

ESTUDIO CUALITATIVO Y CUANTITATIVO DE TANINOS DE LA *OENOTHERA ROSEA L'HÉR. EX AITON*

M.I. Kasay ¹, J. Huamán ² y M. Guerrero ³

RESUMEN

El presente estudio tiene como finalidad la evaluación de los compuestos polifenólicos de la planta *Oenothera rosea L'Hér. Ex Aiton* en ramas y hojas por cinco diferentes métodos. Por un análisis fitoquímico se determinó la presencia abundante de taninos los cuales son de gran importancia industrial.

Se identifica y clasifica a los taninos de la *Oenothera rosea L'Hér. Ex Aiton*, encontrándose presencia de taninos hidrolizables y también condensados. Se profundizó en la valoración de los diferentes tipos de taninos encontrados, utilizando los métodos de Lowenthal y Folin - Ciocalteu para taninos hidrolizables, Stiasny y la técnica de la Proantocianidina para taninos condensados, usando el método Ultravioleta para la determinación de ambos taninos en extractos acuosos y etanólicos, siendo los extractos etanólicos los que presentan mayor poder extractante.

Palabras clave: *Oenothera rosea*, taninos, taninos condensados, taninos hidrolizables análisis cuantitativo, método espectrofotométrico

QUALITATIVE AND QUANTITATIVE STUDY OF *OENOTHERA ROSEA L'HÉR. EX AITON* EXTRACTS

ABSTRACT

The present study has as purpose the evaluation of the polyphenolic compounds of the plant *Oenothera rosea L'Hér. Ex Aiton* in branches and leaves by five different methods. By a phytochemical analysis we determined the presence in an appreciable value of tannins which are of a big importance for the industry. It identifies and ranks the *Oenothera rosea* tannins L'Hér. Ex Aiton, finding the presence of hydrolyzable and condensed tannins. Deepened in evaluating different types of tannins found, using the methods of Lowenthal and Folin - Ciocalteu for hydrolysable tannins, Stiasny and Proanthocyanidin technique for condensed tannins using the UV method for the determination of both tannins in aqueous extracts and ethanol, the ethanol extracts being those with greater power extractant.

Keywords: *Oenothera rosea*, tannins, condensed tannins, hydrolysable tannins quantitative analysis, spectrophotometric method.

1 Dpto. de Química Orgánica, FQIQ - UNMSM, kasay14@hotmail.com

2 Dpto. de Química Orgánica, FQIQ - UNMSM, juanamaria.huamanmalla@gmail.com

3 Dpto. de Química Orgánica, FQIQ - UNMSM, joc515@hotmail.com

I. INTRODUCCIÓN

Los taninos son metabolitos polifenólicos ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo. En la medicina tradicional se usan externamente, los preparados a base de drogas ricas en taninos, como las decocciones, se emplean para detener pequeñas hemorragias locales; en inflamaciones de la cavidad bucal, catarros, bronquitis, quemaduras, hemorroides, etc.

Los taninos son útiles igualmente contra la diarrea, enfriamiento intestinal y afecciones vesiculares.

Estos compuestos participan en diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, la formación de componentes estructurales de la planta, la alelopatía y la defensa ante los factores adversos del ambiente. ^{[1], [2]}

En el presente trabajo de investigación se realizó un screening fitoquímico determinándose la presencia de saponinas, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, quinonas, cumarinas y alcaloides. Estos datos coinciden con los obtenidos por Gonzales y colaboradores ^[3], quienes realizaron un estudio fitoquímico comparativo entre *Oenothera rosea* y *Oenothera multicaulis*; sin embargo, los resultados reportados para *Oenothera rosea* L'Hér. Ex Aiton, planta estudiada en este trabajo de investigación; difiere en la presencia de saponinas, cumarinas y alcaloides.

También se ha comparado cuantitativamente los diferentes tipos de taninos obtenidos, los hidrolizables y los condensados, tanto de ramas como de hojas, por diferentes métodos existentes en los diferentes extractos acuosos y etanólicos de la *Oenothera rosea* L'Hér. Ex Aiton.

II. PARTE EXPERIMENTAL

1. Obtención y Tratamiento de los Extractos

La especie fue recolectada en el distrito de San Agustín de Cajas, Junín. Se realizó la selección de las ramas y hojas en buen estado. Éstas fueron colocadas en la estufa para ser secadas durante 48 horas a 30°C. Una vez secadas tanto las hojas como las ramas fueron cortadas en pequeños trozos y molidas.

Para la obtención de los extractos acuosos se pesó 20 gramos de ramas, éstas fueron colocadas en un balón con 200 mL de agua, el cual se llevó a ebullición durante una hora. Se enfrió, se filtró y la solución resultante se conservó en un vaso de precipitados. Se realizó una segunda extracción, la cual se juntó con el extracto anterior y se llevó a sequedad total en estufa a 35°C. Igualmente se procedió con las hojas.

