



**NORMA
VENEZOLANA**

**COVENIN
3179:2023**

**ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE
TANINOS CONDENSADOS.
(1ra. Revisión)**



SENCAMER

Servicio Desconcentrado de Normalización,
Calidad, Metrología y Reglamentos Técnicos



**Comisión Venezolana
de Normas Industriales**

Prólogo

La presente norma sustituye a la Norma Venezolana COVENIN 3179:1995. Fue elaborada por el Subcomité Técnico de Normalización **SC14 Métodos de Ensayo** adscrito al Comité Técnico de Normalización **CT10 Productos Alimenticios**, cumpliendo los lineamientos del Servicio Desconcentrado de Normalización, Calidad, Metrología y Reglamentos Técnicos (SENCAMER) y aprobada por la Dirección General de SENCAMER en Punto de Cuenta N° DNO-2023-045 de fecha 30 de junio de 2023.

Participaron en la elaboración de esta norma las siguientes entidades: Corporación Única de Servicios Productivos y Alimentarios, C.A., Plumrose Latinoamericana, C.A., Alfonzo Rivas & CIA, C.A., Laboratorios Envirotec, C.A., Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel” (INHRR), Universidad Central de Venezuela (Facultad de Farmacia), Cervecería Polar, C.A., Fundación Centro de Investigaciones del Estado para la Producción Experimental Agroindustrial (Fundación CIEPE), Servicio Autónomo de Contraloría Sanitaria (SACS), Sedicomvet, C.A., Rosmiguelys Martínez – Profesional Independiente y el Servicio Desconcentrado de Normalización, Calidad, Metrología y Reglamentos Técnicos (SENCAMER).

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Comité Técnico de Normalización: CT10 Productos Alimenticios

Presidente: Maybelyn Iglesias

Vicepresidente: Jesús Mora

Secretario: Laura De Oliveira

Subcomité Técnico de Normalización: SC14 Métodos de Ensayo

Presidente: Luis Canelón

Vicepresidente: Lizet Bou Rached

Secretario: Rosmiguelys Martínez

INSTITUCIÓN REPRESENTADA

Facultad de Farmacia (UCV)

Cervecería Polar, C.A.

NOMBRE Y APELLIDO

Lizet Bou Rached

Luis Canelón

El siguiente Subcomité Técnico de Normalización contribuyó con la elaboración de la presente norma:

Subcomité Técnico de Normalización: SC8 Alimentos para Animales

Presidente: Lorena Vivas

Vicepresidente: Luis Gustavo Luján

Secretario: Eliza Zamora

INSTITUCIÓN REPRESENTADA

INIA

RM Consultores y Asociados, C.A.

NOMBRE Y APELLIDO

Lorena Vivas Ríos

Rosa Marcano

Consulta Pública

Iniciada en fecha

12/05/2023

Concluida en fecha

25/06/2023

ÍNDICE

	Pág.#
1. OBJETO	1
2. ALCANCE.....	1
3. REFERENCIAS NORMATIVAS.....	1
4. TÉRMINOS Y DEFINICIONES	1
4.1. Sorgo (<i>Sorghum spp</i>)	1
4.2. Taninos	1
4.3. Taninos condensados	1
5. REQUISITOS GENERALES	2
6. EQUIPOS.....	2
7. MATERIALES.....	2
8. REACTIVOS	2
9. MATERIAL A ENSAYAR	2
10. CONDICIONES DE ENSAYO	2
11. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES	3
11.1. Catequina (solución madre de una fracción de volumen de 1000×10^{-6})	3
11.2. Solución de ácido clorhídrico a una fracción de volumen de 4 % (blanco de disolución).....	3
11.3. Solución de ácido clorhídrico a una fracción de volumen al 8 %	3
11.4. Solución de vainillina a una fracción de masa sobre volumen 1 %.....	3
11.5. Solución reactiva 1:1	3
12. PREPARACIÓN DE EQUIPOS	3
13. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.....	3
13.1. Muestra solida	3
13.2. Muestra líquida.....	4
14. PROCEDIMIENTO.....	4
14.1. Curva de calibración de catequina	4
14.2. Extracción de taninos condensados	4
14.3. Análisis de los extractos	5
14.3.1. Blanco de la muestra.....	5
14.3.2. Análisis de la muestra.....	5
14.3.3. Lectura en el espectrofotómetro	5
15. CÁLCULOS.....	5
16. EXPRESION DE LOS RESULTADOS.....	5

17.	PRECISIÓN.....	6
18.	INFORME.....	6
BIBLIOGRAFÍA		7



**Comisión Venezolana
de Normas Industriales**

**NORMA VENEZOLANA
ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE
TANINOS CONDENSADOS**

**COVENIN
3179:2023
(1ra. Revisión)**

1. OBJETO

Esta norma describe el método para determinar el contenido de taninos condensados en muestras de granos de sorgo (*Sorghum spp.*), otras leguminosas (*Fabaceae spp.*), tales como habas, frijoles, alubias, soya, lentejas, garbanzo, así como también en uvas y sus derivados y otros alimentos que contengan estos compuestos.

