



Artículo original / Original article

Extracción y caracterización fisicoquímica del tánico de la corteza de caoba y cedro en el distrito de Tambopata, Madre de Dios

Extraction and physical-chemical characterization of the tannic of the mahogany and cedar bark in the district of Tambopata, Madre de Dios

Rosel Quispe-Herrera ^{1*}; Yoni Fernández-Herrera ¹; Leoncio Solis-Quispe ²; Yolanda Paredes-Valverde ¹

¹ Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Madre de Dios, Perú

² Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Cusco, Perú

Recibido: 01/11/2021

Aceptado: 15/12/2021

Publicado: 25/01/2022

*Autor de correspondencia: rherrera@unamad.edu.pe

Resumen: La industria maderera en la región de Madre de Dios, Perú, es una de las actividades económicas más importantes y produce gran cantidad de residuos, entre ellas las cortezas, fuentes potenciales de taninos. El objetivo fue extraer y caracterizar fisicoquímicamente los taninos de la corteza de caoba (*Swietenia macrophylla*) y cedro (*Cedrela odorata*) colectados de árboles maduros, en poblaciones localizadas del distrito de Tambopata - Madre de Dios. Los extractos tánicos fueron obtenidos por extracción sucesiva con solución acuosa salina, y sometidos a análisis para determinar su solubilidad, color, densidad y pruebas de identificación compuestos tánicos. Los resultados mostraron que la corteza de caoba presentó mayor concentración de taninos que la del cedro, alcanzando ambos 46% y 42%, respectivamente; además, el extracto tánico de la corteza de cedro presentó densidad de 0,972 g/mL y la de caoba un 0,976 g/mL. En conclusión, las cortezas de caoba y cedro son fuentes potenciales de taninos del tipo pirogálicos para la industria de productos naturales.

Palabras clave: desechos forestales; extracción sólido-líquido; industria forestal; metabolitos secundarios

Abstract: The wood industry in the region of Madre de Dios, Peru, is one of the most important economic activities and produces a large amount of waste, including bark, potential sources of tannins. The objective was to extract and physicochemically characterize tannins from the bark of mahogany (*Swietenia macrophylla*) and cedar (*Cedrela odorata*) collected from mature trees, in localized populations of the district of Tambopata - Madre de Dios. The tannic extracts were obtained by successive extraction with saline aqueous solution, and subjected to analysis to determine their solubility, color, density, and tannic compound identification tests. The results showed that the mahogany bark presented a higher concentration of tannins than that of the cedar, reaching both 46% and 42%, respectively; in addition, the tannic extract of the cedar bark presented a density of 0.972 g/mL and that of mahogany 0.976 g/mL. In conclusion, mahogany and cedar bark are potential sources of pyrogallic-type tannins for the natural products industry.

Keywords: forest waste; solid-liquid extraction; forest industry; secondary metabolites

1. Introducción

Los taninos son un grupo de compuestos polifenólicos que varían en tamaño, tipos de enlace, composición y contenido entre diferentes especies y tejidos vegetales (Neve-Ombra et al., 2018). En la literatura los taninos fueron descritos como penta-(*m*-digalolil) glucosa, con fórmula molecular $C_{76}H_{52}O_{46}$, derivados del ácido gálico (Guo et al., 2021). Estos compuestos tienen la apariencia de polvo amorfo brillante, escamas brillantes o masa esponjosa; son inodoros; de sabor muy agrio; se oxidan con facilidad cuando están expuestos al aire; son solubles en agua, alcohol y acetona; casi insoluble con benceno, cloroformo, éter y éter de petróleo; en presencia de sales como el cloruro férrico se colorean; tienen la capacidad de precipitar las proteínas en medios acuosos; son inflamables y moderadamente tóxicos (Olivas-Aguirre et al., 2015).

Los taninos fueron clasificados de acuerdo a dos criterios: los productos resultantes de su destilación seca (taninos hidrolizables y condensados) o su origen (taninos fisiológicos y patológicos) (Kato-Schwartz et al., 2020; Neve-Ombra et al., 2018). Los taninos fisiológicos son producidos en condiciones de funcionamiento normal de las células vegetales, por otra parte, los taninos patológicos son producidos por efecto o en respuesta a ataques de insectos. Los taninos se distribuyen en los tejidos de casi toda la planta, depositándose principalmente en los intersticios celulares, donde cumplen la función de antiséptico o conservante (Saravia et al., 2002).

