. Moler tanto la semilla como la vaina exterior en un molino de cuchillas (Arthur Thomas) hasta obtener un material con tamaño de grano que va desde malla 16 a malla 6, con un diámetro de partícula de 1.166 mm y 3.66 mm, respectivamente.

Figura 39: Tamaño de partícula de la semilla y de la vaina exterior aptas para ser trabajadas.



Semilla triturada



Vaina exterior triturada

2. Por cada 10 gr de material sólido, utilizar 50 ml de líquido extractante. En el presente trabajo se emplearon agua y metanol por ser los más recomendados en la literatura, aunque existen otros solventes utilizados en el proceso de extracción como son en dicho procedimiento como lo son mezclas de agua-metanol, acetona, dimetil formamida. (Chavan, 2001).
3. Se hace un primer lavado con etanol que contiene 10 mM de ácido ascórbico como antioxidante, para retirar los fenoles de bajo peso molecular.

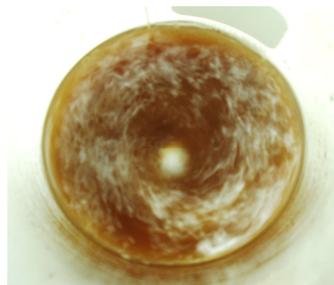
La extracción etanólica se realiza en un beaker a temperatura ambiente

durante media hora con agitación magnética. (Ver figura 40). La mezcla etanólica se centrifuga para retirar los fenoles de bajo peso molecular (sobrenadante), debido a que éstos interfieren en la caracterización de los taninos. (Ver figura 41).

Figura 40. Lavado con etanol de la semilla y la vaina exterior de la Algarroba.



Semilla



Vaina exterior

Figura 41: Proceso de centrifugación al lavado con etanol de las semillas y la vaina de la Algarroba.



Semilla

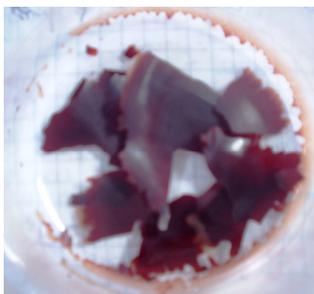


Vaina exterior

4. El sólido de color café que queda de este primer lavado se trata con agua (1:50 w/v) a 10°C o con metanol (1:50 w/v) a temperatura ambiente durante 2 horas en cada caso, con agitación magnética.
5. La mezcla acuosa o metabólica según el caso, se filtra por gravedad sobre

papel de filtro y se seca al aire antes de realizar las pruebas colorimétricas.

Figura 42: Producto extraído de la semilla y de la vaina exterior.



Producto obtenido de la Semilla



Producto obtenido de la vaina exterior

Como se observa en la figura 42, el residuo seco que se obtuvo en las extracciones tanto acuosa como metabólica, eran entre un color ligeramente amarillo y naranja. El sólido obtenido con metanol, después de estar seco no era soluble en agua.

El rendimiento del material seco obtenido con agua por el procedimiento descrito anteriormente fue en promedio del 4% en base seca.

Para correr los infrarrojos, parte del filtrado se seca por convección en una estufa a 40°C, hasta obtener peso constante.

5.2.3.2. Reacciones de reconocimiento de taninos

Para el reconocimiento de taninos existen diferentes pruebas colorimétricas que consisten básicamente en la adición de diversas sustancias a la muestra en estudio y de acuerdo a la coloración que ésta adquiere, se determina la presencia de taninos en su estructura. Dichas pruebas son:

Tabla 21: Pruebas colorimétricas para Taninos.

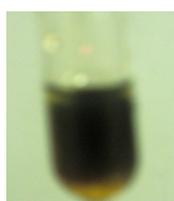
Reactivo	Tipo de tanino	Coloración
Sales férricas	Galo y Elagitaninos	Azul-negro
	Taninos condensados	Verde pardo
Yodato de potasio	Hidrolizables y condensados	Rosado
Ácido Nitroso/Ácido Acético	Elagitaninos	Rosado, púrpura, azul
Vainillina/HCl	Condensados	Rojo

Fuente: (Universidad de la República Oriental del Uruguay, 2006)

De las pruebas colorimétricas anteriores, solo se realizaron la del cloruro férrico y vainillina/HCl.

Con la prueba del tricloruro férrico, se obtuvo un color azul oscuro que corresponde a los taninos hidrolizables y con la prueba de la vainillina en presencia de HCl se obtuvo un color rosado, resultado que corresponde a los taninos condensados.

Figura 43: Pruebas colorimétricas al producto obtenido de las semillas y la vaina exterior.



**Prueba con
Cloruro Férrico**



**Prueba
Vainillina/HCl**

De las pruebas colorimétricas realizadas se concluye que aparentemente se tiene una mezcla de taninos hidrolizables y condensados, tanto en las semillas como en la vaina exterior de la Algarroba.

5.2.3.3. Espectroscopia Infrarroja

Se tienen en el laboratorio de la Universidad Eafit algunos estándares de taninos hidrolizables como: ácido tánico, ácido gálico, ácido pirogálico y pirogalol, cuyos espectros IR aparecen en las figuras 44, 45, 46 y 47, respectivamente.

Figura 44: Espectro infrarrojo del ácido tánico.

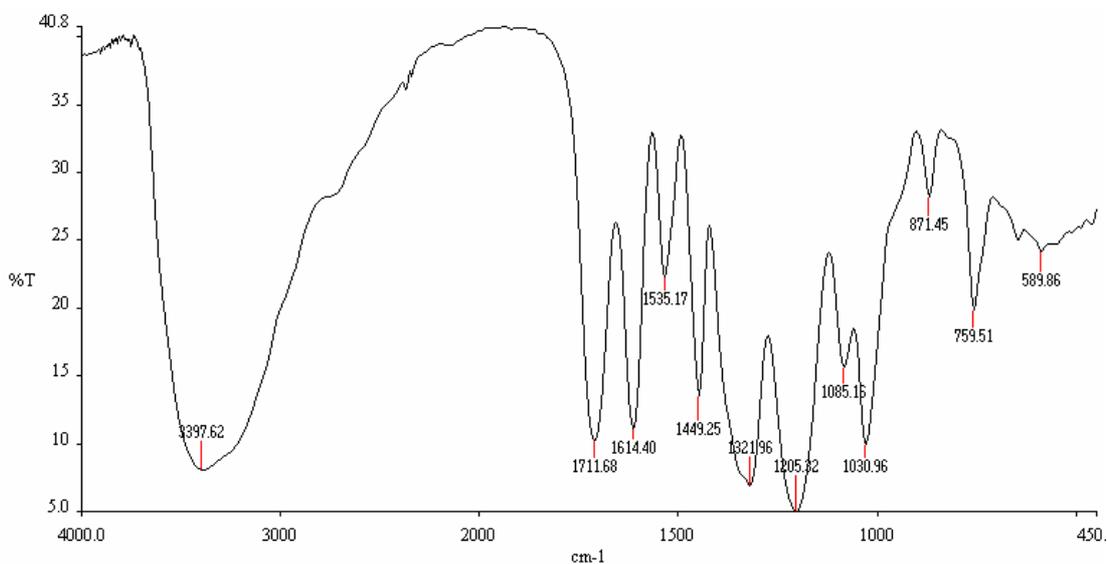


Figura 45: Espectro infrarrojo del ácido gálico.

