

Divulgación

Condiciones de extracción de taninos a partir de la corteza de *Pinus patula* y estandarización del método cromatográfico (CLAR) para la determinación de catequina

J.A. Gallo-Corredor; R.A. Sarria-Villa

Grupo GIQA, Departamento de Química, Universidad del Cauca, Popayán, Colombia

Recibido: 1 de Mayo de 2007; Revisado: 13 de Julio de 2007; Aceptado: 17 de Octubre de 2007

Resumen—La gran cantidad de corteza generada como residuo agroforestal y agrícola en el suroccidente Colombiano la convierten en una excelente fuente de taninos con interesantes aplicaciones biológicas e industriales.

A las muestras de corteza se les realizó análisis proximal, se determinaron las mejores condiciones de extracción, se realizaron pruebas cualitativas, de solubilidad y se tomaron espectros infrarrojos y ultravioleta.

En el método cromatográfico se tuvo en cuenta la columna, flujo, fase móvil y longitud de onda. Se realizaron curvas de calibrado para catequina de 1-10 y 10-100 ppm. El método presentó bajos LOD y LOC, buena repetitividad, reproducibilidad y exactitud.

Palabras Clave: Catequina, corteza, cromatografía, flavonoides, taninos.

Abstract— The great amount of generated bark as agroforestry and agricultural waste in the Colombian southwest turns an excellent tannin source with interesting biological and industrial applications. The proximal analysis, the best condition of extraction, qualitative test, solubility to the bark samples were made and infrared and ultraviolet spectrum. In the chromatographic method the column considered, flow, mobile phase and wavelength. Curves were made for catechin of 1-10 and 10-100 mg/L. The method presented low LOD and LOQ, good accuracy and precision.

Keywords: Catechin, Bark, chromatography, flavonoids, tannins.

I. INTRODUCCIÓN

En el suroccidente Colombiano se generan alrededor de 100 TMD de residuos agroforestales y agrícolas como corteza, follaje entre otros, generados por las principales industrias (papeleras, agrícolas y forestales) [1]. La corteza representa del 10 % al 15 % del peso total del árbol convirtiéndola en un residuo lignocelulósico importante. En la corteza de pino se encuentran algunos flavonoides como el ácido gálico, catequina, epicatequina, procianidina, etc., los cuales le confieren propiedades antioxidantes, antivirales, antitumorales, antialérgicos, fotoprotectores, entre otras. El tipo de flavonoides presentes en estas muestras depende de ciertos factores ambientales y su extracción depende de

diferentes características fisicoquímicas como tamaño de partícula, relación corteza-solvente, temperatura, etc [2].

II. MARCO TEÓRICO

A. Análisis fisicoquímico

El análisis proximal de la corteza de *Pinus patula* mostro un 16.52 % de humedad, 0.76 % de proteína bruta, 2.56 % de grasa, 28.03 % de fibra y 0.83 % de cenizas. Los resultados muestran un alto contenido de humedad y alto contenido de fibra.

Condiciones óptimas de extracción

Parámetro	Condición
Tiempo	9 horas
Tamaño de partícula	Menor de 1.18 mm
Temperatura	70 °C
Relación /solvente (agua: etanol)	30-70 %
Relación corteza-solvente	1 – 10 (g- mL)

Tabla 1. Condiciones óptimas de extracción.

Tamaños de partícula menores de 1.18 mm y una relación de corteza-solvente de 1:10 permiten mejores rendimientos en la extracción, con un 4.77 %. El mayor rendimiento se obtiene a 9 h con un porcentaje de 6.02 %. El solvente con el cual se obtuvo un rendimiento mayor fue etanol, esto debido a la gran variedad de compuestos de diferente polaridad que se encuentran en la corteza de *P. patula*. La mejor temperatura de trabajo es en promedio de 70 °C. El rendimiento obtenido con esta temperatura es de 10.9 %, pero aquí debe tenerse presente que la temperatura de la mezcla no supere los 80 °C, debido a que por encima de esta temperatura se propicia la precipitación de compuestos insolubles con la consecuente pérdida de taninos [3].

Pruebas cualitativas para taninos

Condiciones de extracción de taninos a partir de la corteza de *Pinus patula* y estandarización del método cromatográfico (CLAR) para la determinación de catequina

Prueba	Resultado
Cloruro Férrico	Negro- azulado (+)
Agua de Bromo	Pptdo color ladrillo (+)
Sulfato de Cu/Amoniaco	(Pptdo marrón) (+)
Acetato de Plomo	(Violeta) (+)
Acido nitroso	NR (-)

(+) Positivo, (-) Negativo
Tabla 2. Resultados de las pruebas cualitativas

Con esto resultados se podrían clasificar a los extractos de corteza de *P. patula* dentro del grupo de los taninos derivados de la pirocatequina por dar negativa la prueba de ácido nitroso.

Análisis espectroscópico:

Análisis de Infrarrojo (IR). En la figura 1 se muestra el espectro Infrarrojo de la muestra de taninos.

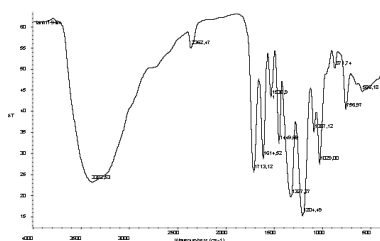


Figura 1. Espectro infrarrojo de los taninos de *P. patula*.

