



Evaluación del contenido de taninos condensados en tallo de algodón y paja de trigo utilizando métodos gravimétricos

Alexandra J. Valenzuela¹, Mary T. Beleño¹, Ariana I. Torres¹, Laura J. Pérez¹, Rubén Encinas¹, Ricardo Torres^{1,*}

¹Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Baja California, Ejido Nuevo León, 21705, Mexicali.

*Ricardo.torres26@uabc.edu.mx

Resumen

En Baja California-México, se disponen de grandes cantidades de paja de trigo y vara de algodón que pueden ser utilizadas para la obtención de taninos. Esto permitiría la valorización de residuos agrícolas y evitaría las quemas a cielo abierto. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el contenido de taninos condensados en estos residuos. Se realizó una extracción con etanol y se determinó el contenido de taninos en los extractos secos utilizando el Número Stiasny. Los extractos etanólicos secos se caracterizaron por espectrofotometría infrarroja. Los resultados indican que el porcentaje de extraíbles en etanol fue 15.29% para corteza de vara de algodón y 10.36% para paja de trigo. Mientras el rendimiento de taninos condensados en la corteza de vara de algodón fue 8.71% y en la paja de trigo fue 5.53%. Los espectros obtenidos revelan los grupos funcionales característicos de los polifenoles en los extractos etanólicos secos.

Palabras claves: taninos condensados, vara de algodón, paja de trigo, Número Stiasny

Abstract

In Baja California-Mexico, there are large amounts of wheat straw and cotton stalk that can be used to obtain tannins. This would allow the recovery of agricultural residues and would avoid open burning. Therefore, the objective of this work was to evaluate the content of condensed tannins in these residues. An ethanol extraction was carried out and the tannin content in the dry extracts was determined using the Stiasny Number. The dried ethanolic extracts were characterized by infrared spectrophotometry. The results indicate that the percentage of extractables in ethanol was 15.29% for cotton stalk and 10.36% for wheat straw. While the yield of condensed tannins in cotton stalk was 8.71% and in wheat straw it was 5.53%. The spectra obtained reveal the characteristic functional groups of the polyphenols in the dry ethanolic extracts.

Keywords: condensed tannins, cotton stalk, wheat straw, Stiasny Number



1. Introducción

Los taninos o compuestos polifenólicos constituyen una clase de metabolitos secundarios presentes en todos los tejidos vegetales de muchas plantas, se pueden encontrar en las flores, frutos, semillas, hojas, raíces, madera y cortezas, indistintamente de su ubicación geográfica [1][2]. El mecanismo de acción de estos compuestos ha sido un tema de múltiples debates ya que poseen numerosos efectos biológicos incluyendo la regulación de la expresión de los genes y actividad de diversas enzimas. Dada su complejidad y diversidad en estructuras química, estos compuestos suelen clasificarse como taninos hidrolizables y taninos condensados. Los taninos hidrolizables son moléculas de tamaño discreto que provienen de la esterificación de compuestos polifenólicos no flavonoides, como ácido gálico o elágico; capaces de ser hidrolizados por ácidos o enzimas a un azúcar y a un ácido carboxílico fenólico [3]. Mientras que los taninos condensados o proantocianidinas, son polímeros aromáticos multihidroxilados que provienen de la esterificación de compuestos polifenólicos flavonoides de 15 carbonos (C6-C3-C6), como las catequinas o flavan-3-oles, de diverso tamaño y constitución según su origen [3]. Los taninos condensados constituyen más del 90 % de la producción comercial de taninos en el mundo, ya que son químicamente importantes en la preparación de adhesivos, resinas, tintas, medicamentos, cosméticos y para el curtido de pieles [4],[5].