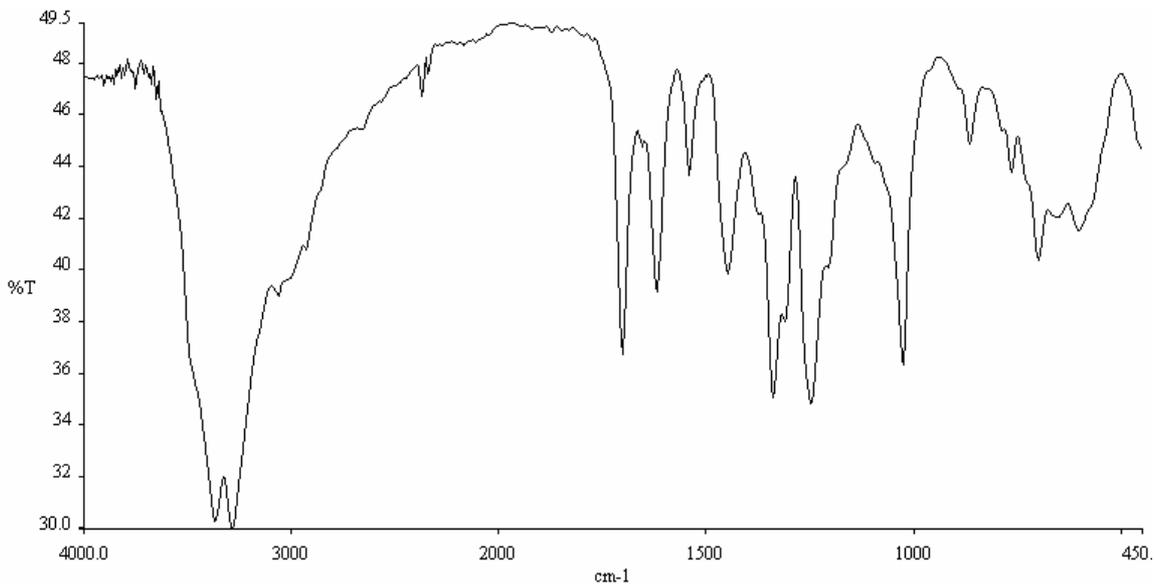


Figura 46: Espectro infrarrojo del ácido pirogálico.

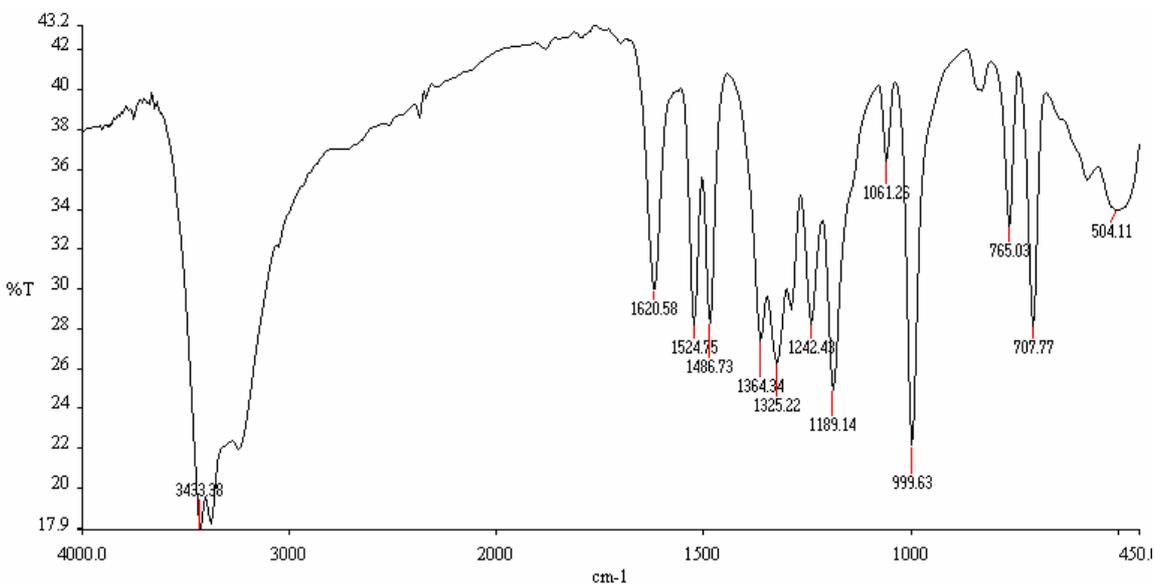
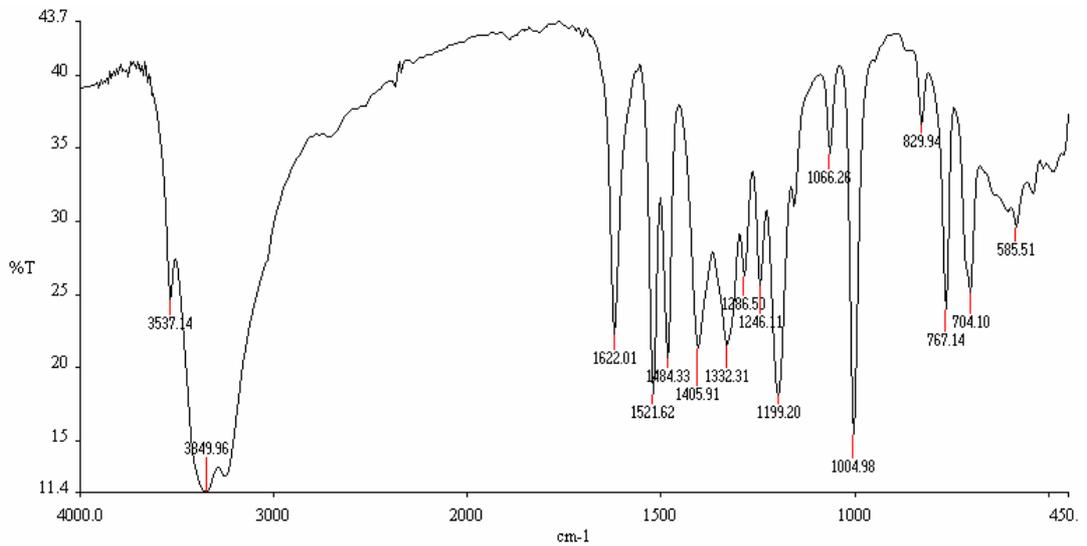
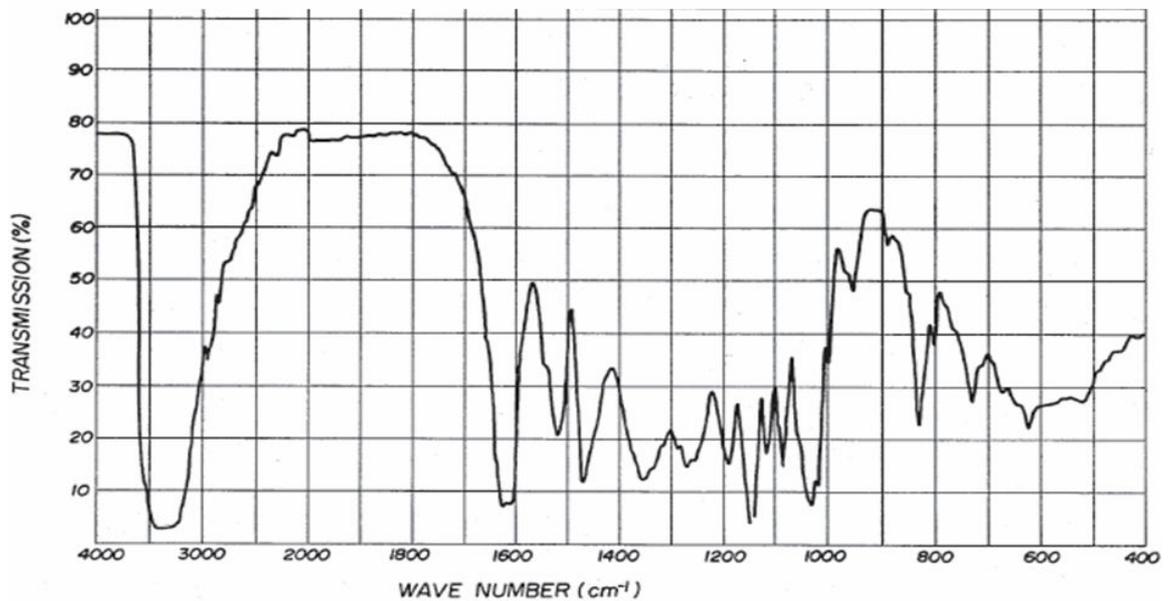