2. ALCANCE

Esta norma se aplica a la determinación cuantitativa del contenido de taninos condensados presentes en grano de sorgo, harina de sorgo, otras leguminosas y sus harinas, uvas y sus derivados y otros alimentos con el propósito de evaluar su calidad nutricional.

3. REFERENCIAS NORMATIVAS

Las siguientes normas contienen disposiciones generales utilizadas para la elaboración de la norma o que al ser citadas en este texto, constituyen requisitos de esta norma; las ediciones indicadas, estaban en vigencia en el momento de esta publicación. Como toda norma está sujeta a revisión, se recomienda a aquellos que realicen acuerdos con base en ellas, que analicen la conveniencia de usar las ediciones más recientes de las normas citadas seguidamente:

COVENIN 254:1998	Cedazos de ensayo. (2da. Revisión).
COVENIN 1567:1980	Alimentos para animales. Método de muestreo.

4. TÉRMINOS Y DEFINICIONES

A los fines de este documento, se aplican los siguientes términos y definiciones:

4.1. Sorgo (*Sorghum spp*)

Es una planta perteneciente a la familia de las gramíneas (*Poaceae*), cuyas semillas se utilizan para elaborar harina. El sorgo se puede utilizar como una materia prima energética en la elaboración de alimentos balanceados para aves, cerdos y rumiantes.

4.2. Taninos

Son compuestos fenólicos secundarios que se encuentran en varias plantas, incluyendo a los árboles de roble, frutas y pastos. Los taninos pueden presentar coloración de amarillo a marrón y en algunos vegetales son solubles en el agua, aportan textura astringente y sabor amargo.

4.3. Taninos condensados

Son conocidos como proantocianidinas, comprenden oligómeros de dos o más “flavanoles” (catequina, epicatequina o la galocatequina). Son considerados como un factor principal en los problemas de bajo valor nutricional de las plantas leguminosas forrajeras, dado que estos compuestos polifenólicos constituidos por unidades de flavan-3-oles, tienen la propiedad de precipitar a las proteínas.

5. REQUISITOS GENERALES

El principio de este método se basa en la reacción cromática entre la catequina y la vainillina. En medio ácido, los flavan-3-oles presentes reaccionan en la posición 6 de su estructura, con la vainillina, formando un compuesto de color rosa, el cual, se cuantifica espectrofotométricamente a la longitud de onda de 500 nm.

6. EQUIPOS

- a) Espectrómetro con rango de medición a 500 nm.
- b) Centrífuga con rango de trabajo entre 2500 r/min y 3500 r/min.
- c) Balanza analítica de precisión 0,0001 g.
- d) Molino o micromolino.
- e) Baño termostático con control de temperatura a $(30 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$.

7. MATERIALES

- a) Tamices o cedazos con tapa y fondo (ver la COVENIN 254) o equivalente, con apertura de malla de 1 mm (N° 18) y de 0,42 mm (N° 40).
- b) Pipetas volumétricas de 1 ml y 5 ml.
- c) Tubos de ensayo con tapa de rosca de 20 ml.
- d) Balones aforados de 25 ml y 50 ml.
- e) Envases de boca ancha de cierre hermético para contener muestras.
- f) Embudos.
- g) Vaso precipitado de 50 ml.
- h) Tubos de centrifuga de 10 ml.
- i) Varillas de vidrio.
- j) Envases de color ámbar.

8. REACTIVOS

- a) Hidrato de catequina ($\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$) 98 % de pureza.
- b) Ácido clorhídrico concentrado (HCl) 37 % de pureza.
- c) Metanol (CH_3OH) grado reactivo.
- d) Vainillina ($\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$) grado reactivo.

9. MATERIAL A ENSAYAR

- a) Los granos previamente libres de impurezas y partículas extrañas.
- b) Harina de granos.
- c) Zumo de uva, mosto y sus derivados.
- d) Frutas y derivados.

