

Extracción de taninos presentes en el banano verde

Ángela María Velásquez Valderrama

Ingeniera Química, Candidata a Magíster en Gerencia del Desarrollo (U.P.B.), profesora del Programa de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ingenierías de la Corporación Universitaria Lasallista

Correspondencia: Ángela María Velásquez Valderrama email: anvelasquez@lasallista.edu.co

Línea de investigación: Bioprocesos

Tannin extraction from green bananas

Resumen

Introducción: El banano verde de rechazo es un residuo de cosecha, que posee un alto contenido en taninos y polifenoles y un bajo contenido en fibra y proteína. Los taninos son sustancias antinutricionales que impiden el uso del banano verde de rechazo (boleja) en la alimentación animal, como fuente energética. La extracción selectiva con solventes es una ruta de separación para la obtención de taninos. Los resultados que se dan a conocer en el presente trabajo evidencian que este método de separación es efectivo en la remoción de taninos de la boleja. **Objetivo:** Extraer los taninos del banano verde de rechazo (boleja) utilizando la extracción con solventes. **Materiales y métodos:** La obtención de los extractos alcohólico y acuoso y su evaluación cualitativa, fue realizada combinando diferentes formas de extracción y determinación cualitativa de taninos que se detalla en la literatura de análisis químico e instrumental. El análisis cuantitativo de taninos se efectuó mediante métodos colorimétricos utilizando un espectrofotómetro UV/VIS, donde las muestras fueron leídas a 700 nm y referidas a ácido tánico. Como sustancia de referencia se utilizó ácido tánico para análisis de la firma Merck. Para la medición de la absorbancia se empleó un espectrofotómetro UV-VIS SPECTRONIC - 20. **Resultados:** los coeficientes de correlación lineal calculados para las curvas de calibración fueron: del ácido tánico: 0.9983, de la muestra A –extracto alcohólico: 0.9977, de la muestra A –extracto acuoso: 0.9822, de la muestra B –extracto alcohólico: 0.9999 y de la de la muestra B –extracto acuoso: 0.9938. **Conclusión:** La extracción de taninos del banano verde de rechazo (boleja) con solución 1:1 metanol-agua es más eficiente y eficaz que la extracción de taninos con agua.

Palabras clave: Banano verde. Extracción. Taninos.

Abstract

Introduction: Green rejected bananas are a remain from harvests, they contain high quantities of tannins and polyphenols and low contents of fibers and proteins. Tannins are antinutritional substances, and that is why they do not allow the use of rejected green bananas (“boleja”) in animal feeding, as an energy source. The selective extraction with solvents is a route of separation to obtain tannins. The results shown in this work are an evidence that this separation method is effective to remove tannins from the “boleja”. **Objective:** Extract the tannins from rejected green bananas (“boleja”) using the extraction with solvents. **Materials and methods:** The obtaining of alcoholic and watery extracts and their qualitative evaluation was made by combining different extraction and qualitative tannin’s determination procedures, thoroughly shown in the chemical and instrumental analysis literature. The quantitative tannin’s analysis was made by colorimetric methods, using a UV/VIS spectrophotometer in which the samples were read at 700 nm and referred to tannic acid. As a reference substance tannic acid from the Merck brand was used. To measure the absorbing rate a UV-VIS SPECTRONIC-20 spectrophotometer was used. **Results:** the lineal correlation coefficients calculated for the calibration curves were: From tannic acid: 0.9983, from sample A –alcoholic extract: 0.9977, from sample A –watery extract: 0.9822, from sample B: -Alcoholic extract: 0.9999 and from sample B watery extract: 0.9938. **Conclusion:** The extraction of tannins from rejected green bananas (“boleja”) with a 1:1 methanol-water solution is more efficient and effective than tannin’s extraction with water.

Key words: Green bananas. Extraction. Tannins.

Introducción

El banano de rechazo es un residuo de cosecha que posee un gran valor desde el punto de vista nutricional cuando está maduro, por ser una fuente de alto potencial energético en la alimentación animal¹. Su disponibilidad en la zona de Urabá es alta, produciéndose anualmente cerca de 280.000 toneladas de banano verde de rechazo (boleja), que equivale a un 10 – 20% de una tonelada de fruta producida². Sin embargo, gran cantidad del banano se pudre, debido a que cuando adquiere su madurez no alcanza a ser consumido.

