

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, POLIFENOLES TOTALES Y CONTENIDO DE TANINOS DE EXTRACTOS DE TARA, *CAESALPINIA SPINOSA*

R. Avilés,¹ J. Carrión², J. Huamán³, M. Bravo⁴, D. Rivera⁵, N. Rojas⁶ y J. Santiago⁷

RESUMEN

Se han determinado las propiedades fisicoquímicas (actividad antioxidante, polifenoles totales y contenido de taninos) de extractos obtenidos por maceración y Soxhlet, de muestras obtenidas de la vaina de tara (polvo, fibra, cáscara de la semilla y la parte interna de la semilla). Todos los extractos obtenidos poseen alta actividad antioxidante, con un IC_{50} entre 10 y 121 $\mu\text{g}/\text{mL}$. El contenido de polifenoles totales varía entre 40 y 150 mg EAG/g de muestra y el contenido de taninos varía entre 22 y 80%.

Palabras clave: Antioxidantes, actividad, polifenoles, taninos, tara.

ANTIOXIDANT ACTIVITY, TOTAL POLYPHENOLS AND TANNINS CONTENTS OF TARA EXTRACTS, *CAESALPINIA SPINOSA*

ABSTRACT

The physicochemical properties (antioxidant activity, total polyphenols and tannins contents) of tara extracts have been obtained. Samples were taken from the pod of tara (powder, fiber, seed coat and the inside of the seed) by maceration and Soxhlet extraction. All extracts have high antioxidant activity with an IC_{50} between 10 and 121 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The total polyphenol content varies between 40 and 150 mg GAE/g of sample and the tannins content varies between 22 and 80%.

Keywords: Antioxidant activity, polyphenols, tannis, tara.

I. INTRODUCCIÓN

La tara, *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, es una planta que crece tanto en la costa como en la región andina (200 - 3500 msnm) que ha sido y aún es utilizada en la medicina popular por sus propiedades antibacterianas, astringentes y antidisentéricas^[1].

Al igual que las otras especies de *Caesalpineae*, la tara posee un inmenso potencial médico, alimenticio e industrial, siendo de gran utilidad para la producción de taninos, ácido gálico, hidrocoloides o gomas, entre otros^[2,3]. Sin embargo, en la literatura se encuentran pocos trabajos científicos relacionados con las características fisicoquímicas de los

1 Dpto. Química Orgánica, FQIQ UNMSM, natalieaviles.unmsm@gmail.com

2 Dpto Química Orgánica, FOIQ UNMSM, vjustocarrion2011@hotmail.com

3 Dpto Química Orgánica, FQIQ UNMSM, juanamaria.huamanmalla@gmail.com

4 Dpto. Química Analítica, FQIQ UNMSM, mbravo4@hotmail.com

5 Dpto. de Química Analítica, FQIQ UNMSM, dolores.riveracastilla@gmail.com

6 Instituto de Patología - Facultad de Medicina Humana UNMSM, d1010112@yahoo.com

7 Dpto. de Química Orgánica FQIQ UNMSM, jsantiagoc@unmsm.edu.pe; Dirección de Investigación y Desarrollo - Instituto Peruano de Energía Nuclear, jsantiago@ipen.gob.pe

extractos obtenidos a partir de la especie *C. spinosa* (Molina) Kuntze^[4-9]. Podemos mencionar la determinación cualitativa de los metabolitos de extractos de tara en función de la zona geográfica de proveniencia y su relación con la actividad antimicrobiana de esos extractos. Se ha encontrado un mayor contenido de taninos en los extractos acuosos de la vaina de tara proveniente de Ayacucho, Cajamarca y Likahuasi que en Churín. Estos extractos presentan una buena actividad contra bacterias Gram positivas y Gram negativas^[10].

En este trabajo presentamos la evaluación de la actividad antioxidante, el contenido de polifenoles totales y el contenido de taninos de extractos acuosos de tara proveniente de Ayacucho.