10. CONDICIONES DE ENSAYO

10.1. El ensayo se lleva a cabo en condiciones de temperatura de laboratorio de $(20 \pm 5) ^\circ\text{C}$, y humedad ambiental $(55 \pm 10) \%$ (ver nota de apartado 10.2).

10.2. El ensayo debe ser realizado por duplicado.

NOTA. Para mejores resultados durante la extracción de taninos condensados, se recomienda preparar las soluciones del análisis el mismo día.

11. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

11.1. Catequina (solución madre de una fracción de volumen de 1000×10^{-6})

11.1.1. Disolver 100 mg de hidrato de catequina en 100 ml de metanol.

11.1.2. Guardar en un frasco ámbar y preferiblemente en refrigeración.

11.2. Solución de ácido clorhídrico a una fracción de volumen de 4 % (blanco de disolución)

11.2.1. Diluir 4 ml de HCl al 37 % de pureza en 100 ml de metanol.

11.2.2. Guardar en un frasco ámbar y preferiblemente en refrigeración.

11.3. Solución de ácido clorhídrico a una fracción de volumen al 8 %

11.3.1. Diluir 8 ml de HCl al 37% de pureza en 100 ml de metanol.

11.3.2. Guardar en un frasco ámbar y preferiblemente en refrigeración.

11.4. Solución de vainillina a una fracción de masa sobre volumen 1 %

11.4.1. Disolver 1 g de vainillina en 100 ml de metanol.

11.4.2. Guardar en un frasco ámbar y preferiblemente en refrigeración.

11.5. Solución reactiva 1:1

Mezclar en volúmenes iguales solución de vainillina a una fracción de masa sobre volumen de 1 % y solución de ácido clorhídrico a una fracción de volumen de 8 %. La solución reactiva debe ser preparada el mismo día del análisis de las muestras y ser colocada en un baño termostático a $(30 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$, antes de iniciar el análisis de las muestras.

12. PREPARACIÓN DE EQUIPOS

12.1. Acondicionar previamente el baño termostático a una temperatura de $(30 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ durante 30 min.

12.2. Encender la lámpara de tungsteno del espectrofotómetro al menos 10 min antes de realizar las mediciones.

13. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

13.1. Muestra sólida

13.1.1. Realizar la toma de muestra según lo establecido en la COVENIN 1567.

13.1.2. Limpiar los granos para eliminar impurezas y material extraño. Los granos deben molerse al menos un día antes del análisis.

13.1.3. Moler con molino o micromolino la muestra de material original, sea en granos enteros, productos con partículas o grumos gruesos.

13.1.4. Cernir la muestra por los tamices de 1 mm y 0,42 mm según lo establecido en la COVENIN 254.

13.1.5. Recoger el material que pasó a través de la malla de 0,42 mm, homogeneizar, colocar en un envase herméticamente cerrado e identificar.

13.2. Muestra líquida

13.2.1. Extraer en caso de ser necesario el líquido de la muestra.

13.2.2. Filtrar o centrifugar la muestra para dejar libre de partículas.

14. PROCEDIMIENTO

14.1. Curva de calibración de catequina

a) Preparar en balones aforados de 25 ml las soluciones de fracciones de volumen (0, 20, 40, 60, 100, 140, 200, 240 y 300) $\times 10^{-6}$ de catequina a partir de la solución madre de fracción de masa 1000×10^{-6} . Aforar con metanol.

b) De cada solución tomar dos muestras de 1 ml. Colocar separadamente en dos tubos de ensayo. A la primera serie de tubos (serie A) agregar con un intervalo exacto de 1 min, 5 ml de la solución reactiva, tapar bien. A la segunda serie de tubos (serie B) adicionar 5 ml de la solución blanco de disolución y tapar bien.

c) Sumergir e incubar todos los tubos en el baño termostático a $(30 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$, durante 20 min exactos, con agitación permanente.

d) Utilizar como blanco de medición de absorbancia en el espectrofotómetro, 5 ml de la solución reactiva a la cual se le añadió 1 ml de metanol.

e) Luego de los 20 min de incubación, leer la absorbancia de las muestras en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 500 nm. Mantener estrictamente el intervalo de 1 min para cada lectura y el mismo orden utilizado al adicionar los reactivos.

f) Restar a la absorbancia de los tubos que contienen vainillina (serie A), menos la absorbancia del blanco (serie B). Construir la curva de calibración (absorbancia vs. miligramo de catequina). El segmento lineal de la curva permite la conversión de la absorbancia a "equivalentes de catequina".

14.2. Extracción de taninos condensados

a) Pesar 200 mg del material molido en un tubo de centrifuga, añadir 10 ml de metanol, tapar bien, sumergir e incubar en un baño termostático a $(30 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$, durante 20 min.