La curtiembre, es un proceso por el cual pieles de animales son transformados en cueros más duraderos, la aplicación de esta tecnología utilizando extractos de plantas data aproximadamente de hace 2000 años, este efecto se atribuye al contenido de taninos presentes en dichos extractos. Los taninos son conocidos en la literatura científica como polifenoles o compuestos fenólicos, estos fitoquímicos son hidrosolubles, con peso molecular que varía de 500 a 3000, estos metabolitos secundarios son producidos por una gran diversidad de plantas. Los taninos son utilizados en el procesamiento de alimentos, por su habilidad de producir la precipitación de alcaloides, gelatinas, proteínas y otros compuestos (Isaza M., 2007).

La corteza de los árboles son fuentes potenciales de taninos, estos compuestos pertenecientes al grupo de los compuestos fenólicos tienen amplia aplicación en diversas industrias, tales como la de pieles, textil, alimentos, farmacéutica, entre otras. Dichos compuestos son utilizados también en la medicina natural por sus propiedades funcionales. Por lo general, la corteza es considerada como residuo o subproducto derivado de la industria maderera, estos representan costos adicionales a las empresas, debido a que la legislación de la mayoría de los países promueve el cuidado del medio ambiente (Espinal-Corrales, 2009).

En Perú, la región Madre de Dios tiene como una de sus principales actividades económicas la producción de madera (Oliveira et al., 2019), destacando las especies forestales, cedro (*Cedrela odorata* L.) y caoba (*Swietenia macrophylla* King) (Espinosa & Valle, 2020). Se ha reportado que el cedro presenta un contenido de taninos del tipo hidrolizables o pirogálicos (solubles en agua) y la caoba presenta taninos condensables o catecol, que son insolubles en agua (Espinal-Corrales, 2009). Los extractos brutos de corteza pueden ser obtenidos por el método de extracción sólido-líquido, para disolver las sustancias se puede utilizar la termólisis, reducción de tamaño y coadyuvante acuoso (Espinal-Corrales, 2009).

La corteza de árboles maderables puede ser fuente potencial de taninos para la aplicación en diversas industrias. Por ese motivo, el objetivo del presente estudio fue determinar el rendimiento de extracto total en función de la corteza de caoba y cedro, y caracterizar los extractos de las dos especies en estudio. Para las dos especies se identificaron los tipos de taninos presentes, solubilidad en agua y densidad.

2. Materiales y métodos

Lugar y población de estudio. Las muestras fueron recolectadas en poblaciones naturales de cedro (*Cedrela odorata* L.) y caoba (*Swietenia macrophylla* King), localizadas en el distrito de Tambopata, provincia de Tambopata, región Madre de Dios. Las áreas de muestreo estuvieron

concentradas en lugares cercanos a los ejes carreteros. El muestreo se realizó durante enero y febrero del 2017 y se concentró en las comunidades nativa de Infierno ($12^{\circ}43'59.68''S$ y $69^{\circ}14'32.14''W$), Chonta ($12^{\circ}39'5.63''S$ y $69^{\circ}13'13.63''W$) e Isuyama ($12^{\circ}37'54.29''S$ y $69^{\circ}11'7.79''W$).

Muestreo. El muestreo se realizó de forma intencionada, colectando 1000 g de cortezas de árboles maduros que presentaban un buen estado (consistencia, color), sin daños, sin presencia de agentes contaminantes como insectos, plagas, entre otros.

Preparación de la muestra. La muestra colectada fue secada al ambiente, y en ausencia de rayos solares, en un lugar con abundante ventilación. Las cortezas secas se molieron hasta que no quede residuo en un tamiz de malla n° 40, con la finalidad de tener una muestra homogénea y una mayor superficie de contacto con el solvente durante su extracción. En la Figura 1, se observan las muestras secas sin moler y molidas.



Figura 1. Muestra de corteza entera y molida, de cedro y caoba

Determinación de humedad. La determinación de la humedad se realizó por el método gravimétrico por triplicado. Se pesaron aproximadamente 5 g de corteza fresca de caoba y cedro, y estas fueron secadas en una estufa hasta obtener un peso constante a una temperatura de $100^{\circ}C$. Posteriormente fueron enfriadas en un desecador, y se procedió al pesaje y con los datos obtenidos se determinó el porcentaje de humedad (AOAC, 2019).