Figura 47: Espectro infrarrojo del Pirogalol.



Para los taninos condensados se tiene como espectro infrarrojo estándar el de la (-) Epicatequina, el cual es mostrado a continuación:

Figura 48: Espectro infrarrojo de la (-) Epicatequina.



Fuente: (Makurazaki, 1981)

Los espectros infrarrojos obtenidos con agua tanto de la semilla como de la vaina, aparecen en las figuras 49 y 50 y los superpuestos de estos últimos con el ácido tánico (en azul) en las figuras 51 y 52.

Figura 49: Espectro IR del producto obtenido de la semilla.

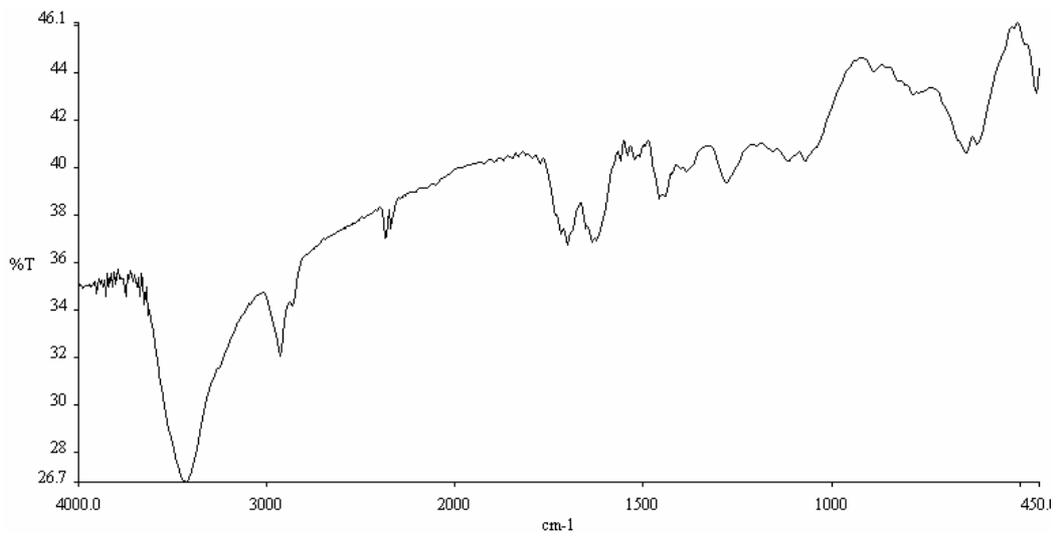


Figura 50: Espectro IR del producto obtenido de la vaina.

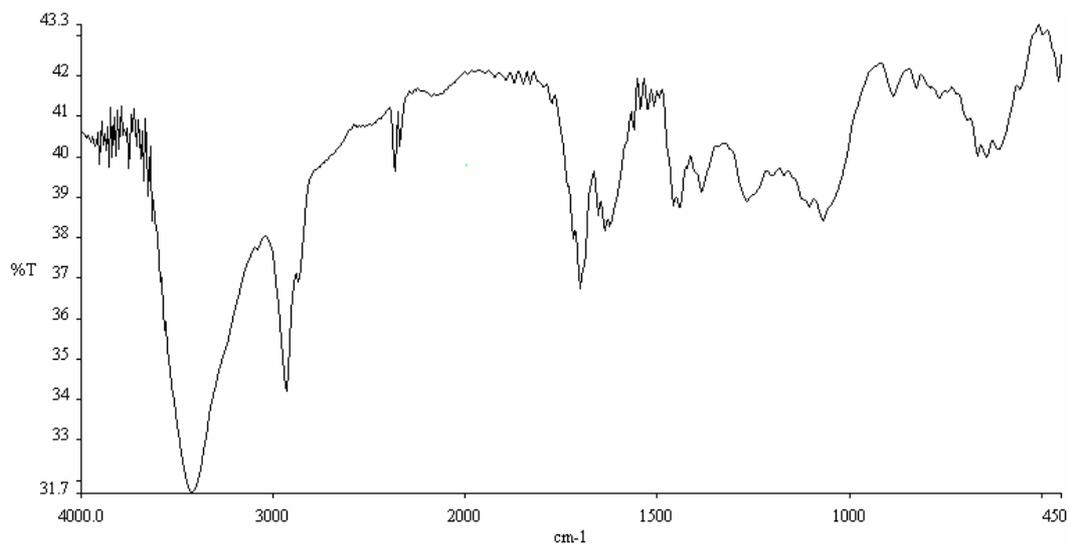


Figura 51: Comparación del espectro infrarrojo mostrado por el producto obtenido de la semilla y el del ácido tánico.