II. PARTE EXPERIMENTAL

Preparación de las muestras

A la vaina seca de tara, proveniente de Huamanga-Ayacucho, se le retiró la pepa y se pulverizó con una licuadora, lográndose separar una parte fibrosa (tara fibra) y otra parte muy fina que fue tamizada (tara polvo). La parte fibrosa fue sometida nuevamente a un proceso de pulverización. A la semilla se le retiró la piel y ambas partes se pulverizaron, obteniéndose un polvo marrón claro (semilla cáscara) y amarillo (semilla).

Se tomó 10 g de cada una de las cuatro muestras en polvo, y se procedió a la extracción por Soxhlet (150 mL de solvente, 7 h) y por maceración (100 mL de solvente, dos semanas). Los solventes utilizados fueron agua, mezcla etanol-agua 1:1, etanol y metanol.

En el caso de los extractos obtenidos por maceración, estos se filtraron, centrifugaron durante 10 minutos a 5000 rpm y se concentraron.

Actividad antioxidante

Se siguió el método de Brand-Williams modificado por Sandoval^[11,12]. Se preparó una

solución stock de 2,2-Difenil-1-picrilhidracil (DPPH, Sigma-Aldrich) 1mM en etanol y se almacenó a 4°C protegiéndola de la luz. A partir de la solución stock se preparó 20 mL de DPPH 100 µM en etanol. 975 µL de esta solución se agregó a 25 µL de la solución de la muestra a estudiar y se leyó la absorbancia (Thermo, Helios gamma) a 515 nm. Todos los extractos fueron medidos por triplicado a diferentes concentraciones de 0, 3; 1; 5, 10 y 15 µg/mL. Con los valores de absorbancia obtenidas se determinó el porcentaje de captación de radicales libres (DPPH•), mediante la siguiente expresión:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}})}{A_{\text{control}}} * 100$$

donde A_{control} es la absorbancia de la solución de DPPH, y A_{muestra} es la absorbancia de la muestra luego de 15 min.

El IC_{50} se determinó a partir de la gráfica del porcentaje de inhibición en función de la concentración, y corresponde a la concentración en la que se neutraliza el 50% de los radicales del DPPH.

Determinación de polifenoles totales

Se siguió el método de Folin-Ciocalteu^[13]. La curva de calibración se hizo con soluciones de 50-1000 µg/L de ácido gálico en EtOH.

Se prepararon tubos de ensayo con 1,58 mL de agua destilada y se agregó 20 µL de muestra, control o estándar. Luego se añadió 100 µL del reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich), se esperó 1 min y se añadió 300 µL de carbonato de sodio al 20% (p/v). Luego de 2 h se agregó 1 mL de estas soluciones en una cubeta y se midió la absorbancia a 765 nm. Estos valores fueron introducidos en la curva de calibración para calcular el contenido de polifenoles totales expresados en equivalentes de ácido gálico (EAG) por gramo de muestra.

Cuantificación de taninos^[14]

10 mL de extractos fueron mezclados, bajo agitación, con 10 mL de agua, 2,5 g de gelatina y 100 mL de una solución saturada de NaCl. Luego de 5 minutos se adicionó 5 g de talco. Después de 30 minutos se decantó la mezcla, se tomó 40 mL del sobrenadante, se filtró y centrifugó 5 veces. El sólido se desechó.

Se tomó 0,5 a 5 mL de la solución anterior, en función de las muestras estudiadas, se diluyó con 25 mL de agua y se agregó, bajo agitación, 1 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu. Se dejó reposar 5 minutos y se agregó 1 mL de Na_2CO_3 al 20%. Luego de 8 minutos de reposo se leyó la absorbancia a 700 nm.