La boleja posee un bajo contenido en fibra y proteína y un alto contenido en taninos (véase la tabla 1). Los taninos son sustancias fenólicas, resultado de la combinación de una molécula de azúcar, generalmente glucosa, con un número variable de moléculas de ácidos fenólicos, ácido gálico o su dímero, el ácido elágico (véase la Figura 1) y que tienen la habilidad de formar complejos con proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos y esteroides. Cuentan con efectos benéficos para la salud debido a que poseen propiedades astringentes, antiinflamatorias, cicatrizantes, antioxidantes y antibacterianas, entre otros. Sin embargo, en altas concentraciones, puede limitar la absorción y digestibilidad de algunos nutrientes, como es el caso del hierro y las proteínas.

Tabla 1. Composición bromatológica del banano verde³.

Índice (% en base seca)	Fruto	Cáscara
Materia seca	20	18
Extracto libre	8,2	33,5
Proteína (N x 6,25)	5,5	9,5
Extracto etéreo	1,1	8,3
Fibra bruta	1,3	26,7
Cenizas	4,0	22,0
Taninos	7,4	40,5
Almidón	72,3	

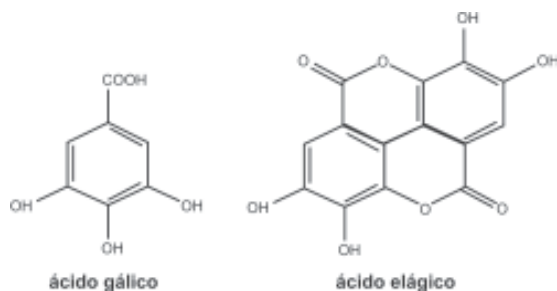


Figura 1. Fórmula estructural del ácido gálico y del ácido elágico

El banano verde de rechazo puede ser, entonces, aprovechado para la alimentación animal, si se incrementa su contenido de proteína disponible y se reduce el contenido de taninos. Este uso alternativo del banano verde también ayudaría a mejorar el progreso de la actividad bananera en Colombia, pues mitigaría parcialmente el impacto ambiental del banano maduro como demandante de oxígeno.

El presente artículo pretende dar a conocer los resultados obtenidos en la disminución del contenido de taninos del banano verde de rechazo, por medio de la extracción con solventes.

Materiales y métodos

Extracción de taninos con solución metanol-agua

Se tomaron 10.00 g de banano verde cortado en trozos de 0.50 cm de longitud y se sometieron a secado al vacío a temperatura de 40°C, por espacio de 15 minutos.

Se colocaron en un recipiente de vidrio de 1L, 2.00 g de la muestra seca con 200 mL de una solución 1:1 de metanol-agua (100 mL de metanol + 100 mL de agua destilada). Todo el sistema se dispuso sobre un baño de hielo y se agitó con un rodete de dos palas accionado por un motor de ½ hp por 3 horas.

La mezcla resultante del proceso de agitación, se centrifugó por 40 minutos a 200rpm, obteniéndose como producto de esta operación mecánica dos fases. La fase sólida conformada por el banano verde con menos contenido de polifenoles y la fase líquida formada por metanol, agua y taninos.

Por último se recolectó el sobrenadante en un recipiente con tapa y se almacenó en el refrigerador a 4°C, hasta el instante previo de su uso en la cuantificación de taninos (*fracción metanólica*).

Comentarios:

- *La reducción de tamaño de una sustancia conduce a un aumento de la relación superficie/volumen. Aumento que favorece un incremento en la velocidad de secado de los sólidos húmedos, debido a que el tiempo de secado se*

reduce considerablemente. Además favorece un crecimiento en la velocidad de extracción de compuestos solubles, debido a que aumenta el área de contacto entre el sólido y el solvente.