Obtención de extractos tánicos. Los taninos se obtuvieron a través de una extracción sucesiva, utilizando como solvente una solución acuosa salina con efecto térmico de acuerdo con la metodología modificada de Espinal-Corrales (2009). Las extracciones fueron realizadas con 50 g de la corteza seca en un Erlenmeyer de 1000 mL, con 300 mL de sulfito de sodio al 2% con agitación a $70^{\circ}C$ por 45 minutos. Luego se filtró al vacío, obteniéndose la fase I (Figura 2). El residuo de filtración se vuelve a someter a una segunda y tercera extracción, de la misma forma que los pasos anteriores, para obtener fase II y III. El residuo producto de las extracciones secuenciales se desechó. Los extractos obtenidos se reunieron y luego se procedieron a evaporar el solvente en baño isotérmico a $45^{\circ}C$ hasta sequedad. Finalmente se pesó residuo para calcular el porcentaje de extracción. En la Figura 3, se puede observar mejor las etapas de extracción.

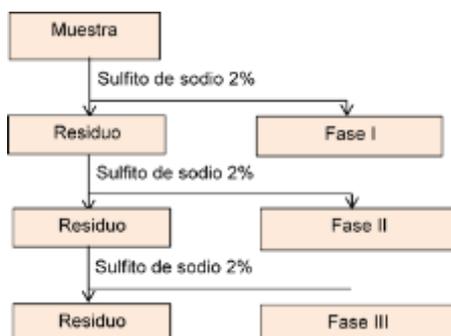


Figura 2. Obtención secuencial de extractos de tánicos.



Figura 3. Etapas de la extracción de taninos a partir de cortezas secas molidas de caoba y cedro

Prueba de solubilidad, aspecto y color. Para las pruebas de solubilidad se utilizaron 10 mg de los extractos de la especie vegetal. Se colocaron en diferentes tubos de ensayo y luego se añadió 1 ml de solvente de diferentes polaridades y ordenados en forma descendente (agua, alcohol y hexano). De esta manera se determinó la naturaleza disolutiva de los extractos, luego se agitó durante 2 min aproximadamente a temperatura ambiente (Villena, 2006). Además, fue importante determinar el aspecto y color del extracto, a partir de la observación minuciosa y exhaustiva en forma directa.

Identificación de taninos. Los métodos de separación son necesarios para la identificación de un componente puro y para la determinación de los tipos de compuestos que contiene una mezcla o un extracto crudo. Se han desarrollado numerosas técnicas para la identificación preliminar de diversos componentes químicos de las plantas mediante técnicas de extracción con disolventes y con prueba de coloración (Valencia, 1995). La reacción característica para la detección de taninos en extractos de plantas consiste en adicionar a 0,5 mL de extracto, 2 a 3 gotas de FeCl_3 al 1%. Los resultados de las pruebas de taninos son positivos si hay precipitados o coloraciones azuladas o verdes.

3. Resultados y discusiones

3.1. Humedad de las cortezas frescas de caoba y cedro

En la Tabla 1, se muestran los resultados obtenidos del análisis de humedad. El porcentaje promedio de humedad de las muestras de corteza de cedro fue de 51,26% y de caoba fue de 44,83%. El contenido de humedad que está dentro de los parámetros normales, además tiene que ver con la época colectada que fue durante los meses de enero y febrero, meses que se caracterizan por presentar abundante precipitación pluvial, factor que hace que la planta incremente el contenido de agua, especialmente en la corteza.