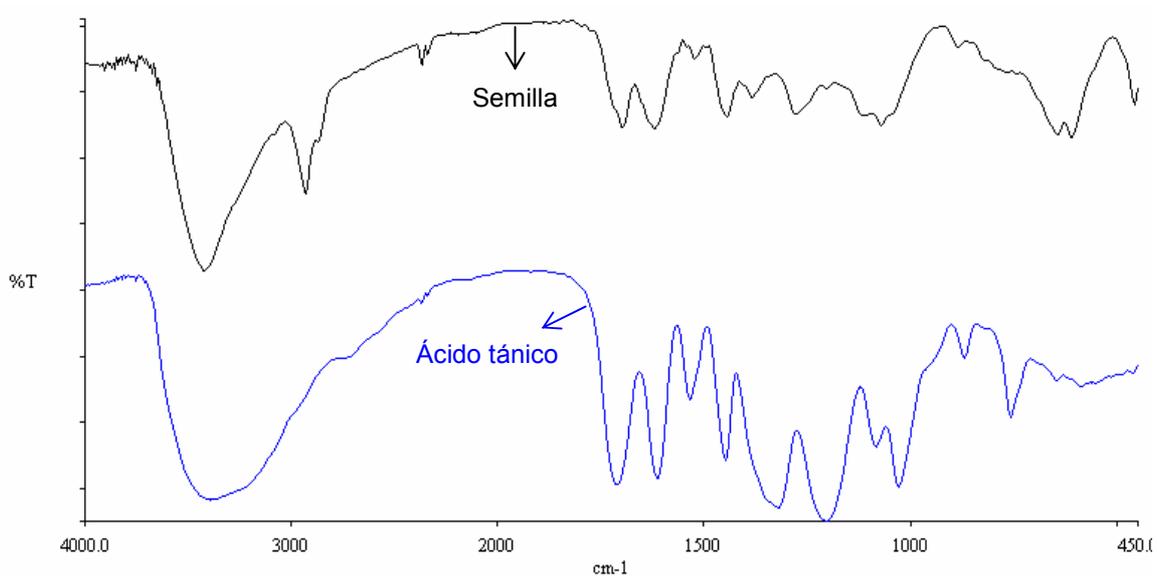
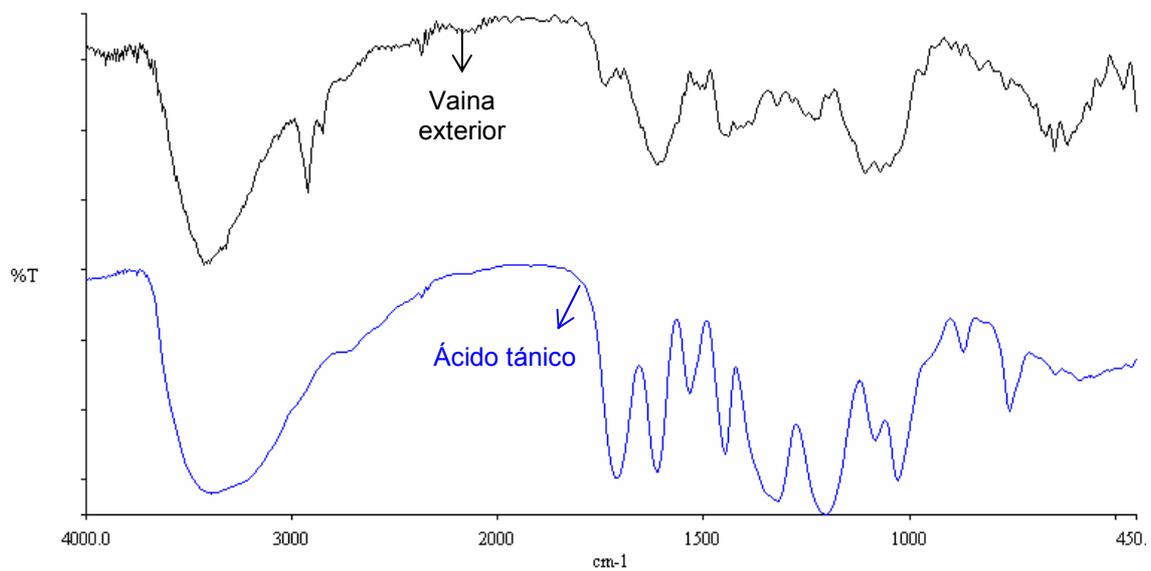


Figura 52: Comparación del espectro infrarrojo mostrado por el producto obtenido de la vaina y el del ácido tánico.



Los resultados obtenidos del análisis en el espectro infrarrojo permiten sacar las siguientes conclusiones preliminares:

- Tanto las semillas como la vaina de la Algarroba, tienen el mismo compuesto (Pruebas colorimétricas y espectro IR iguales), lo que aparentemente es un resultado lógico.
- Los espectros IR de las sustancias estándares y el producto obtenido son muy diferentes, aunque hay más coincidencias con los taninos hidrolizables (ácido tánico).
- Las sustancias obtenidas de las semillas y de la vaina, posiblemente sean una mezcla de taninos condensados e hidrolizables, como también lo indican las pruebas colorimétricas.

5.2.3.4. Espectroscopia Ultravioleta visible (UV)

Para completar el análisis del sólido obtenido de las semillas y de la vaina exterior de la Algarroba, se compararon sus espectros UV (Ver figuras 53 y 54) con los reportados en la literatura para las sustancias estándar de taninos condensados (Epicatequina, Epigallocatequina, Epicatequina Galato y Epigallocatequina Galato) y el espectro UV realizado al ácido tánico disponible en los laboratorios (tanino hidrolizable).

Los espectros UV patrones se muestran en las figuras 55 y 56.

Figura 53: Espectro UV del producto obtenido de las semillas de la Algarroba.