Uno de los principales factores que afectan el rendimiento de la extracción de taninos es el solvente utilizado. Los solventes comúnmente usados son; agua, etanol, metanol, etc., así como las mezclas de estos. En general, las técnicas y métodos de cuantificación de taninos presentes en extractos varían según el tipo de taninos objeto de estudio. Para la determinación de taninos condensados se puede utilizar el número de Stiasny, el cual es un método gravimétrico adecuado para la cuantificación de este tipo de metabolitos en extractos líquidos o liofilizados [6][7]. Este método aprovecha la reacción de condensación que experimentan los compuestos poliflavonoides o taninos condensados al reaccionar con cantidades de formaldehído u otros agentes entrecruzantes en medio ácido [8], esta reacción da como producto de condensación un sólido polimérico, siendo el valor de Stiasny directamente proporcional a la concentración de dichos compuestos en un extracto.

Baja California es el segundo estado productor de trigo y algodón en México. La preponderante actividad agrícola que se desarrolla en el estado tiene lugar en el Valle de Mexicali. En 2021, se cultivaron 47,929 ha de trigo y 13,522 ha de algodón [9]. Dichos cultivos generaron aproximadamente 349,881 ton de paja de trigo y 56,792 ton de vara de algodón en el mismo periodo [10]. Estas grandes cantidades de residuo vegetal podrían convertirse en una fuente importante para la obtención de taninos. Por tanto, El objetivo de esta investigación fue evaluar el contenido de taninos condensados en la corteza de vara de algodón del género *Gossypium Hirsutum* L y en la paja de trigo del género *Triticum aestivum*, residuos del Valle de Mexicali, usando el método gravimétrico Número Stiasny y etanol como solvente de extracción. Los extractos etanólicos secos se caracterizaron por espectrofotometría infrarroja.

2. Metodología experimental

2.1 Preparación de las muestras

Las muestras vegetales utilizadas en este trabajo fueron colectadas en el Valle de Mexicali. Específicamente, la paja de trigo se colectó en Ejido Guadalupe Victoria en las coordenadas



(32.306487, -115.122642). Mientras que la corteza de algodón fue colectada en el Ejido Xalapa en las coordenadas (32.530230, -115.205333), como se muestra en la Figura 1. Después de la recolección, las muestras fueron lavadas con agua desionizada a 20°C para retirar partículas de polvo. Luego, se secaron durante 5 días a temperatura ambiente. Una segunda etapa de secado se realizó en una mufla de la marca Thermo scientific durante 3 días a 40°C. Enseguida, el material vegetal fue triturado en un molino de cuchillas GRINDOMIX GM 300 de la marca Retsch. Posteriormente, el tamaño de partícula de las muestras se homogenizó utilizando un tamiz de apertura 1.0 cm. Finalmente, se determinó porcentaje de humedad en las muestras utilizando una mufla Thermo scientific a 105°C durante 24 h.

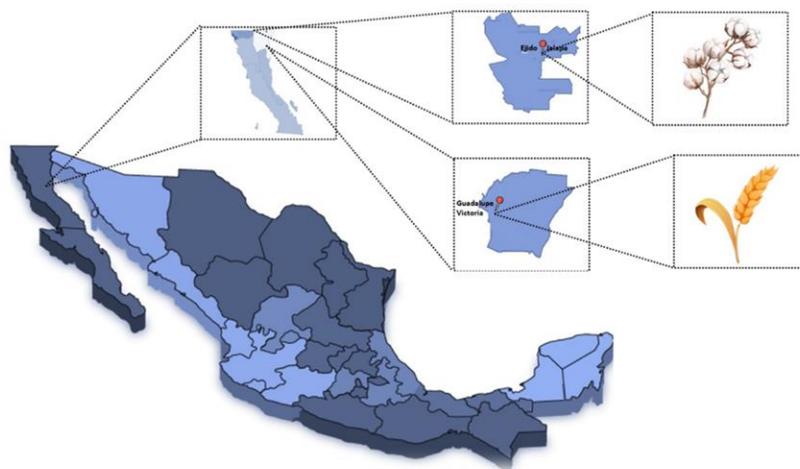


Fig 1. Ubicación geográfica de los sitios de muestreo.

