



PRÁCTICA DE DETERMINACIÓN ANALÍTICA II



TANINOS

Es un compuesto fenólico (polifenol) que se encuentra en la composición química del sorgo, está localizado principalmente en la testa y además en la parte exterior e interior del pericarpio.

Se dividen en:

- **Solubles o hidrosoluble:** No representan un factor negativo al considerar su valor nutritivo.
- **Condensados:** responsables de caracteres que afectan negativamente el valor nutritivo del grano, produciendo:
 - Disminución de disponibilidad de proteínas.
 - Inhiben la acción enzimática (amilasa).
 - Deprimen la palatabilidad.
 - Disminución de digestibilidad al igual que la energía metabolizable. Y reducen la eficiencia alimentaria hasta en un 30% en aves y porcinos.

A su vez también responsables de caracteres agronómicos deseables.

- Sistema de protección natural, dando más resistencia al ataque de hongos resistencia del grano al deterioro ambiental.
- Reduce pérdidas por depredación de pájaros.

Los sorgos con taninos empleados en dietas puras de monogástricos, tienen efectos detrimentes sobre el valor nutricional, ya que se ligan a las proteínas, las precipitan, reduciendo de esta manera tanto la proteína total como su digestibilidad.

Método - Procedimiento:

Una de las técnicas para determinarlo consiste en una extracción acuosa de la muestra problema,



molida previamente. Para cuantificar los taninos condensados presentes en el grano de sorgo se utiliza un método colorimétrico que utiliza como estándar catequina. La lectura de los mismos se realiza mediante un espectrofotómetro.

A la muestra molida se le agrega agua destilada (muestra + agua), el tanino es soluble en agua, se lo separa del líquido sobrante se toma 1ml y se lo mezcla con una solución de cloruro férrico y ferrocianuro de potasio. Aquí se forma un complejo de color verde a azul, que se lee en un espectrofotómetro (para pasar de coloración a concentración).

Coloración de la solución	Concentración	
Amarillo	Baja	Hasta 0,4% de ác. tánico
Verde	Media	Desde 0,4% a 0,8%
Verde azulado	Alta	Mayor a 0,8%

Para poder realizar los contratos de calidad, hoy contamos con la Norma de Calidad para la Comercialización de Sorgo Resolución 554/2011 que clasifica a los Sorgos por Color y Contenido de Taninos. La definición de Sorgos sin Taninos es la siguiente siendo asimismo la Prueba del Blanqueo del Cloro la que se utiliza a tal fin: Sorgo Bajo tanino o sin taninos condensados: Lote o partida que contenga no más de CINCO POR CIENTO (5%) de granos con taninos condensados. Entiéndase por granos con taninos condensados, aquellos que son identificados como tales en la "prueba de blanqueo con hipoclorito de sodio (lavandina) con base hidróxido de sodio".

METODO PATRON

• Folin-Denis:

- Cuantitativo.
- Colorimétrico (espectrofotométrico).
- Uso patrón.
- Determina taninos condensados y no condensados.

Extracción y determinación:

Pesar 2 gramos de sorgo molido en un vaso de precipitados, hervir 15 minutos con 100 ml de agua destilada. Filtrar a través de papel de filtro de filtración rápida, lavar el residuo con agua destilada y filtrar al vacío. Trasvasar el filtrado a un matraz aforado de 250 ml, enrasar con agua destilada. Para determinar el contenido de tanino de la muestra se toma una alícuota de 5 ml y se transfiere a un matraz aforado de 100 ml que contenga (75 - 80) ml de agua destilada, se le agregan 2 ml del reactivo de FOLIN - DENIS, 5 ml de solución de carbonato de sodio al 35 % y agua destilada hasta enrasar. Mezclar bien, dejar 30 minutos, y luego medir la absorbancia a 760 nm. El resultado se obtiene en gramos de ácido tánico por 100 ml. Luego calcula el porcentaje en la muestra de acuerdo a las diluciones hechas.

Reactivos:

- 75 ml de agua destilada.



- 10 g de wolframato de sodio dihidratado ($\text{WO}_4 \text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).
- 2 g de ácido fosfomolibdico.
- 5 ml de ácido fosfórico ($\text{PO}_4 \text{H}_3$)
- Hervir a reflujo durante dos horas, enfriar.
- Trasvasar a un matraz aforado de 100 ml, enrasar con agua destilada.
- Solución saturada de carbonato de Sodio.
- 35 g de carbonato de sodio ($\text{CO}_3 \text{Na}_2$) se añaden a 100 ml de agua destilada a 80°C
- Dejar estar toda una noche y sembrar unos cristales de carbonato de Sodio.

• **Disolución patrón de ácido tánico:**

Pesar 10 mg de ácido tánico - diluir a 100 ml de matraz aforado (0,1 mg/ml), prepara a diario.

Curva de calibración.

Agregar a matraces aforados de 100 ml que contengan (75 - 80 ml) de agua destilada las siguientes alícuotas de la solución patrón de ácido tánico:

ml de solución	0	0,8	1,0	1,2	1,6	2,0	2,5	3,0
mg ácido tánico / 100 ml	0	0,08	0,10	0,12	0,16	0,20	0,25	0,30

Agregar 2 ml del reactivo de FOLIN - DENIS, 5 ml de solución de carbonato de Sodio al 35 % y agua destilada hasta enrasar. Mezclar bien. Dejar 30 minutos y luego medir la absorbancia a 760 nm (ver nota).