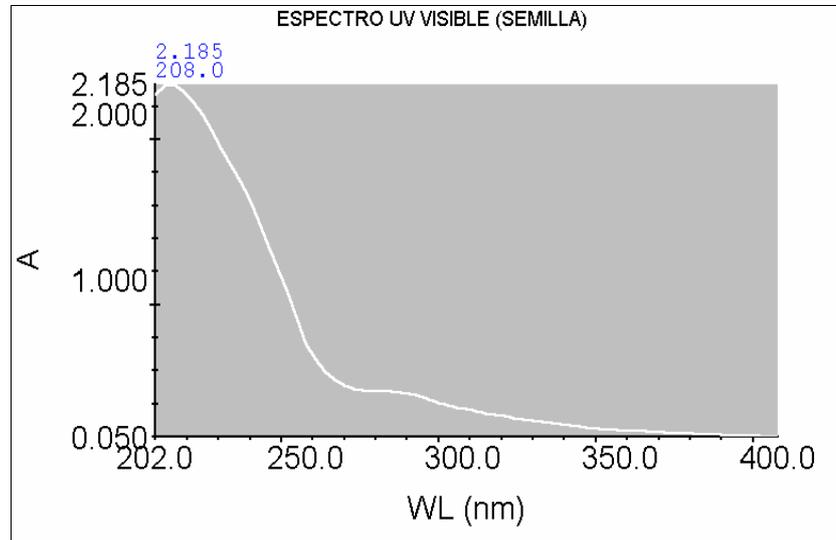


Figura 54: Espectro UV del producto obtenido de la vaina de la Algarroba.

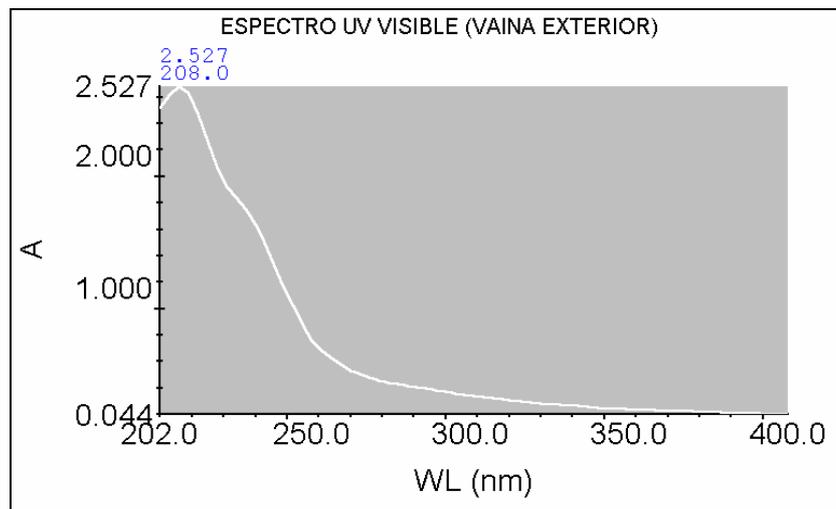
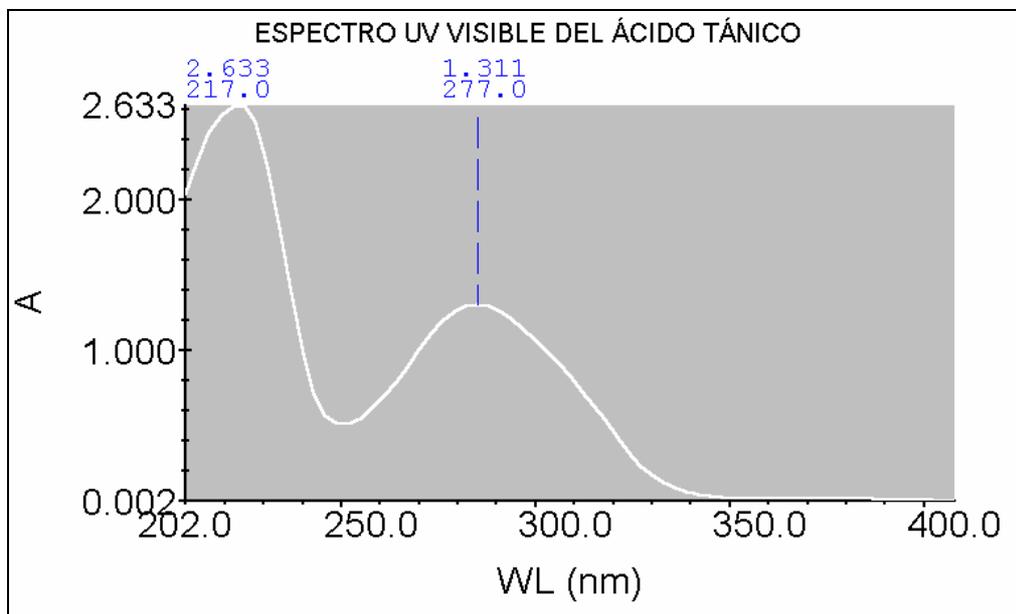


Figura 55: Espectro UV visible del ácido tánico.

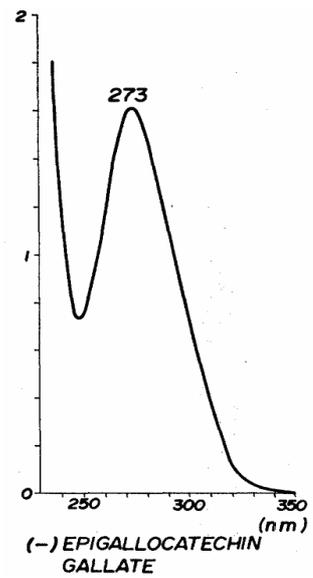
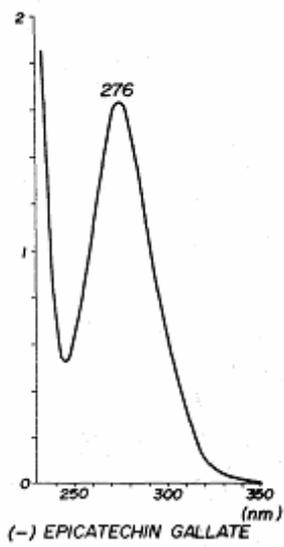
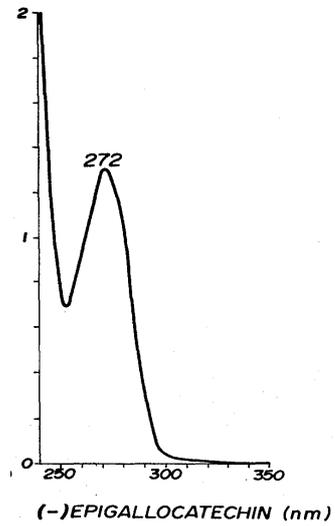
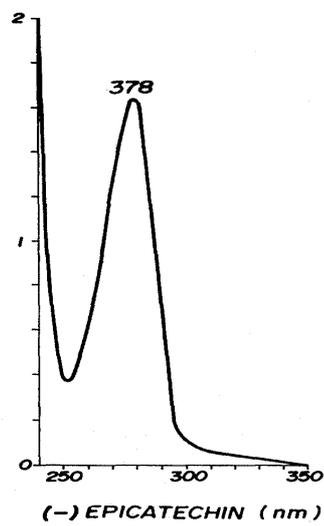


Como se observa en la figura anterior, el ácido tánico en el UV posee dos longitudes de onda (λ) de máxima absorción, una es a 217 nm y la otra se encuentra localizada en 277 nm.