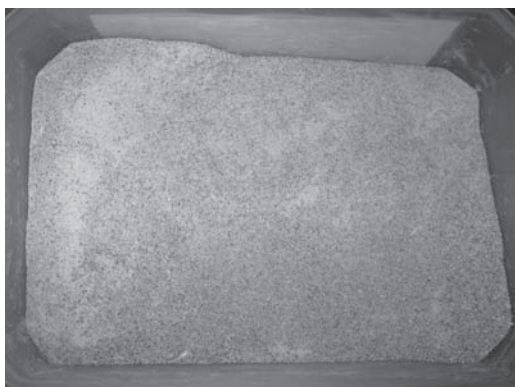
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención de las muestras

La Figura 1 presenta las muestras obtenidas luego de la molienda de las diferentes partes de la vaina.

Los espectros IR (Shimadzu, IRPrestige-21, KBr) de los polvos obtenidos de la vaina, cáscara de las semillas y de la almendra (Figura 2) son muy complejos, y se caracterizan por la presencia de bandas producidas por los numerosos grupos OH presentes.

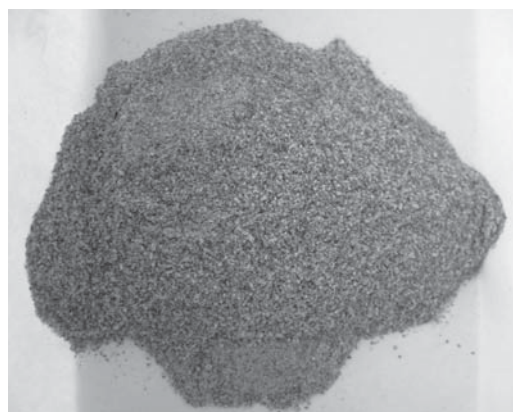
a)



b)



c)



d)

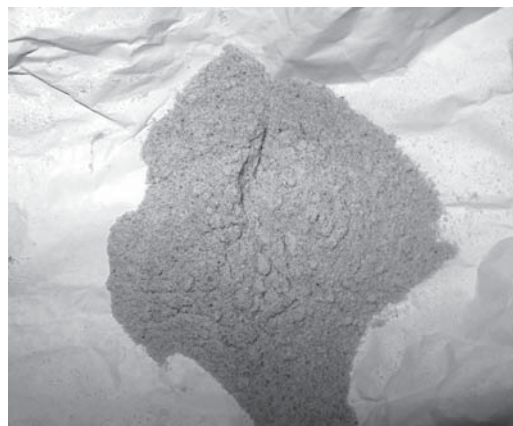


Figura 1. Muestras de tara obtenidas a partir de la vaina de la tara: a) polvo de la vaina, b) fibra de la vaina, c) polvo de la cáscara de la semilla, y d) polvo de la parte interna de la semilla.

