



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Química e Ingeniería Química

Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial

Obtención de ácido gálico a partir de taninos, presentes en el polvo de vainas de tara (Caesalpineia spinosa (Molina) Kuntze) usando hongos nativos mediante proceso de fermentación

TESIS

Para optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial

AUTOR

Susan Lourdes ORTEGA ASENCIOS

ASESOR

Miriam Memenza ESTELA ZEGARRA

Lima, Perú

2015

RESUMEN

La tara (*Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze) es un árbol nativo del Perú que crece en forma silvestre entre los 1 000 y 2 900 msnm en las zonas secas de la región andina y costa peruana. El rendimiento del árbol de tara oscila entre 20 y 40 kg de vaina al año. Las vainas de tara poseen un elevado contenido de taninos, a partir del cual se puede obtener extracto tánico y mediante un proceso de hidrólisis química o enzimática el ácido gálico. Este compuesto orgánico tiene diversas aplicaciones en la industria de curtiembre, farmacéutica y alimentaria, por lo cual es muy cotizado a nivel internacional. No obstante, el Perú es importador de extractos tánicos vegetales, debido a que no cuenta con la tecnología necesaria. Para la obtención de ácido gálico en la presente investigación, se realizó previamente el aislamiento de hongos nativos a partir de las vainas de tara procedente de los departamentos de Ayacucho, Huaraz y Lima, durante 7 días de evaluación mediante el Método de Cámara Húmeda. Obteniendo así, un total de 34 cepas fúngicas aisladas de las vainas de tara, de las cuales el 76.47% lo representa las cepas del género *Aspergillus* y el 23.53% del género *Penicillium*. Del total de cepas fúngicas aisladas se seleccionaron aquellas que presentaron mayor capacidad en el uso de ácido tánico, siendo para ello previamente sembradas en Agar Czapeks Dox suplementado con 1% de ácido tánico a nivel in vitro, evaluando a lo largo de 5 días el radio de crecimiento. Siendo así seleccionadas las cepas de *Aspergillus* aisladas de las vainas de tara procedentes del departamento de Huaraz identificadas como: HRTAS-02 y HRTAS-09 con radio de crecimiento de 3.5 cm. y 3.25 cm. respectivamente, al primer día de evaluación. Así mismo, se realizó la caracterización física y química del polvo de vaina de tara procedente del departamento de Ayacucho debido a que presenta el mayor contenido de taninos, lo cual se demuestra mediante el método titrimétrico obteniendo el 65.68% de taninos. Mientras que en el análisis proximal se determinó: la humedad 4,95%, ceniza 4,43%; proteínas 3,50%, carbohidratos 86,80%, grasa 0,32% y energía total 364,08%. Mediante el diseño estadístico factorial 2^k se determinaron los 64 tratamientos a evaluar en la fermentación líquida sumergida en "batch", considerando las variables independientes: cepa fúngica (HRTAS-02 y HRTAS-09), biomasa (10^7 y 10^9 esporas/ml), concentración de polvo de tara (24 g/l y 26 g/l), pH (5 y 7) y agitación (250 rpm y 350 rpm). Así mismo, mediante el Diseño estadístico Anova Unifactorial se determinó que existen diferencias significativas en la concentración de ácido gálico entre los tratamientos evaluados. Las variables independiente: Cepa fúngica, biomasa y concentración de polvo de tara tuvieron un valor $p\text{-value} < 0.05$, por lo cual estas variables influyen de manera significativa en la Concentración de ácido gálico. Y mediante el Test de Duncan al 95% de nivel de confianza, se determinó que el tratamiento empleando la cepa fúngica (HRTAS-02), biomasa (10^7 esporas/ml), concentración de polvo de tara (26g/l), pH (5) y agitación (350 rpm), es el que presenta mayor producción de ácido gálico en 48 horas de fermentación, reportando así 894.094 mg EAG/g de polvo de tara. La concentración de ácido gálico se determinó mediante el método Espectrofotométrico de la Rodanina a 520 nm, para lo cual previamente se elaboró una curva de calibración, obteniéndose la ecuación de la recta: $Y = 0.0061X + 0.063$ con un nivel de correlación del 0.966. Los resultados obtenidos fueron comparados con el método de hidrólisis química ácida en la cual se obtuvo una concentración de 73.01 mg/l de ácido gálico. Siendo el 73.34% la conversión de los taninos presentes en el polvo de vaina de tara a ácido gálico obtenido a partir del método de fermentación enzimática.

ABSTRACT

The tara (*Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze) is a tree native to Peru that grows wild between 1000 and 2900 m in the dry areas of the Andean region and Peruvian coast. The tara tree performance between 20 and 40 kg per year sheath. Tara pods have a high content of tannins, from which tannin extract is obtainable by a process and chemical or enzymatic hydrolysis of gallic acid. Gallic acid has diverse applications in tanning industry, pharmaceutical and food, so it is highly prized internationally. However, Peru is an importer of vegetable tannin extracts, because it lacks the necessary technology. To obtain gallic acid in the present investigation, the isolation of native fungi previously performed from tara pods from the departments of Ayacucho, Huaraz and Lima, for 7 days evaluation by Wet Method Camera. Thus obtaining a total of 34 fungal strains isolated from tara pods, of which 76.47% is represented by strains of *Aspergillus* and *Penicillium* 23.53%. Of the total number of fungal isolates those that had greater capacity in the use of tannic acid, being for it previously seeded in Czapeks Dox Agar supplemented with 1% tannic acid in vitro level, evaluating over five days were selected radius growth. That being selected *Aspergillus* strains isolated pods of tara from Huaraz department identified as: HRTAS -02 and HRTAS -09 with radius 3.5 cm. growth and 3.25 cm. respectively, the first day of evaluation. Likewise, physical and chemical characterization pod tara powder from the department of Ayacucho because it has the highest content of tannins is conducted, which is demonstrated by the titrimetric method obtaining the 65.68 % tannins. While the proximal analysis found: 4.95% moisture, 4.43% ash, 3.50% proteins, carbohydrates 86.80%, 0.32% fat and energy Total 364.08%. By 2k factorial experimental design to evaluate the 64 treatments in submerged liquid fermentation were determined in "batch", considering the independent variables: fungal strain (HRTAS-02 and HRTAS-09), biomass (10^7 and 10^9 spores/ml) tara powder concentration (24 g/l and 26 g/l), pH (5 and 7) and agitation (250 rpm and 350 rpm). Also, using the statistical design Unifactorial Anova was determined that there are significant differences in the concentration of gallic acid between treatments. The independent variables: fungal strain, biomass and concentration of tara powder had a p-value < 0.05 value, so these variables significantly influence the concentration of gallic acid. And through the Test of Duncan at 95% confidence level, it was determined that treatment using the fungal strain (HRTAS -02), biomass (10^7 spores/ml) concentration of tara powder (26g/l), pH (5) and agitation (350 rpm), is the one with higher production of gallic acid in 48 h of fermentation, and reporting 894.094 EAG mg/g of tara powder. Gallic acid concentration was determined by the spectrophotometric method rhodanine at 520 nm, for which a calibration curve previously was developed to yield the equation: $Y = 0.0061x + 0.063$ with a level of correlation of 0.966. The results obtained were compared with the chemical method of acid hydrolysis in which a concentration of 73.01 mg/l of gallic acid was obtained. It is the 73.34 % conversion of the tannins present in the powder pod tare gallic acid obtained from enzymatic fermentation method.