- El secado al vacío y la mezcla 1:1 solvente polar-solvente no polar, evitan la coagulación de las proteínas.
- El baño de hielo impide que se escape el solvente extractor.
- La agitación, además de homogenizar la mezcla, aumenta el proceso de transferencia de masa entre las sustancias.

Extracción de taninos con agua

Se tomaron 10.00 g de banano verde cortado en trozos de 0.50 cm de longitud y se sometieron a secado al vacío a temperatura de 40°C, por espacio de 15 minutos.

Se colocaron en un recipiente de vidrio de 1L, 2.00 g de la muestra seca con 200 mL de agua. La preparación se agitó por 15 minutos con un rodete de dos palas accionado por un motor de ½ hp. Una vez terminada la fase de agitación de la muestra, ésta se colocó en la hornilla hasta ebullición por 4 horas. Luego se dejó reposar, dejando que alcanzara la temperatura ambiente. Por último, se filtró la muestra, se recolectó el filtrado en un recipiente con tapa y se almacenó en el refrigerador a 4°C, hasta el instante previo de su uso en la cuantificación de taninos (*fracción acuosa*).

Análisis cualitativo de taninos⁴

El procedimiento que a continuación se describe permite una evaluación preliminar de la presencia de taninos.

En una gradilla para tubos de ensayo se colocaron dos celdas de vidrio, marcando una de ellas con el rótulo "muestra" y la otra con el rótulo "blanco". A cada celda se le añadieron 10 gotas del extracto y 10 gotas de agua destilada, con lo que se obtuvo un color amarillo.

A la celda de vidrio rotulada con la denominación "muestra", se le adicionaron 5 gotas de cloruro férrico, FeCl₃, al 5% en ácido clorhídrico 0.5M.

Comentario:

La caracterización cualitativa de taninos se hace con base en la siguiente carta colorimétrica:

Tabla 2. Carta colorimétrica para identificación de taninos

Color	Contenido	Tipo de tanino
Amarillo	Baja o nulo contenido de taninos	—
Azul oscuro	Contenido medio de taninos	Taninos pirogálicos (taninos hidrosolubles)
Verde oscuro	Alto contenido de taninos	Taninos concentrados

- Se concluye que ha ocurrido un cambio en el color de la muestra, cuando al comparar su coloración con la del blanco se encuentra que son diferentes.

Análisis cuantitativo de taninos

La determinación del contenido de taninos en el extracto alcohólico y en el extracto acuoso, se hizo utilizando la espectrofotometría ultravioleta-visible donde las muestras fueron leídas a 700 nm y su absorbancia referida a ácido tánico.

Este método se basa en la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo de Folin (tungsto-fosfomolibdico; carbonato de sodio al 20%), el cual produce un complejo de color azul, cuya extinción es medida a 700 nm, determinando el contenido total de fenoles. Posteriormente se utiliza una solución de gelatina al 25 % para garantizar el secuestro de los taninos, obteniéndose de la diferencia de ambas determinaciones el porcentaje de taninos reportados como ácido tánico⁵.

Preparación de las soluciones

Soluciones patrón de ácido tánico: Se prepararon una serie de patrones con concentración de 0, 2, 4, 6, 8 y 10 ppm utilizando una solución patrón de ácido tánico de 50 ppm y completando en todos los casos el volumen con agua destilada hasta 10 mL, en matraces aforados de 50 mL. (Tabla 3)

Tabla 3. Preparación de patrones de ácido tánico

Punto	Volumen (mL) de la solución de 50 ppm de ácido tánico	Volumen (mL) de agua destilada	Concentración (ppm)
1	0	10	0
2	2	8	2
3	4	6	4
4	6	4	6
5	8	2	8
6	10	0	10

Solución de referencia del ácido tánico: Se pesaron 25 mg de ácido tánico, se transfirieron a un balón volumétrico de 100 mL y se completó el volumen con agua destilada. De esta solución se tomó una alícuota de 20 mL, se trasladó a un balón volumétrico de 100 mL y se aforó añadiendo agua destilada. Por último, se pipetearon 4 mL de la solución anterior, se vertieron en un matraz aforado de 25 mL y se le añadieron 2 mL de agua destilada.