Tabla 1. Porcentaje de humedad de las muestras cedro y caoba (corteza)

N° muestra	Peso muestra M (g)		Peso humedad H (g)		% Humedad (%H = $\frac{H}{M} \times 100$)	
	Caoba	Cedro	Caoba	Cedro	Caoba	Cedro
1	5,0084	5,0428	2,2285	2,5891	44,50	51,34
2	5,0540	5,0118	2,2675	2,5672	44,87	51,22
3	5,0097	5,0344	2,2601	2,5778	45,11	51,20
				Promedio	44,83	51,26

3.2. Extracción de taninos

Para obtener los taninos, se realizó una extracción sucesiva utilizando como solvente una solución acuosa salina con efecto térmico, cuyos resultados se reportan en la Tabla 2. Estos resultados muestran que los porcentajes de taninos en caoba y cedro fueron relativamente altos, resultados

que son semejantes a los obtenidos por Espinal-Corrales (2009) y superiores a los reportados por Ikenyiri et al. (2019). El alto contenido de taninos, observado en las cortezas de caoba y cedro, muestran que estos residuos son una materia prima potencial para la obtención de taninos, pero el impedimento es que estas especies maderables son muy cotizadas, están bastante controladas e impedidas para su explotación.

Tabla 2. Porcentajes de extracción de taninos en muestra de corteza de cedro y caoba

Muestra	% extracción taninos	Características	
		Aspecto	Color
Caoba	46,1	Parcialmente laminar y brillante	Rojo granate
Cedro	42,2	Parcialmente laminar y brillante	Rojo granate

Por lo general, los compuesto polifenólicos que se encuentran en la corteza de los árboles pueden utilizarse en diversas industrias, como la del curtido del cuero, la fabricación de textiles, la elaboración de alimentos y los productos farmacéutico (Fraga-Corral et al., 2020), además de los usos caseros en medicina natural y se usa para curtir y teñir pieles (ACP, 2007 y). Los taninos como constituyentes fenólicos de las plantas tienen un sabor astringente y la propiedad de convertir la piel en cuero (Falcão & Araújo, 2018; Valencia, 1995).

Los taninos están ampliamente distribuidos en las plantas (son encontradas en cortezas, frutos, flores, hojas, semillas y otros órganos de las plantas) (Alqethami & Aldhebiani, 2021), estos compuestos presentan diferencias en su estructura química (Neve-Ombra et al., 2018), este hecho permite su clasificación según grupos de taninos. Se ha reportado con frecuencia la presencia de estos compuestos en vegetales y frutas de una forma general, pero al realizar la identificación de cada tipo de tanino se ha podido verificar que la concentración de los tipos de taninos varía según especie (Ariyanto et al., 2018). Como ocurre con los taninos condensados que son encontrados en altas concentraciones en uvas, pero en ciertas variedades o cultivares de *V. vinifera* (Cheynier, 2005). El tipo y la concentración de taninos presentes en los vegetales son influenciados por el estrés producido por las condiciones medio ambientales (temperatura, acidez del suelo, tipo de suelo y otros) y genéticas o estado de maduración del fruto o la planta (Bindon & Kennedy, 2011; Torchio et al., 2010).

Debido a la variabilidad genética de la uva se puede encontrar variedades o cultivares que contienen tanto taninos condensados como hidrolizables, en varios estudios se ha identificado que las semillas de uva presentan mayor concentración de taninos condensados (Schofield et al., 2001). Se ha reportado también que conforme la maduración de las uvas avanza, los taninos se polimerizan, por tanto, el tipo y concentración de estos compuestos varía dependiendo del estado fisiológico del fruto (Kennedy et al., 2001).

Los taninos son considerados metabolitos secundarios, su producción en el tejido vegetal es influenciada por condiciones climáticas, de suelo, ataque de patógenos, entre otros factores (Thakur et al., 2019). Estos compuestos pueden acumularse en diferentes partes de la planta (semillas, corteza, raíz, etc.) y pueden alcanzar un contenido total de 2% a 7% en peso fresco de la planta (Haslam, 2007).



Figura 4. Extractos tánicos concentrados

3.3. Prueba de solubilidad

En la Tabla 3, se puede observar que los extractos de taninos de caoba y cedro son solubles en agua, estos resultados demuestran la relación entre el solvente utilizado para la obtención del extracto correspondiente con el solvente para la prueba de la solubilidad. Este ensayo se realizó con el objeto de determinar el solvente más adecuado para llevar a cabo las pruebas de identificación de taninos en los extractos, ya que si no se selecciona el solvente adecuado presenta interferentes como la turbidez que afecta en la observación y evaluación de la reacción.