2.2 Extracción de taninos etanol

Las extracciones se realizaron por triplicado, se tomaron 25g de cada muestra y se le adicionaron 200 mL de etanol al 95%, la mezcla se puso en reflujo a 70°C durante tres horas, con agitación constante. Transcurrido las tres horas, las muestras fueron filtradas al vacío en caliente, utilizando un papel filtro Whatman N° 54 (tamaño de poro 22 µm). Los extractos filtrados se concentraron en un evaporador rotatorio y se secaron completamente en una mufla a 40°C en un vaso de precipitado. La cantidad de material extraído se determinó por diferencia de peso en la muestra, antes y después de la extracción.

2.3 Determinación de número Stiasny

El número Stiasny se determinó por triplicado usando los extractos etanólicos secos obtenidos de la paja de trigo y la corteza de vara de algodón. Se pesó 0.1 g de extracto, el cual se depositó en un Erlenmeyer de 125 ml y se agregaron 10 ml de metanol. A la mezcla resultante se le adicionaron 1 ml de HCl concentrado, 2 ml de formaldehído al 37% y se calentó a ebullición durante 30 minutos. Seguidamente la mezcla fue filtrada al vacío en un embudo Büchner, empleando un papel filtro whatman N° 54, previamente tarado. El residuo sólido obtenido se secó a 105°C hasta alcanzar masa

constante. La masa del sólido corresponde a la cantidad de tanino condensable presente en el extracto seco, y se expresa como un porcentaje respecto a la masa inicial del extracto seco, según lo establecido en la expresión del número Stiasny ecuación 1.

$$\text{Número Stiasny} = \frac{\text{masa seca de residuo sólido}}{\text{masa seca inicial de muestra}} * 100 \quad (1)$$

2.4 Análisis por espectroscopia infrarroja

Los extractos obtenidos de la paja de trigo y la corteza de vara de algodón se caracterizaron por espectroscopia infrarroja, utilizando un espectrofotómetro infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR), marca Hach, modelo DR 5000, con el fin de confirmar mediante esta técnica la naturaleza química del producto aislado, a partir de la identificación de los grupos funcionales presentes en las estructuras de los metabolitos obtenido.

3. Resultados experimentales

Como resultado del proceso extractivo se obtuvieron extractos de color carmelita rojizo para la vara de algodón y amarillo pajizo para la paja de trigo como se muestra en la Figura 2.

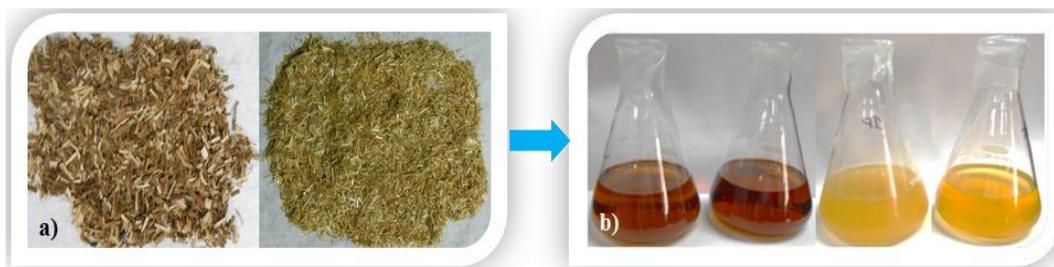


Fig 2. a) Muestras tamizadas de corteza de vara de algodón y paja de trigo b) Extractos etanólicos de vara de algodón y paja de trigo.

Se observó un color más intenso en los extractos etanólicos de la corteza de vara de algodón con respecto al color mostrado en los extractos de paja de trigo. Esto se reflejó en el porcentaje de material extraíble y el porcentaje de taninos condensados reactivos con formaldehído en medio ácido. En la Tabla 1 se muestran los valores promedios del porcentaje de humedad, material extraíble y taninos condensados en las especies analizadas. La desviación estándar de los resultados experimentales, en lo que respecta al porcentaje de taninos condensados fue 0.16% para paja de trigo y 0.14% para la corteza de vara de algodón, esto demuestra la consistencia de los datos experimentales obtenidos.