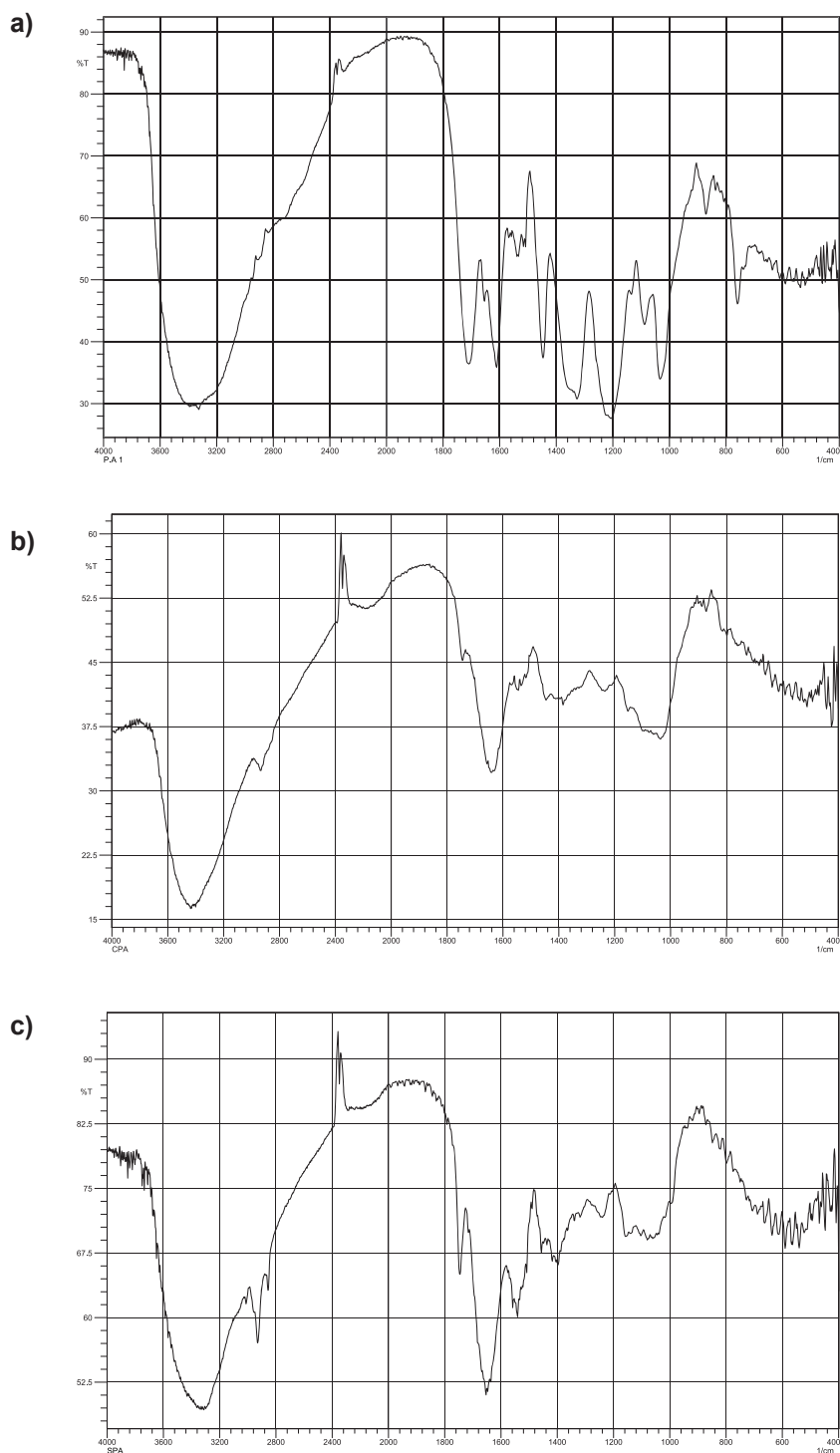


Figura 2. Espectros IR de a) polvo de la vaina, b) polvo de la cáscara de la semilla, y c) polvo de la parte interna de la semilla.

La Tabla 1 presenta las masas obtenidas en las diferentes extracciones. Se observa que los extractos provenientes del polvo de la vaina son los que presentan mayor masa, tanto por maceración como por Soxhlet (23-57%). Luego le siguen los extractos de la fibra, en cambio, los extractos provenientes de la cáscara y la parte interna de la semilla permiten obtener, en general, menos del 10% de masa.

Actividad antioxidante

Los extractos obtenidos de la vaina de tara (polvo y fibra), en los cuatro solven-

tes utilizados, son los que presentan la mayor actividad antioxidante, Tabla 2. El IC_{50} de estos extractos varía entre 10 y 13 $\mu\text{g/mL}$, en cambio, los de la cáscara de la semilla varían entre 11 (extracto etanólico) y 36 (extracto acuoso) y los de la parte interna de la semilla varían entre 30 (extracto metanólico) y 121 $\mu\text{g/mL}$ (extracto etanólico).

La actividad antioxidante de todos los extractos obtenidos son mayores que los extractos metanólicos obtenidos del árbol de *Caesalpinia pulcherrima*^[15].