Blanco de la muestra A: Se pipetearon 5 mL de agua destilada y se vertieron en un matraz aforado de 25 mL.

Blanco de la muestra B: Se mezclaron 100 mL de agua destilada, 50 mL de solución de gelatina al 25%, 100 mL de solución ácida de cloruro de sodio y 10 g de caolín en polvo. La mezcla se agitó por 30 minutos, se dejó sedimentar y posteriormente se filtró. Del filtrado se tomaron 10 mL y se transfirieron a un matraz aforado de 50 mL completando el volumen con agua destilada. De esta solución se pipetearon 5 mL, se llevaron a un balón volumétrico de 25 mL.

Muestra A: Se midieron exactamente 4 mL del extracto, se transfirieron a un balón volumétrico de 250 mL y se completó el volumen con agua destilada. De esta solución se tomó una alícuota de 5 mL y se llevó a un matraz de 25 mL, adicionando posteriormente 4 mL de agua destilada.

Muestra B: Se mezclaron en un beaker 20 mL del extracto con 80 mL de agua destilada, 50 mL de solución de gelatina al 25%, 100 mL de solución ácida de cloruro de sodio y 10 g de caolín en polvo. La mezcla se agitó por 30 minutos, se dejó sedimentar y posteriormente se filtró. Del filtrado se tomaron 10 mL y se transfirieron a un matraz aforado de 50 mL completando el volumen con agua destilada. De esta solución se pipetearon 5 mL, se llevaron a un balón volumétrico de 25 mL y se adicionaron 4 mL de agua destilada.

Solución tungsto-molibdico-fosfórico (reactivo para taninos): Se disolvieron 10 g de tungstato de sodio dihidratado, 0.2 g de ácido fosfomolibdico y 5 mL de ácido fosfórico al 85% en 75 mL de agua destilada. Se reflujo durante 2 horas y luego se completó el volumen a 100 mL con agua destilada.

Preparación de las soluciones con coloración

A cada matraz aforado de 25 mL, con las respectivas muestras, blancos y solución de referencia, se le añadieron 2 mL de solución tungsto-fosfomolibdico, se agitó y se dejó reposar durante 5 minutos. Luego se añadió 1 mL de solución de carbonato de sodio al 20 %, se agitó, enrasó con agua destilada y homogenizó. Después de 2 minutos se leyó la absorbancia de las soluciones. (Tabla 4)

Tabla 4. Preparación de soluciones con coloración

	Volumen (mL)	Agua destilada	Solución carbonato de sodio al 20%	Reactivo para taninos	Agua destilada	Volumen total
Solución de referencia del ácido tánico	4 mL	2 mL	2 mL	1 mL	16 mL	25 mL
Blanco muestra A	—	5 mL	2 mL	1 mL	17 mL	25 mL
Blanco muestra B	5 mL	—	2 mL	1 mL	17 mL	25 mL
Muestra A	5 mL	4 mL	2 mL	1 mL	13 mL	25 mL
Muestra B	5 mL	4 mL	2 mL	1 mL	13 mL	25 mL

*Se utilizaron balones volumétricos de 25 mL. Todas las soluciones se enrasaron con agua destilada.

Especificidad: Se analizaron muestras que contenían solamente la sustancia de interés (taninos) y otras a las que se les secuestraron los taninos.

Repetibilidad: Se repitió el método espectrofotométrico descrito anteriormente, tres veces para cada muestra, por el mismo analista, el mismo día y con el mismo equipo.

Reproducibilidad: Se repitió el método espectrofotométrico descrito anteriormente, tres veces para cada muestra, por dos analistas, en días diferentes y con el mismo equipo.

Linealidad: Con los datos obtenidos se construyeron curvas de absorbancia (A) contra concentración (ppm), curvas de calibración de absorbancia (A) versus volumen (mL) y se efectuó un análisis de regresión lineal, calculando el coeficiente de Pearson (r), las pendientes, los interceptos y la interpretación de de estos valores.

Resultados

Cualitativos

El resultado del estudio colorimétrico cualitativo al que se sometieron la muestra A del extracto alcohólico y la muestra A del extracto acuoso, reveló diferentes tonalidades del verde y del azul en las muestras.