Especie	Género	Humedad promedio (% m/m)	Material extraído (% m/m)	Taninos Condensados (% m/m)
Vara de algodón	Gossypium Hirsutum L	6.7709	15.29	8.71
Paja de trigo	Triticum aestivum	8.8348	10.36	5.53

Tabla 1. Porcentajes promedios de los análisis realizados en las especies seleccionadas

Un factor importante que se debe considerar es la viabilidad de las especies vegetales como fuentes naturales de taninos. Se consideran rentables aquellas especies cuyos rendimientos en taninos en la corteza o en la madera sean superiores al 8.0 % [11]. En nuestro estudio la especie que superó este valor fue la corteza de vara de algodón con 8.71 %. Mientras el porcentaje de taninos condensados en la paja de trigo fue relativamente bajo con 5.53%. Sin embargo, dada la gran cantidad de residuo que genera el cultivo de trigo en el Valle de Mexicali, este residuo podría ser una fuente de taninos.

Los espectros IR de los extractos secos obtenidos a partir de paja de trigo y corteza de vara de algodón se muestran en las Figuras 3 y 4. Estos extractos corresponde a sustancias químicas presentes en el material vegetal que se logran solubilizar en etanol. Por lo tanto, los espectros IR pueden incluir una gran cantidad de compuestos, sin embargo, se logran identificar bandas de adsorción que pueden ser atribuidas a los compuestos polifenólicos [12][13]. Se observaron bandas absorción intensas entre 3,421 y 3,024 cm^{-1} , correspondientes a los grupos hidroxilo (-OH) presentes en los compuestos fenólicos. Las señales de 1,618 y 1,633 cm^{-1} son productos del alargamiento de los enlaces C=C de las estructuras aromáticas presentes en este tipo de metabolitos. También, se localizaron bandas alrededor de 1105 cm^{-1} atribuidas a la presencia de C-O en fenoles [12][13].

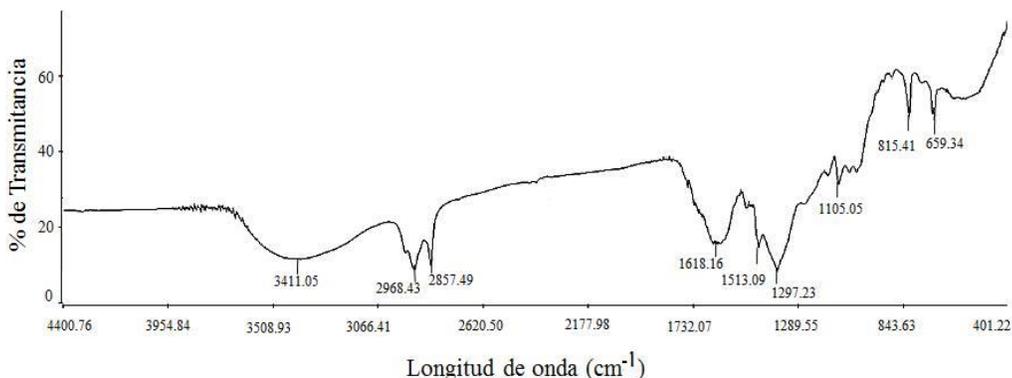


Fig 3. Espectro de absorción infrarroja del extracto etanólico seco obtenido a partir de paja de trigo (*Triticum aestivum*).

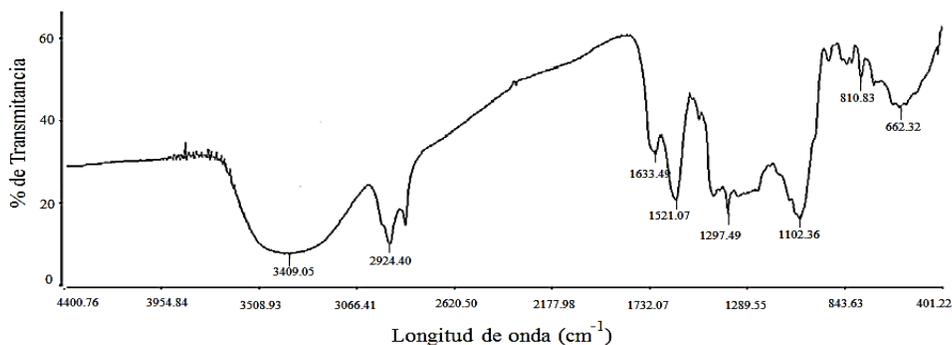


Fig 4. Espectro de absorción infrarroja del extracto etanólico seco obtenido a partir de corteza de vara de algodón (*Gossypium Hirsutum L.*).