El espectro infrarrojo de la catequina presenta señales muy similares al de la muestra de taninos. Realizando la comparación de los espectros IR de la muestra y de la catequina, puede observarse que las señales de 3400-3300, 2359, 1600, 1521, 1465, 1374, 1287-1248, 1085, 1030, 871, 763, y 595 cm^{-1} , se presentan en ambos espectros indicando la similitud de los grupos reactivos que poseen, entre los más importantes se encuentran el grupo -OH, el -CO, y anillos aromáticos [5].

Estandarización de CLAR:

En la tabla 3 se encuentran las condiciones cromatograficas para la determinación de catequina [7].

Parámetro	Dato
Columna	μ -Bondapak C ₁₈ 150 x 3.9 mm
Volumen de inyección:	10 μ l
Flujo:	1.4 mL/min
Elusión:	Isocrática
Fase móvil:	0.5 % de Metanol en A. Acético 0.01 M - Acetonitrilo (96.5% - 3.5%)
Detector:	UV-Vis- 280 nm
Tiempo de corrida:	15 minutos
Temperatura columna:	Ambiente

Tabla 3. Condiciones cromatograficas óptimas en HPLC.

Estandarización del método analítico

Linealidad:

La curva de calibración para catequina en un rango de 1 – 10 ppm arroja un $r^2 = 0.9987$ ($y = 8.9987 \times X - 8.206$). La curva de calibración para catequina en el rango de 10 – 100 ppm arroja un r^2 de 0.9954 ($y = 116.85 \times X - 66.89$) y la curva de calibración de catequina en el rango de 100 – 1000 ppm arroja un r^2 de 0.9967 ($y = 865.83 \times X - 14.0$)

Límite de detección (LOD). El límite de detección fue de 0.058 ppm, con una desviación estándar de pendiente (S_B) de 0.17, un valor de corte de ordenada (Y_B) de -6.47 y un valor de ordenada (Y) de -5.96.

Límite de cuantificación (LOQ). El valor mínimo de cuantificación encontrada es de 0.19 ppm, con una desviación estándar de pendiente (S_B) de 0.17, un valor de corte de ordenada (Y_B) de -6.47 y un valor de ordenada (Y) de -64.55.

Precisión del sistema:

Repetitividad. El % RSD está entre 0.197 y 4.532; de tal manera que el método es repetitivo dentro del rango de concentraciones examinado, ya que la desviación estándar relativa no sobrepasa el valor estipulado que es del 5%, criterio de aceptación para el análisis de catequina.

Reproducibilidad. El método es reproducible ya que la desviación estándar relativa calculada es menor del 5 %, lo que indica una buena reproducibilidad del método.

Exactitud. La t de student (t_{obt}) se realizó con el fin de establecer la exactitud del método analítico. De acuerdo con los datos obtenidos el t_{obt} fue menor al t_{tabla} .

III. CONCLUSIONES

Se lograron obtener las condiciones adecuadas para el proceso de extracción de taninos a partir de la corteza de *P. patula* a nivel del laboratorio, en cuanto a tamaño de partícula, relación corteza – solvente, tiempo de extracción, tipo de solvente usado y temperatura. El análisis cualitativo indica que los taninos extraídos de la corteza de *P. patula*, presenta características completas de esta clase de compuestos (Flavonoides), siendo una matriz propicia para extraerlos. El método cromatografico presentó apropiada linealidad, reproducibilidad, exactitud y precisión para la determinación de catequina.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Colciencias, Smurfit Carton de Colombia, Cootraforc y a la Universidad del Cauca por el apoyo brindado durante el desarrollo de esta investigación.

REFERENCIAS

- [1] Alessandrini Díaz, m. Vargas Muñoz, j. Biopreservantes de maderas basados en taninos y otros extractivos de la corteza de pino y su acción antioxidante: antecedentes y perspectivas. *madera y bosques*. 2005. 8:2-5.
- [2] Biopreservantes de maderas basados en taninos y otros extractivos de la corteza de pino y su acción antioxidante: antecedentes y perspectivas. *Madera y Bosques*. 2005. 8:1-2.
- [3] Alvarez Godoy, e. Aprovechamiento de la corteza del árbol. departamento química, facultad agronomía y forestal. pinar del río, cuba. 2004. 1-3.
- [4] Perez Trueba, g. los flavonoides: Antioxidantes o prooxidantes. *revista cubana de investigación biomédica*. 2003. 22:48-53.
- [5] Cartaya, o. Reynaldo, i. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *cultivos tropicales*. 2001. 22:5-14.
- [6] Häkkinen, s. flavonols and phenolic acids in berries and berry products. kuopio University Publications d. medical sciences 221. finland. 2000. 34-38.
- [7] Lamuela-Raventós R, M, Waterhouse, A . A direct HPLC separation of wine phenolics. *am j. enol. vitic.*1994; 45: 1-5.

Jose Antonio Gallo Corredor. Coordinador Grupo GIQA, Profesor titular de la Universidad del Cauca, Magíster en Ciencias Químicas de la Universidad del Valle. El area de interes es el aprovechamiento de biomasa y residuos agroindustriales, medio ambiente y tecnicas analíticas.

Rodrigo Andrés Sarria Villa. Miembro Grupo GIQA, Estudiante de Mestria en Ciencias Químicas en la Universidad del Valle. Areas de interes: tecnicas analíticas separativas, metodos espectroscopicos, aprovechamiento de biomasa y medio ambiente.