Cálculos de los resultados:

Graficar en papel milimetrado. Absorbancia vs. mg ácido tánico / 100 ml solución. Obtenidos los valores de absorbancia para las muestras, interpolar para calcular los mg tánico / 100 ml existentes en la solución de la muestra. Para calcular el % de tanino en las muestras tener en cuenta que:

250 ml2 g de sorgo.

5 ml2g X 5 ml = 0,04 g de sorgo.
250 ml.

Suponiendo que de acuerdo a la absorbancia se obtiene una concentración de 0,08 mg tánico / 100 ml.

Entonces:

0,04 g de sorgo = 40 mg de sorgo.

40 mg de sorgo.....0,08 mg de tanino.

100 mg de sorgo $\frac{0,08 \times 100}{40} = 0,8 = 0,2 \%$

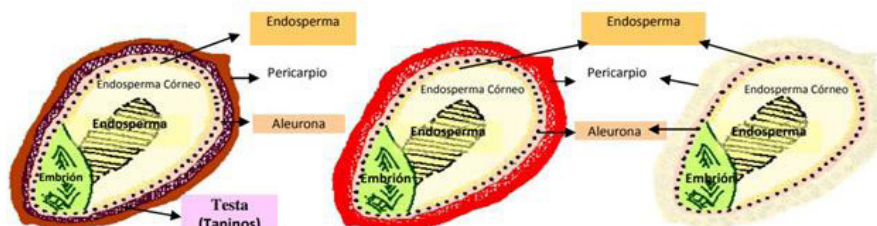
De donde resulta: concentración de tanino = 0,2 % -----Baja concentración

METODOLOGÍA RÁPIDA

• METODO PARA EL RECIBO Y CLASIFICACION DE LA MERCADERIA:

Determinación de granos con taninos condensados: Para determinarlos se utilizará la “Prueba del blanqueo con cloro” (Chloro bleach test con base alcalina), de acuerdo al siguiente procedimiento: Reactivo de blanqueo disolver CINCO (5) gramos de hidróxido de sodio en CIEN (100) mililitros de solución de hipoclorito de sodio al TRES COMA CINCO POR CIENTO (3,5%) (Lavandina comercial).

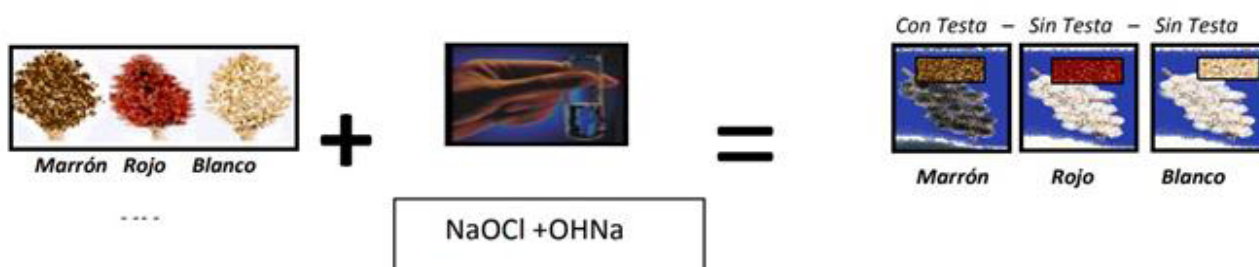
CORTE TRANSVERSAL DE GRANOS DE SORGO CON Y SIN TESTA PIGMENTADA PRESENTE



Procedimiento:

Antes de realizar la técnica se deben ensayar un patrón de sorgo con tanino y otro bajo tanino o sin taninos condensados. El test debe realizarse por duplicado obteniéndose un valor medio entre ambos resultados. Colocar CIEN (100) granos de sorgo entero en un vaso de precipitado de CINCUENTA (50) mililitros. Agregar solución de blanqueo hasta cubrir los granos de sorgo y tapar con papel de aluminio. No exceder un volumen de solución de blanqueo que podría producir falso positivo. Dejar en contacto a temperatura ambiente VEINTE A TREINTA GRADOS CENTIGRADOS (20° C a 30° C) por VEINTE (20) minutos. Agitar el contenido del vaso cada CINCO (5) minutos aproximadamente. Vaciar el contenido del vaso en un colador, descartando la solución de blanqueo. Enjuagar los granos de sorgo con agua corriente. Volcar, los granos enjuagados en el colador, sobre una toalla de papel y secar por encima con otra toalla. Contar los granos oscurecidos (granos con tanino). Los granos sin tanino son los que se han blanqueado por completo o están marrones en alguna parte de la superficie. Se efectúa el conteo de granos enteros que se hayan identificado con presencia de taninos condensados y se determina su porcentaje en la muestra, en relación con la cantidad de granos enteros totales de la misma.

Prueba del Blanqueo con Cloro



OTROS MÉTODOS:

- Método Price y Butler.
- Por hipoclorito de sodio.