Tabla 1. Masas de las muestras obtenidas por extracción a partir de 10 gramos de polvo de tara

Tipo de extracción	Solvente	Masa final obtenida (g)			
		Polvo	Fibra	Cáscara	Semilla
Macerado	Acuoso	3,92	2,50	0,70	0,87
	Hidroalcohólico	5,19	2,75	0,33	0,56
	Metanol	5,68	2,80	0,18	0,54
	Etanol	4,29	2,53	0,15	0,10
Soxhlet	Acuoso	2,84	1,40	0,24	0,17
	Hidroalcohólico	2,65	4,41	0,44	0,56
	Metanol	5,39	3,32	0,11	0,21
	Etanol	5,34	3,20	0,15	0,15

Tabla 2. Concentración inhibitoria IC_{50} de las fracciones obtenidas por Soxhlet y Macerados

Tipo de extracción	Solvente	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)			
		Polvo	Fibra	Cáscara	Semilla
Macerado	Acuoso	10,1	11,4	35,8	100,3
	Hidroalcohólico	10,3	12,1	11,8	96,4
	Metanol	13,1	12,3	12,9	52,3
	Etanol	10,8	11,0	11,1	107,6
Soxhlet	Acuoso	12,1	13,0	28,4	106,8
	Hidroalcohólico	11,2	11,6	11,9	38,2
	Metanol	10,3	11,4	12,4	29,3
	Etanol	10,0	12,2	12,5	121,2

Cuantificación de los polifenoles totales

Los extractos acuosos de todas las muestras presentan el mayor contenido de polifenoles totales, siendo el de polvo de la vaina el que presenta el mayor valor, 149 mg EAG/g de muestra, Tabla 3. En cambio, los extractos etanólicos son los que presentan los menores valores, siendo el de semilla el más bajo, 5 mg EAG/g de muestra.

En general, los extractos del polvo son los que presentan el mayor contenido de polifenoles, mientras que los de semilla presentan el menor valor.

Cuantificación de los taninos

Los extractos hidroalcohólicos y metanólicos obtenidos de la vaina de tara (polvo y fibra) son los que presentan el mayor contenido de taninos totales, Tabla 4. En cambio, los extractos acuosos son los que presentan los contenidos más bajos en taninos totales. Valores similares fueron obtenidos por titulación con KMnO_4 .

En contraste, el extracto acuoso de la fibra es el que presenta el mayor contenido de taninos no hidrolizables, mientras que en el caso de la fibra, es el extracto hidroalcohólico.

Tabla 3. Contenido de polifenoles totales de las diferentes muestras obtenidas de la vaina de tara

Extracto	Contenido de polifenoles totales (mg EAG/g de muestra)			
	Polvo	Fibra	Semilla	Cáscara
Metanol	84,8	53,2	10,4	30,9
Etanol	58,1	41,1	4,8	16,1
Hidroalcohólico	111,9	40,4	5,3	21,7
Acuoso	149,0	68,9	17,8	44,7

Tabla 4. Contenido de taninos de las muestras de tara. TT: Taninos Totales; TNH: Taninos no hidrolizables; TH: Taninos hidrolizables

Muestras	Macerado - Polvo			Macerado - Fibra		
	% TT	% TNH	% TH	% TT	% TNH	% TH
Hidroalcohólico	54,56	7,28	47,28	79,45	55,17	24,28
Metanol	50,75	4,40	46,35	79,88	48,57	31,31
Etanol	39,00	2,33	36,67	68,63	42,96	25,67
Acuoso	31,59	8,41	23,18	22,20	10,92	11,28

IV. CONCLUSIONES

Todos los componentes de la vaina de la tara (vainas pulverizadas, material fibroso, cáscara de la semilla, parte interna de la semilla) poseen buena actividad antioxidante, con un IC_{50} de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, alto contenido de polifenoles totales, hasta 150 mg EAG/g de muestra, y alto contenido de taninos, hasta 80% para la fracción obtenida por maceración en metanol.