Al comparar el espectro UV del ácido tánico con el del producto obtenido de las semillas y de la vaina, se observa que no hay mucha relación entre los dos, aunque el pico de máxima absorción en 217 nm, está más relacionado con el que se observa en 208 nm en los dos productos.

Comparando los espectros UV de las sustancias obtenidas tanto de las semillas como de la vaina exterior de la algarroba, se observa una longitud de onda de máxima absorción en 208 nm, lo cual indica que la sustancia que compone estas dos partes de la Algarroba es la misma en ambos casos.

Figura 56: Espectro UV visible de la (-) Epicatequina, (-) Epigallocatequina, (-) Epicatequina Galato y (-) Epigallocatequina Galato.



Fuente: (Makurazaki, 1981)

De la figura anterior se observan los λ de máxima absorción de los taninos condensados estándar, los cuales se encuentra en:

- (-) Epicatequina: 378 nm.
- (-) Epigallocatequina: 272 nm.
- (-) Epicatequina Galato: 276 nm.
- (-) Epigallocatequina Galato: 273 nm.

De nuevo aquí no hay ninguna correlación entre los resultados obtenidos y los datos reportados en la literatura, con lo que se sacan las mismas conclusiones previas anotadas en el análisis de espectroscopia infrarroja.

Es necesario analizar con más detalle el producto obtenido de las semillas y la vaina exterior de la algarroba para poder sacar una conclusión definitiva y detectar si verdaderamente dichas partes poseen taninos hidrolizables, taninos condensados, mezcla de taninos u otro producto diferente.

6. BALANCE PRELIMINAR ECONÓMICO

Para realizar un balance preliminar económico de la producción de pectina a escala de laboratorio a partir de la pulpa de la Algarroba es necesario entrar a analizar los siguientes costos:

6.1. Costo de equipos

Los equipos utilizados en el proyecto son propiedad de los laboratorios de la Universidad Eafit, a continuación se muestra el costo de cada uno de ellos al ser adquiridos comercialmente:

Tabla 22: Costo de los equipos.

Equipo	Costo(\$)
Centrifuga	10.000.000
Horno	15.000.000
Vidriería	200.000
Plancha de calentamiento con agitación	1.200.000
Magneto	3.000
Termómetro	40.000
Licadora	100.000
Total	26.543.000

6.2. Costos de materia prima

Para la producción de pectina a partir de la Algarroba se necesitan diferentes materias primas como etanol, agua y ácido clorhídrico. La cantidad necesaria para la producción de 1 Kg de pectina (unidad) y su valor respectivo se muestran a continuación.

Tabla 23: Costos de materia prima

Descripción	Cantidad (Kg/unidad)	Valor Unitario (\$/Kg)	Valor Total (\$/unidad)
Etanol	101,688	2000	203376
Pulpa de algarroba	8,470	1000	8470
HCl	2,737	948	2594,676
agua	84,740	2100	177954
Total	96048,688	6048	392394,68

Se observa que el costo de la materia prima es mucho mayor a el precio de la pectina ofrecido en el mercado (para la "Rapid set" \$ 60.000 + IVA y "Slow set" \$35.000 + IVA), esto se debe a que en el proceso de obtención de la misma a partir de la algarroba la mezcla de etanol y agua provenientes de la segunda centrifugación no fue destilada, haciendo que la cantidad de etanol y de agua adquiridas en el mercado fueran altas, lo que implica mayores costos.

Calculando el margen bruto para un Kilo de pectina de Algarroba con base en el precio de la pectina comercial "Rapid set" es:

Margen bruto = Precio de venta – costo de materias primas

Margen bruto = \$ 60.000/Kg - \$ 392.395/Kg

Margen bruto = - \$ 332.395/Kg

Es necesario que la pectina obtenida salga al mercado a un precio menor o igual (mejor calidad) al de la pectina ofrecida por el mercado internacional, para hacerla competitiva en el medio.

Con el cálculo del margen bruto del proyecto, se observa que la producción de pectina a partir de la Algarroba a escala laboratorio no es rentable, debido a que el costo de materia prima por unidad es mucho mayor que el precio en el que puede ofrecerse la pectina en el mercado, si tener en cuenta la mano de obra ni los servicios industriales utilizados.

6.3 Costos de mano de obra

La mano de obra involucrada en la obtención de pectina a partir de la Algarroba radica en las dos primeras etapas del proceso de producción, ya que éstas son manuales completamente.

Se calcula que para la producción de 1 Kg de pectina en promedio se necesitan 104.237 Kg de Algarroba, lo que se traduce en 85 Kg de pulpa aproximadamente.

En la primera separación, un operario se demora en promedio 5 h/Kg de pectina para hacer la separación de la vaina exterior y la pulpa.

En la segunda separación, un operario requiere 8 h/Kg de pectina para separar las semillas de la pulpa de la Algarroba.

En el resto del proceso el tiempo requerido de mano de obra es de 2 horas por Kg de pectina producida.

A continuación se muestra una tabla resumen de los costos de mano de obra

involucrados en el proceso, teniendo como base el salario mínimo mensual vigente, \$433.700:

Tabla 24: Costos de la mano de obra

Etapa del proceso	Tiempo requerido por unidad (h/Kg_{Pec})	Costo de la hora trabajada (\$/h)	Costo de mano de obra por Unidad (\$/Kg_{Pec})
Separación 1	5	1.807	9.035
Separación 2	8		14.456
Resto del proceso	2		2
TOTAL			23.493

Como se puede observar, otro de los costos influyentes en la producción de pectina a escala laboratorio es la mano de obra, debido a que para la producción de 1Kg de pectina son necesarias 15 horas como mínimo.

6.4. Costos de servicios industriales involucrados

Algunos equipos utilizados en el proceso consumen energía eléctrica y agua como servicios industriales, a continuación se muestran cada uno de ellos, su consumo por Kg de pectina y el precio involucrado, teniendo en cuenta que en el valle de aburra 1 Kw cuesta \$204,91.

Tabla 25: Costos de energía eléctrica

Equipo	Consumo (kWh)	Tiempo (h/kg_{Pec})	Costo (\$/kg_{Pec})
Centrífuga	0,4	98,87	8103,78
Estufa	1,27	1,69	436,8
P. calentamiento	0,69	28,24	3992,79
Licuada	0,6	14,12	1736
Balanza	0,05	14,12	144,67
Total			14.414

El agua es otro servicio público requerido, ya que pasado el tiempo de hidrólisis requerido por el proceso, es necesario enfriar de forma indirecta para detener dicha reacción.

El agua utilizada puede ser reutilizada, de tal forma que los costos involucrados de agua como servicio industrial son irrelevantes con respecto a los costos involucrados en la materia prima y en la mano de obra directa del proceso.