- b) Centrifugar a 3000 r/min, durante 10 min. Extraer un alícuota de 1 ml del sobrenadante y colocarlo en un tubo de ensayo de 20 ml (blanco de la muestra).
- c) Tomar otra alícuota de 1 ml del sobrenadante y llevarlo a un tubo de ensayo de 20 ml (prueba de la muestra).
- d) Descartar el residuo de la centrifugación.
- e) En caso de muestras líquidas medir la cantidad de volumen necesario (1 ml), agregar 10 ml de metanol y seguir el procedimiento indicado en el literal c).

14.3. Análisis de los extractos

14.3.1. Blanco de la muestra

Agregar a cada tubo de ensayo, 5 ml de solución blanco de dilución con un intervalo de 1 min entre tubo, tapar bien. Sumergir e incubar a $(30 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ durante 20 min exactos con agitación constante.

14.3.2. Análisis de la muestra

Agregar a cada tubo de ensayo, 5 ml de solución reactiva con un intervalo de 1 min entre tubo, tapar bien. Sumergir e incubar a $(30 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ durante 20 min exactos con agitación constante.

14.3.3. Lectura en el espectrofotómetro

- a) Utilizar como blanco de medición de absorbancia en el espectrofotómetro, 5 ml de la solución reactiva a la cual se le añadió 1 ml de metanol.
- b) Leer la absorbancia de las muestras y los blancos en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 500 nm. Mantener estrictamente un intervalo de 1 min para cada lectura y el mismo orden utilizado al adicionar los reactivos.
- c) Es importante leer la absorbancia exactamente a los 20 min, dado que en la medida que transcurre el tiempo el color continúa desarrollándose y no releer las muestras después de ese tiempo, porque se obtendrían resultados no confiables.
- d) Restar la absorbancia de la prueba de la muestra, menos la absorbancia del blanco correspondiente.
- e) Comparar la diferencia de absorbancia contra curva de calibración para obtener los mg de catequina.

15. CÁLCULOS

El porcentaje de taninos condensados se calcula de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Taninos condensados (\%)} = \frac{\text{mg de catequina (curva)} * 100}{\text{Peso de la muestra (mg) ó volumen de la muestra (ml)}}$$

16. EXPRESION DE LOS RESULTADOS

Taninos condensados expresados en porcentaje, con 2 decimales.

17. PRECISIÓN

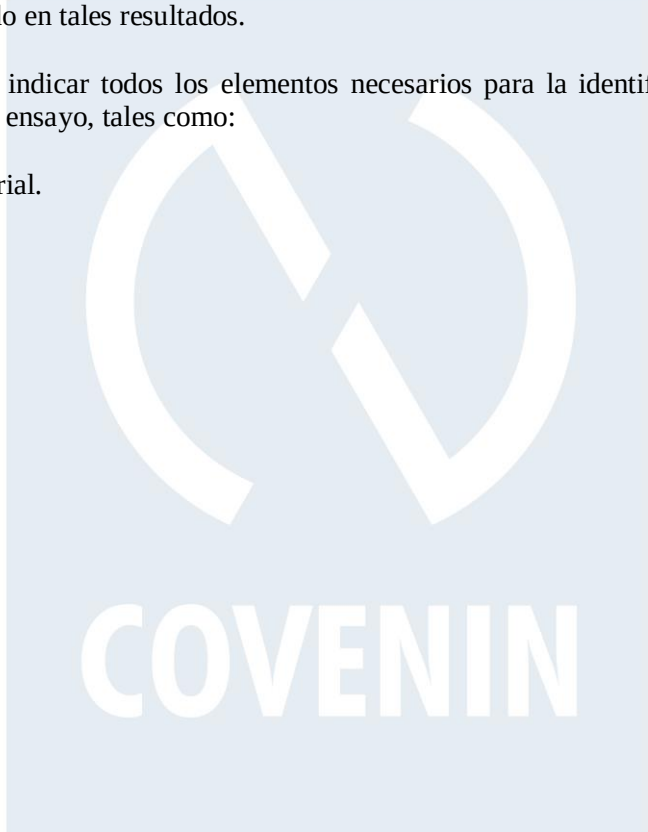
La diferencia en los resultados entre dos determinaciones del mismo ensayo efectuadas simultáneamente por el mismo analista no debe ser mayor de 0,2 %. Si sobrepasa ese límite se repite el análisis.