4. Conclusiones

Se evaluó el contenido de material extraíble en paja de trigo (*Triticum aestivum*) y corteza de vara de algodón (*Gossypium Hirsutum L.*). La especie que presentó mayor cantidad de material extraíble fue *Gossypium Hirsutum L.* Asimismo. Se evaluó el porcentaje de taninos condensados en los extractos secos, siendo 8.71% el porcentaje en corteza de vara de algodón y 5.53% en paja de trigo. La naturaleza polifenólica de estos metabolitos queda confirmada a partir de los grupos funcionales característicos de los polifenoles observados en los espectros IR de los extractos etanólicos secos. Estos resultados son muy importantes porque permiten concentrar el interés de futuras investigaciones en el reconocimiento y evaluación de los taninos condensados presentes en estas especies, con el fin de encontrar aplicaciones a las grandes cantidades de residuo vegetal que generan los cultivos de trigo y algodón en el Valle de Mexicali.

5. Agradecimientos

Agradecimientos al Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California por su apoyo en este trabajo

6. Referencias

- [1] González, Gabriela L., et al. "Cuantificación de taninos condensados en especies forrajeras comparando el secado en estufa vs. el liofilizado de las muestras para la metodología Butanol-HCl." *Revista Científica y Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental* 9.2 (2022).
- [2] Yu, Xiaoxi, et al. "Characterisation and Quantification of Condensed Tannins in Rapeseed Hulls and Meals by Depolymerization Methods." *Journal of Food Composition and Analysis* (2022): 105004.
- [3] Wong-Paz, Jorge E., et al. "Structural characterization of native and oxidized procyanidins (condensed tannins) from coffee pulp (*Coffea arabica*) using phloroglucinolysis and thioglycolysis-HPLC-ESI-MS." *Food chemistry* 340 (2021): 127830.



- [4] Ge, Wenju, et al. "The differentiation between condensed and hydrolyzable tannins with different molecular weights in affecting the rheological property of wheat flour-based dough." *Journal of Cereal Science* 111 (2023): 103666.
- [5] YU, Xiaoxi, et al. Characterisation and quantification of condensed tannins in rapeseed hulls and meals by depolymerization methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2023, vol. 115, p. 105004.
- [6] Suomi-Lindberg, Leena. "Bark extracts and their use in plywood bonding." *Paperi ja puu* 67.2 (1985): 65-69.
- [7] Gonçalves, Fabricio Gomes, et al. "Extracción de taninos de la corteza de Pinus spp tratada térmicamente-aplicación como adhesivo." *Madera y bosques* 27.1 (2021). (pag 1-9)
- [8] Kuzak, Stephen G., John A. Hiltz, and Phillip A. Waitkus. "Impact performance of phenolic composites following thermal exposure." *Journal of applied polymer science* 67.2 (1998): 349-361.
- [9] SIAP. 2022. Cierre de la producción agrícola por estado. Servicio de Información Alimentaria y Pesquera. Retrieved from: <http://www.siap.gob.mx>
- [10] Torres, Ricardo, et al. "Char production with high-energy value and standardized properties from two types of biomass," *Biomass Conversion and Biorefinery* (2021): 1-17.
- [11] Rosales, M., A. Galindo, and R. F. González. "Taninos condensados en la corteza de Pinus chihuahuana y Pinus durangensis." *Información tecnológica* 13.1 (2002): 39-42.
- [12] Espinoza-Acosta, José Luis, et al. "Extracción, caracterización y actividad antioxidante de lignina de lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) y cáscara de nuez pecanera (*Carya illinoensis*)." *Biotecnia* 24.2 (2022): 94-103.
- [13] Cuetocue-Petins, Marlon Manuel, et al. "Optimización del proceso de obtención de un adsorbente natural a partir de corteza de pino." *Revista Ion* 33.2 (2020): 61-70.