CONCLUSIONES

1. El grado de metoxilación de la pectina obtenida fue hasta del 80%, comparado con el 78% de la pectina comercial de alto metoxilo "Rapid set" (Dato tomado experimentalmente).
2. Las mejores condiciones para extraer la pectina a nivel de laboratorio, con base en el diseño de experimentos fueron: 100 ml de mezcla (10% de sólidos), 2 ml de ácido muriático y un tiempo de hidrólisis de 1 minuto, con un rendimiento del 14% en base seca.
3. El color de la pectina secada por convección en una estufa a 40°C, fue entre amarillo y naranja fuerte.
4. Al comparar los espectros infrarrojo de la pectina obtenida de la Algarroba con el de la "Rapid set" de CPKelco, se ve una gran coincidencia. (Ver figura 35).
5. La pulpa sacada directamente de la fruta, aún sin hidrolizar ya muestra un cierto grado de esterificación. (Ver figura 24).
6. La pulpa sacada directamente de la fruta tiene un promedio de 15% de humedad.
7. No hay gran diferencia entre los rendimientos de pectina cuando se emplean por ejemplo, 100 ml de mezcla hidrolizados con 2 ml de ácido muriático durante 1 minuto y 200 ml de mezcla hidrolizados con 2 ml de ácido muriático durante 2 minutos; la diferencia se encuentra fundamentalmente en el color

y/o grado de metoxilación de la pectina.

8. El amarillamiento de la pectina se debe al proceso de secado empleado, especialmente en aquellos casos en que se utiliza mayor cantidad de ácido para la hidrólisis.
9. La pectina obtenida de la Algarroba, contrario a lo que podría esperarse, no presenta un olor o sabor particular.
10. El proyecto no es viable financieramente, ya que presenta un margen bruto negativo, lo que se debe a los costos de materia prima involucrados en el proceso productivo, principalmente los costos del etanol y el agua utilizados.
11. Es necesario entonces, instalar una torre de destilación lo suficientemente eficiente como para destilar el líquido 2 obtenido de la segunda centrifugación, para obtener etanol al 96% (condiciones del comercial) y agua, para poder reutilizarlos en el proceso, de lo contrario el proceso sigue siendo no rentable financieramente.
12. Con base en los procesos de extracción y análisis empleados, no se pudo definir si el sólido obtenido de las semillas y vaina exterior de la Algarroba es un tanino condensado, hidrolizable, mezcla de taninos u otro producto diferente.
13. Finalmente, el rendimiento del producto obtenido de las semillas y de la vaina exterior de la Algarroba es aproximadamente 4%, con base en el material seco molido.

RECOMENDACIONES

1. Usar un secado al vacío en lugar de un secado por convección, ésta es la causa para el amarillamiento final de la pectina, ya que ésta es completamente blanca después de precipitarla con etanol.
2. Analizar el residuo sólido que queda después de extraer la pectina con base en el contenido de almidón, celulosa, hemicelulosa y otros carbohidratos, para determinar la posibilidad de transformarla en etanol por fermentación.
3. De la misma manera, después de extraer los posible taninos y determinar el contenido de almidones de la semilla y la vaina de la Algarroba, estudiar la posibilidad de convertir toda esta biomasa que queda en etanol que se puede utilizar en la extracción de pectinas, implementado así el concepto de cero emisiones en el proceso de obtención de pectina de la Algarroba.
4. El costo que mas incide en Colombia para la extracción de pectinas en es el etanol, por el volumen tan alto que se requiere, por lo que se recomienda una torre de destilación eficiente para etanol lo suficientemente puro y poderlo reutilizar en el proceso.
5. Analizar con mayor detalle la naturaleza química de los sólidos naranja oscuro y amarillento extraídos con agua de las semillas y la vaina de la Algarroba, con el fin de tener un estudio mas integral de dicha fruta.
6. Se recomienda trabajar con una centrifuga de mayor capacidad a la utilizada en éste trabajo, para evitar tiempos muertos y cuellos de botella en el proceso de producción.

BIBLIOGRAFÍA

- ALNICOLSA. (2007). Todo sobre la Tara. [Artículo Internet] <http://taninos.tripod.com/#tanino>. [Consulta: Agosto 2 de 2007].
- ARROYAVE, MARÍA DEL PILAR (2005). El Algarrobo. Escuela de Ingeniería de Antioquia EIA. Documentos de Biología I. [Página Internet] <http://biologia.eia.edu.co/biologia1/documentos/documentos.htm>. [Consulta: Mayo 2 de 2007].
- CALVO, MIGUEL (2006). Pectinas. Bioquímica de los alimentos.[Página Internet] <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/azucares/pectinas.html>. [Consulta: Abril 20 de 2007].
- CANTERI, MARIA HELENE (2005). Extraction of Pectin From Apple Pomace. Brazilian archives of biology and technology. Vol 48. pp. 259-266.
- COLOMBIA SIN HAMBRE. (2005)_Proyectos en ejecución en la Corporación Colombia sin hambre. Algarrobo del desierto para sembrar en la guajira [Página Internet].http://www.colombiasinhambre.com/proyectos_detalle.php?idb=102 [Consulta: Abril 20 de 2007].
- COMFAMA. (2004) Citrotec - Aprovechamiento integral de los desechos industriales en la producción de jugo de naranja, Medellín. [Artículo Internet].http://www.comfama.com/contenidos/publicidad/Ventures%202003/publicidad_7.asp [Consulta: Marzo 25 de 2007].

- COWAN, JACK C. (2005). Oil base fluids containing hydrophilic tannins. Publicación No: WO/2005/044941. Mayo 19, 2005.
- CUERONET. (2007). Curtido vegetal. [Artículo Internet] http://www.cueronet.com/flujograma/curtido_vegetal3.htm. [Consulta: Agosto 20 de 2007].
- CHAVAN U.D. (2001). Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus L.*) as affected by different solvents. Food Chemistry. 75. pp. 509–512.
- CHEMBLINK. (2007). Tannic acid. [Artículo Internet] <http://www.chemblink.com/products/1401-55-4.htm>. [Consulta: Julio 29 de 2007].
- DELGADO, E., ORREGO C.(2000). Estandarización de metodologías para la purificación de pectina cruda obtenida de la pulpa y del mucílago del café. Tesis de grado. Universidad Nacional. Manizales. Ingeniería química. Manizales.
- ENCARTA (2007). Tanino. [Artículo Internet] http://es.encarta.msn.com/encyclopedia_761576643/Tanino.html. [Consulta: Agosto 15 de 2007].
- FOOD-INFO. (2006) ¿Que es la pectina? [Artículo Internet] <http://www.food-info.net/es/qa/qa-wi6.htm>. [Consulta: Mayo 3 de 2007].
- FRANCIS, JOHN K. (1990). *Hymenaea courbaril* L. Algarrobo, locust. SO-ITF-SM-27. New Orleans, LA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. [Artículo Internet] <http://www.fs.fed.us/global/iitf/Hymenaeacourbaril.pdf>. [Consulta: Mayo 3 de 2007].