Tabla 3. Solubilidad de los extractos de taninos en muestras de corteza de cedro y caoba

Solvente	Extracto de taninos	
	Cedro	Caoba
Hexano	Insoluble	Insoluble
Alcohol	Insoluble	Insoluble
Agua	Soluble	Soluble



Figura 5. Pruebas de solubilidad de taninos

3.4. Densidad del extracto

La densidad de los extractos de taninos tanto para el cedro como para la caoba se muestra en la Tabla 4. La densidad expresa la relación entre la masa y el volumen del extracto, lo que significa que los constituyentes de los extractos son más livianos que el agua, por consiguiente, es de bajo peso molecular.

Tabla 4. Densidad de los extractos de taninos en muestras de corteza de cedro y caoba

Muestra	Densidad (g/mL)
Cedro	0,972
Caoba	0,976

3.5. Identificación de taninos

El resultado de la reacción de identificación se muestra en la Tabla 5. Una de las reacciones más utilizadas para identificar taninos es el reactivo de tricloruro de hierro (FeCl_3) (Lock, 1997). Mediante el tamizaje fitoquímico se determinó que las especies estudiadas contienen taninos de tipo hidrolizables o pirogálicos, debido a que la coloración mostrada después de la reacción con el FeCl_3 fue de color verde en ambos casos además porque los extractos de los taninos son solubles en agua (Espinal-Corrales, 2009).

Tabla 5. Reacción de identificación de los extractos de taninos en muestras de corteza de cedro y caoba.

Muestra	Reactivo de identificación
Cedro	FeCl ₃ (coloración)
Caoba	Verde

4. Conclusiones

Las muestras de corteza de caoba presentaron 46,1% de taninos, mientras que para el cedro fue 42,2%, lo que constituyen fuentes muy importantes de taninos y una gran alternativa de utilización de los desechos de la industria maderera de la región Madre de Dios. Los extractos de cortezas de las dos especies contienen taninos del tipo hidrolizable o pirogálico, de acuerdo con lo observado en la reacción con el FeCl₃.

Financiamiento

Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no incurren en conflicto de intereses.

Contribución de autores

Q-H, R. y F-H, Y.: conceptualización, análisis formal, investigación, escritura (preparación del borrador final).

S-Q, L. y P-V, Y: metodología, investigación, curación de datos, redacción (revisión y edición).

Referencias bibliográficas

- AOAC. (2019). *Official methods of analysis of the association official analytical chemists* Analysis (21st ed.). Association of Official Analytical Chemist.
- ACP. (2007). *Manual de Reforestación: Especies Maderables Tradicionales* (Editora Sibauste S.A. (ed.)). Autoridad del Canal de Panamá. https://www.jica.go.jp/project/spanish/panama/2515031E0/data/pdf/1-51_01.pdf
- Alqethami, A., & Aldhebiani, A. (2021). Medicinal plants used in Jeddah, Saudi Arabia: Phytochemical screening. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 805-812. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.013>
- Ariyanto, D., Bengen, D., Prartono, T., & Wardiatno, Y. (2018). The relationship between content of particular metabolites of fallen mangrove leaves and the rate at which the leaves decompose over time. *Biodiversitas*, 19(3), 700-705. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d190304>
- Bindon, K., & Kennedy, J. (2011). Ripening-Induced Changes in Grape Skin Proanthocyanidins Modify Their Interaction with Cell Walls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(6), 2696-2707. <https://doi.org/10.1021/jf1047207>
- Cheyrier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 223S-229S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.223S>
- Espinal-Corrales, N. (2009). *Extracción y caracterización fisicoquímica del contenido tánico en la corteza de cinco especies forestales procedentes del departamento de Petén, aprovechando el subproducto de la industria de aserradero* [Universidad de San Carlos de Guatemala].