En el caso del secuestro de taninos del extracto alcohólico y del extracto acuoso, no se obtuvo coloración de la muestra B extracto alcohólico y de la muestra B extracto acuoso.

Cuantitativos

El primer parámetro evaluado fue la linealidad de la curva de calibración del ácido tánico, obteniéndose valores de 0.9945 y 0.9983 para r. Esta curva de calibración en el rango de las concentraciones estudiadas corresponde a la línea recta de ecuación $A = 0.0443C - 0.0114$ (A: absorbancia, C: concentración, ppm).

La curva de calibración de la muestra A, para el extracto alcohólico, en el rango de las concentraciones examinadas se ajusta a la ecuación de la línea recta $A = 0.1088V + 0.0280$ (A: absorbancia,

V: volumen, mL) y a un coeficiente de correlación de 0.9977

La curva de calibración de la muestra B, para el extracto alcohólico, en el rango de las concentraciones examinadas se ajusta a la ecuación de la línea recta $A = 0.0448V + 0.0023$ (A: absorbancia, V: volumen, mL) y a un coeficiente de correlación de 0.9999.

La curva de calibración de la muestra A, para el extracto acuoso, en el rango de las concentraciones examinadas se ajusta a la ecuación de la línea recta $A = 0.0582V + 0.0703$ (A: absorbancia, V: volumen, mL) y a un coeficiente de correlación de 0.9822

La curva de calibración de la muestra B, para el extracto acuoso, en el rango de las concentraciones examinadas se ajusta a la ecuación de la línea recta $A = 0.0440V - 0.0383$ (A: absorbancia, V: volumen, mL) y a un coeficiente de correlación de 0.9938.

Discusión

El resultado del análisis colorimétrico efectuado a los extractos alcohólico y acuoso sin tratar con gelatina, confirma las características fenólicas de los compuestos en ellos contenidos y su particularidad como taninos, debido a la ausencia de los colores azul oscuro y verde oscuro en los extractos tratados con gelatina.

El hecho de que los taninos no figuren en los extractos alcohólico y acuoso tratados con la solución de gelatina, determina la especificidad de esta sustancia para encapsular de manera selectiva los compuestos tánicos.

Las curvas de calibración en el rango de las concentraciones examinadas, demostraron ser lineales por tener coeficientes de correlación mayores a 0.9000. Además es claro que el método espectrofotométrico, utilizado en la cuantificación de los taninos es selectivo, preciso, exacto y menos engorroso que un análisis por valoración volumétrica.

Al comparar los valores de los coeficientes de correlación de las curvas de calibración de las muestras del extracto alcohólico con los valores

de los coeficientes de correlación de las muestras del extracto acuoso, se infiere que la extracción de taninos con la solución 1:1 de metanol-agua es más eficaz que la extracción de taninos con agua.

Referencias

1. HINCAPIÉ Noreña, Andrés Felipe. Ensilaje del banano en Urabá. [17-Ene-2005] URL disponible en http://www.agro.unalmed.edu.co/agrodocs/index.php?link=ver_docs&id=86
2. GARCÉS, Molina Adelaida Maria. Detoxificación de banano verde: En: Revista Lasallista de Investigación. Vol 1, No. 1 (2004); p. 48 – 55.
3. QUIROZ et al. Dynamics of Feed Resources in Mixed Farming Systems of Latin America. [24-Nov-2004] URL disponible en www.ss dairy.org/AdditionalRes/CropResidues/chap8.htm
4. GALINDO, Walter F y otros. Sustancias antinutricionales en las hojas de guamo, nacedero y matarratón. [11-Ene-2005] URL disponibles en <http://www.sian.info.ve/porcinos/publicaciones/lrrd/lrrd12/lrrd124/rome124.htm>
5. LASTRA, Valdés Humberto, RODRÍGUEZ, Leyes Eduardo y otros. Método analítico para cuantificación de taninos en el extracto acuoso de romerillo. [24-Nov-2004] URL disponible http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol5_1_00/x#x