- GAVIRIA, N (2005). Extracción a escala laboratorio de la pectina del maracayá y escalado preliminar a planta piloto. Tesis de grado. Universidad Eafit. Ingeniería de procesos. Medellín.
- HEREDIA, A., JIMÉNEZ, A. Y GUILLÉN, R. (1995). Composition of plant cell wall. Zeitschrift fur lebensmitte l-untersuchung und-forschung. 200. pp. 24-31.
- HIPERNATURAL. (2007).Algarrobo. [Artículo Internet] <http://www.hipernatural.com/es/pltalgarrobo.html>. [Consulta: Marzo 22 de 2007].
- HOWELL, AMY B. (2002). Hydrolyzable tannin extracts from plants effective at inhibiting bacterial adherence to surfaces. World Intellectual Property Organization (WIPO). Publicación No: WO/2002/007746. Enero 31, 2002.
- HUNG, YUEH-TZU. (2007). Determining the levels of tannin in tea by amperometry of ferricyanide pre-reaction with a sample in a flow-injection system. Sensors and actuators chemical. pp. 1-6.
- ICONTEC. (2007). Presentación de tesis, trabajos de grado y otros trabajos de investigación. Norma técnica Colombiana NTC 1486 (Cuarta actualización).
- JAMES, ELSIE LILIAN (1947). Process for the treatment of plant flesh and the recovery of pectic products therefrom. Patente de Estados Unidos No 2.416.176. Febrero 18, 1947.
- KAMNEV, ALEXANDER A. (1998). Comparative spectroscopic characterization of different pectins and their sources. Food Hydrocolloids.12. pp. 263-271.

- LEGISCOMEX (2007). Base de datos sobre importaciones. Universidad Eafit. Consultada: Septiembre 20 de 2007
- LEVINSON, BARRY LEWIS. (1988). Biopesticides for use on tannin-containing plants. World Intellectual Property Organization (WIPO). Publicación No: WO/1988/007877. Octubre 20, 1988.
- MAKURAZAKI, FUMIO. (1981). Process for producing Catechins. Patente de Estados Unidos No 4.248.789. Febrero 3, 1981.
- MASTURAH, MARKOM. (2006). Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn: Effects of solvents and extraction methods. Separation and Purification Technology. 52. pp. 487–496.
- MARSHALL, LANSDALE. (2000). Extraction of pectin by microwave heating under pressure. Patente de Estados Unidos No 6.143.337. Noviembre 7, 2000.
- MENDENHALL, WILLIAM. (1997). Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias. Cuarta edición. Prentice Hall. Pp. 891-894.
- MORENO, JAIME. (1998). Procedimientos estadísticos. Escuela superior de gestion comercial y marketing. Pp.78,79.
- MOYA, HORACIO D. (2007). A multicommuted flow-system for spectrophotometric determination of tannin exploiting the Cu(I)/BCA complex formation. Microchemical Journal. pp: 10-15.
- MUNDO FORESTAL (2002). El guapinol. Costa Rica. [Artículo Internet] [http--](http://)

www_elmundoforestal_com-elcorazon-guapinoltn_guapinolambar05_jpg.htm
[Consulta: Mayo 3 de 2007].

- MUSTACCHI, CARLO. (1999). Process and plant to extract and concentrate tannins from wood and from other natural products. World Intellectual Property Organization (WIPO). Publicación No: WO/1999/021634. Mayo 6, 1999.
- MYERS, PHILIP B. (1943). Extraction and recovery of pectin. Patente de Estados Unidos No 2.323.483. Julio 6, 1943.
- NAVARRO, G. (1985). Sustancias pécticas: Química y aplicaciones. Secretariado de publicaciones e intercambio científico. Universidad de Murcia. pp. 43-45.
- OXFORD PLANT SYSTEMATICS (2000).Hymenaea Courbaril L. [Artículo Internet] http://herbaria.plants.ox.ac.uk/adc/downloads/capitulos_especies_y_anexos/hymenaea_courbaril.pdf. [Consulta: Abril 29 de 2007].
- PAGAN, J. (1998). Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo del melocotón. Tesis de grado. Universidad de Lleida. pp. 16-17.
- PESCADOR (2003). Estudio de factibilidad para el montaje de una planta procesadora de pectina y miel a base de subproductos de café en la zona centro sur del departamento de Caldas. Manizales: Universidad de Caldas. Pp. 22-27.

- ROMERO, ESPERANZA. (2007). Cartilla laboral de Legis. Edición 2007. Editorial Legis. Colombia. 2007. pp. 12, 16, 20.
- SCHULTZ T.H (1965). Determination of the degree of esterification of pectin, determination of the ester methoxyl content of pectin by saponification and titration. Methods in carbohydrate Chemistry.5. pp.189. Academic Press, New York.
- SIERRA, LUISA FERNANDA. (2007). Diseño de un proceso para la obtención y purificación de pectina a partir de los productos secundarios del beneficio del café. Tesis de grado. Universidad Eafit, Medellín. Ingeniería de Procesos. Colombia. pp: 24,30,50.
- SORIANO. MARGARITA (2004). Análisis de sistemas pectinolíticos bacterianos. Aislamiento y caracterización de las pectinasas PelA de Paenibacillus sp. BP-23 e YvpA de bacillus subtilis. Tesis de doctorado. Universidad de Barcelona. Facultad de biología. Barcelona, pp.8-11,14,25.
- SYNYTSYA, A. (2003). Fourier transform Raman and infrared spectroscopy of pectins. Carbohydrate Polymers, 54. pp: 97-106.
- UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY. (2006). Fenoles. [Artículo Internet] <http://mail.fq.edu.uy/~planta/pdf/Quimica%20PN%20PE2000/fenoles%202006.pdf>. [Consulta: Julio 29 de 2007].
- UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO. (2007). Espectroscopia Infrarroja [IR]. [Artículo Internet] <http://www.ehu.es/imacris/PIE06/web/IR.htm>. [Consulta: Julio 30 de 2007].

- UNO YOICHIRO. (1996) Polysaccharides of Hymenaea seeds. Patente de Estados Unidos No: 5.488.105. Enero 30, 1996.
- WILES, RALDON R. (1971). Method for producing pectins having high resistance to breakage and high capability for gelling in the presence of calcium. Patente de Estados Unidos No 3.622.559. Noviembre 1, 1971.
- WONG, KIN-PING. (2004). Compositions containing an active fraction isolated from tannins and methods of use. World Intellectual Property Organization (WIPO). Publicación No: WO/2004/045380. Junio 3, 2004.
- YATES, GRAND PRAIRIE (1999). Aloe pectins. Patente de Estados Unidos No 5.929.051. Julio 27, 1999.