- http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1114_Q.pdf
- Espinosa, T., & Valle, D. (2020). Evaluación poblacional de *Dipteryx micrantha* en la cuenca del río Las Piedras, Madre de Dios (Perú). *Revista Forestal del Perú*, 35(3), 76. <https://doi.org/10.21704/rfp.v35i3.1603>
- Falcão, L., & Araújo, M. (2018). Vegetable tannins used in the manufacture of historic leathers. *Molecules*, 23(5), 8-10. <https://doi.org/10.3390/molecules23051081>
- Fraga-Corral, M., García-Oliveira, P., Pereira, A., Lourenço-Lopes, C., Jimenez-Lopez, C., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2020). Technological application of tannin-based extracts. *Molecules*, 25(3), 1-27. <https://doi.org/10.3390/molecules25030614>
- Guo, L., Qiang, T., Ma, Y., Ren, L., & Dai, T. (2021). Purification and characterization of hydrolysable tannins extracted from *Coriaria nepalensis* bark using macroporous resin and their application in gallic acid production. *Industrial Crops and Products*, 162, 113302. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113302>
- Haslam, E. (2007). Vegetable tannins - Lessons of a phytochemical lifetime. *Phytochemistry*, 68(22-24), 2713-2721. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.09.009>
- Ikenyiri, P., Abowei, F., Ukpaka, C., & Amadi, S. (2019). Characterization and Physicochemical Properties of Wood Sawdust in Niger Area, Nigeria. *SSRN Electronic Journal*, 5(3), 190-197. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3407342>
- Isaza M., J. H. (2007). Taninos o polifenoles vegetales. *Scientia Et Technica*, 1(33), 13-18. <https://revistas.utp.edu.co/index.php/revistaciencia/article/view/5817>
- Kato-Schwartz, C., de Sá-Nakanishi, A., Guidi, A., Gonçalves, G. de A., Bueno, F., Zani, B., de Mello, J., Bueno, P., Seixas, F., Bracht, A., & Peralta, R. (2020). Carbohydrate digestive enzymes are inhibited by *Poincianella pluviosa* stem bark extract: relevance on type 2 diabetes treatment. *Clinical Phytoscience*, 6(1), 0-10. <https://doi.org/10.1186/s40816-020-00177-w>
- Kennedy, J., Hayasaka, Y., Vidal, S., Waters, E., & Jones, G. (2001). Composition of Grape Skin Proanthocyanidins at Different Stages of Berry Development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5348-5355. <https://doi.org/10.1021/jf010758h>
- Neve-Ombra, M., D'Acerno, A., Nazzaro, F., Spigno, P., Riccardi, R., Zaccardelli, M., Pane, C., Coppola, R., & Fratianni, F. (2018). Alpha-amylase, α -glucosidase and lipase inhibiting activities of polyphenol-rich extracts from six common bean cultivars of Southern Italy, before and after cooking. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 69(7), 824-834. <https://doi.org/10.1080/09637486.2017.1418845>
- Olivas-Aguirre, F., Wall-Medrano, A., González-Aguilar, G., López-Díaz, J., Álvarez-Parrilla, E., de la Rosa, L., & Ramos-Jimenez, A. (2015). Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nutrición Hospitalaria*, 31(1), 55-66. <https://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.7699>
- Oliveira, A., Soares-Filho, B., Costa, M., Lima, L., Garcia, R., Rajão, R., & Carvalho-Ribeiro, S. (2019). Bringing economic development for whom? An exploratory study of the impact of the Interoceanic Highway on the livelihood of smallholders in the Amazon. *Landscape and Urban Planning*, 188(May), 171-179. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2019.04.025>
- Saravia, J., Cano, T., Chávez, B., Cano, E., & Cerezo, O. (2002). *Extracción y caracterización de taninos en contera de 3 especies forestales cultivadas en Guatemala, Pino ocote (Pinus oocarpa Schiede), Encino negro (Quercus brachystachys Benth) y Aliso común (Alnus jorulensis HBK.). Una alternativa de desarrollo agroí [Universidad de San Carlos de Guatemala]*. <https://digi.usac.edu.gt/bvirtual/informes/puidi/INF-2002-039.pdf>
- Schofield, P., Mbugua, D., & Pell, A. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Animal*

- Feed Science and Technology*, 91(1-2), 21-40. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00228-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00228-0)
- Lock, O. (1997). Colorantes Naturales. In *Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú*.
- Thakur, M., Bhattacharya, S., Khosla, P., & Puri, S. (2019). Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 12, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.11.004>
- Torchio, F., Cagnasso, E., Gerbi, V., & Rolle, L. (2010). Mechanical properties, phenolic composition and extractability indices of Barbera grapes of different soluble solids contents from several growing areas. *Analytica Chimica Acta*, 660(1-2), 183-189. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.10.017>
- Valencia, C. (1995). *Fundamentos de fitoquímica* (1° edición). Editorial Trillas.
- Villena, C. (2006). *Métodos de investigación científica y tecnológica*. UNSAAC.