V. AGRADECIMIENTOS

Al CSI-UNMSM por el financiamiento del proyecto multidisciplinario PEM2009B02 y proyecto Concon 100701051, "Extractos de tara, *Caesalpinia spinosa*, en la formulación de apósitos para el tratamiento de quemaduras". A J. Rodríguez (Electromédica) por la realización de los espectros IR.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Cabello I., Monografía de Tara *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, Bio-comercio Perú, 2009. <http://www.biocomerciooperu.org/admin/recursos/contenidos/Monografia%20de%20tara%20-%20final.pdf>
- [2] Lock O., Cabello I., Doroteo V., Zavaleta M., Obtención de ácido gálico a partir de vainas de tara. Memoria Descriptiva, Patente 000151/96 INDECOPI/ OINT, 1996.
- [3] De la Cruz P., Aprovechamiento integral y racional de la tara *Caesalpinia spinosa* - *caesalpinia tinctoria*. *Revista del Instituto de investigación de la Facultad de Minas, Metales y Ciencias Geográficas*, 7(14), 64-73, 2004.
- [4] Unten, L. Extracción de Taninos de Tara, su hidrólisis a Ácido Gálico y Síntesis de Galatos. Tesis para optar el Título de Licenciado en Ciencias Químicas, PUCP. Lima, 1991.
- [5] León V. Caracterización de los componentes Fenólicos de Taninos extraídos a partir de la Tara (*Caesalpinia spinosa*), Tesis para optar el Título de Licenciado en Química, UNMSM. Lima, 2009.
- [6] Garro J., Riedl B., Conner A., Analytical Studies on Tara Tannins, *Holzforchung*, 51, 235-243, 1997.
- [7] Siccha A., Lock O. Hidrocoloides de tres especies de *Caesalpinia*. Su análisis químico. *Revista de Química PUCP*, 8(2), 153-161, 1994.
- [8] Siccha A., Lock O. Comportamiento reológico y peso molecular de hidrocoloides de tres especies de *Caesalpinia* peruanas. *Bol. Soc. Quím. Del Perú*, 60, 31-38, 1994.
- [9] Siccha A., Lock O., Molina M., Determinación cuantitativa de galactomananos en las gomas de tara, charan, y uña de gato por cromatografía de gases. *Bol. Soc. Quím. del Perú*, 60, 39-43, 1994.
- [10] López C., Garró V., Yrei V., Gallardo T., Acción antimicrobiana *Caesalpinia tinctoria* (molina) kuntze o tara, de diferentes regiones del Perú, *Ciencia e Investigación*, 1(1), 1-5, 1998.
- [11] Brand-Williams W., Cuvelier M., Berset C., Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie - Food Science and Technology*, 28: 25-30, 1995.
- [12] Sandoval M., Okuhama N., Angeles F., Melchor V., Candezo L., Lao J, Miller M, Antioxidant activity of the cruciferous vegetable Maca (*Lepidium meyenii*). *Food Chemistry*, 79: 207-213, 2002.
- [13] Vásquez A., Cala M., Miranda I., Tafurt G., Martínez J., Stashenki E., Actividad antioxidante y contenido total de fenoles de los extractos etanólicos de *Salvia aratocensis*, *Salvia Sochensis*, *Bidens reptans* y *Montanoa ovalifolia*, *Scientia et Technica*, 33: 205-207, 2007.
- [14] Gutiérrez Y., Miranda M., Varona N., Rodríguez A., Validación de dos métodos espectrofotométricos para la cuantificación de taninos y flavonoides (quercetina) en *Psidium guajaba*, L., *Revista Cubana*, 1, 50-55(2000).
- [15] Pawar C., Mutha R., Landge A., Jadhav R., Surana S., Antioxidant and cytotoxic activities of *Caesalpinia pulcherrima* wood, *Indian J. Biochem. Biophys*, 46, 198-200, 2009.