18. INFORME

18.1. El informe del ensayo debe indicar el método empleado y los resultados obtenidos, así como cualquier circunstancia (el solvente usado, repetición del ensayo, condiciones de la muestra, entre otros) que pueda haber influido en tales resultados.

18.2. El informe debe indicar todos los elementos necesarios para la identificación completa de la muestra del material de ensayo, tales como:

- a) Naturaleza del material.
- b) Tipo de muestra.
- c) Protocolo.
- d) Número de muestra.
- e) Solicitante.
- f) Análisis requerido.
- g) Fecha de recepción.
- h) Fecha de reporte.
- i) Analista.
- j) Método.
- k) Resultados.
- l) Observaciones.



Comisión Venezolana
de Normas Industriales

BIBLIOGRAFÍA

COVENIN 1754:1982. *Alimentos para animales. Definiciones y terminología*. Caracas.

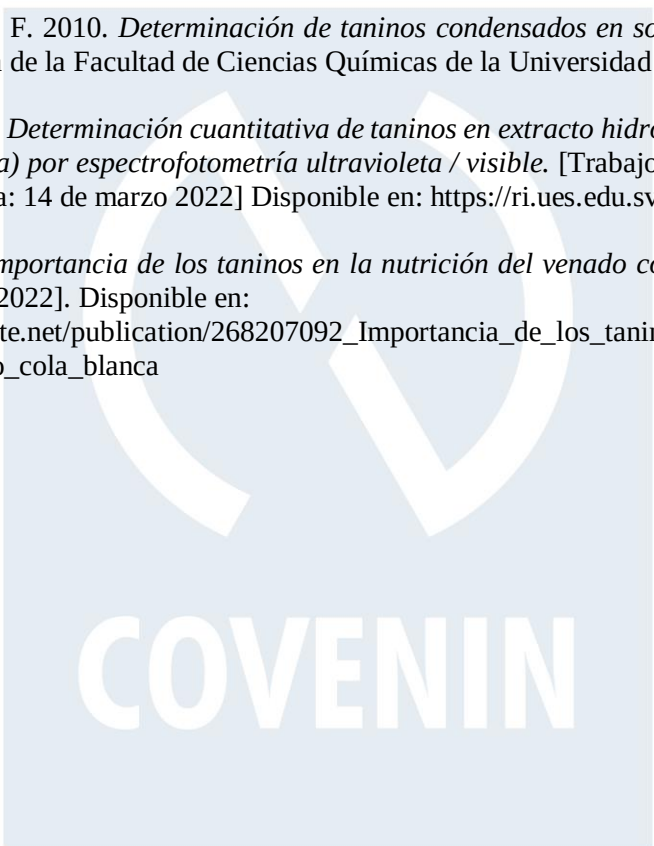
COVENIN 2434:1995. *Alimentos para animales. Sorgo*. Caracas.

ESCARAY, F. et al. 2007. *Taninos condensados en leguminosas del género Lotus*. *Lotus Newsletter* 37(1), 34-35 [En línea]. [Consulta: 23 de febrero 2022]. Disponible en: <http://www.inia.org.uy/sitios/lnl/vol37/escaray2.pdf>

OÑA, N. y NOVILLO, F. 2010. *Determinación de taninos condensados en sorgo y su desactivación utilizando urea*. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central* 1(1), 09 – 18.

ORELLANA, M. 2007. *Determinación cuantitativa de taninos en extracto hidroalcohólico de hojas de *Fragaria vesca* L. (fresa) por espectrofotometría ultravioleta / visible*. [Trabajo de grado, Universidad del Salvador]. [Consulta: 14 de marzo 2022] Disponible en: <https://ri.ues.edu.sv/4898/1/16100177.pdf>

RAMÍREZ, G. 2010. *Importancia de los taninos en la nutrición del venado cola blanca*. [En Línea]. [Consulta: 11 de enero 2022]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/268207092_Importancia_de_los_taninos_condensados_en_la_nutricion_del_venado_cola_blanca



COVENIN

Comisión Venezolana
de Normas Industriales

**COVENIN
3179:2023**

PUBLICADO POR:



SENCAMER

Servicio Desconcentrado de Normalización,
Calidad, Metrología y Reglamentos Técnicos

RESERVADOS TODOS LOS DERECHOS

**Av. Libertador, Centro Comercial Los Cedros, Nivel PH
Urbanización La Florida – Caracas, Distrito Capital**

**Publicada en: Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela N° 6.782
Extraordinario de fecha 22 de diciembre de 2023**

I.S.B.N: 978-980-8026-73-3

N° DE DEPÓSITO LEGAL: DC2023000738

I.C.S: 67.050