Para la obtención de los extractos etanólicos se pesó 20 gramos de ramas, las cuales fueron maceradas durante 24 horas con 200 mL de alcohol al 50%. Se filtró la solución resultante, se conservó en un vaso de precipitados. Se realizó una segunda extracción, la cual se juntó con el extracto anterior y se llevó a sequedad total en estufa a 30°C. Igualmente se procedió con las hojas.

2. Determinación Cualitativa de Taninos en los Extractos Secos.

De los extractos secos obtenidos se toman 2 gramos de muestra y se disuelven en los solventes respectivos, se realizaron pruebas con reactivos químicos dando reacciones de coloración y precipitación en tubos de ensayo determinando la presencia y/o ausencia de los diferentes tipos de taninos. Tabla Nro. 2

3. Determinación Cuantitativa de Taninos

Para la determinación cuantitativa de los taninos se utilizaron extractos líquidos obtenidos de la misma manera que los extractos secos. Se cuantificó los taninos mediante los siguientes métodos:

- Taninos Hidrolizables: Lowenthal, Folín - Ciocalteu.
- Taninos Condensados: Stiasny, Técnica de la Proantocianidina.
- Polifenoles totales: Ultravioleta (UV).

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las TABLAS 1 y 2 se muestran los resultados de la determinación cualitativa

de taninos en los extractos secos de agua destilada y alcohol al 50%.

Se observa en ambos extractos la presencia de taninos del tipo hidrolizable y también del tipo condensados, siendo los primeros los que se encuentran en mayor proporción.

Los taninos hidrolizables se cuantificaron mediante los métodos de Lowenthal (método volumétrico) y con el método de Folín - Ciocalteu (método espectrofotométrico). Para los taninos condensados se utilizaron los métodos de Stiasny y la de Proantocianidina, siendo el método Ultravioleta el que cuantifica tanto los taninos condensados como los taninos hidrolizables así como también los polifenoles totales.

TABLA 1. Determinación de taninos del extracto seco de alcohol al 50%

EXTRACTO	REACTIVO	TIPO DE TANINO	HOJAS	RAMAS
ALCOHOL 50%	FeCl ₃	GÁLICO	+++	+++
	K ₂ Cr ₂ O ₇ 5%	-	+++	+++
	KCN 5%	GÁLICO	+++	+++
	ACETATO DE PLOMO 5%	-	+	+
	HIPOCLORITO DE SODIO	ELÁGICO	-	-
	Ca(OH) ₂ 5%	-	+++	+++
	ACETATO DE ZINC	-	+++	+++
	FERRICIANURO DE POTASIO Y AMONÍACO	-	+++	+++
	AGUA DE BROMO	CATÉQUICOS	+	+
	FORMALDEHÍDO		++	++
	BRAEMER	-	+	+
	GELATINA - NaCl	-	+++	+++

(-) Ausencia (+) Poca presencia (++) Moderado (+++) Abundancia

TABLA' 2. Determinación de taninos del extracto seco de agua destilada

EXTRACTO	REACTIVO	TIPO DE TANINO	HOJAS	RAMAS
AGUA DESTILADA	FeCl ₃	GÁLICO	+++	+++
	K ₂ Cr ₂ O ₇ 5%	-	+++	+++
	KCN 5%	GÁLICO	+++	+++
	ACETATO DE PLOMO 5%	-	+	+
	HIPOCLORITO DE SODIO	ELÁGICO	-	-
	Ca(OH) ₂ 5%	-	+++	+++
	ACETATO DE ZINC	-	+++	+++
	FERRICIANURO DE POTASIO Y AMONIACO	-	+++	+++
	AGUA DE BROMO	CATÉQUICOS	++	++
	FORMALDEHÍDO		++	++
	BRAEMER	-	+	+
	GELATINA - NaCl	-	+++	+++

(-) Ausencia (+) Poca presencia (++) Moderado (+++) Abundancia

TABLA 3. Determinación de taninos totales por el método de Lowenthal

AGUA DESTILADA		
DETERMINACIÓN	HOJAS	RAMAS
TANINOS TOTALES (g ácido tánico/100g muestra)	13,16	12,25
Desviación estándar	0,0195	0,0134
ALCOHOL 50%		
DETERMINACIÓN	HOJAS	RAMAS
TANINOS TOTALES (g ácido tánico/100g muestra)	14,38	13,41
Desviación estándar	0,0155	0,0148

TABLA 4. Determinación de taninos totales por el método de Folín Ciocalteu

AGUA DESTILADA		
DETERMINACIÓN	HOJAS	RAMAS
TANINOS TOTALES (g ácido tánico/100g muestra)	14,22	13,58
Desviación estándar	0,0206	0,0173

ALCOHOL 50%		
DETERMINACIÓN	HOJAS	RAMAS
TANINOS TOTALES (g ácido tánico/100g muestra)	15,18	14,19
Desviación estándar	0,0134	0,0176

TABLA 5. Determinación de taninos condensados por el método de Stiasny

	RENDIMIENTO EX-TRACTO TOTAL %	# STIASNY	% TANINOS CONDENSADOS
SOLUCIONES ACUOSAS			
HOJAS	14,71	14,43	2,12
RAMAS	15,65	15,04	2,35
SOLUCIONES ETANÓLICAS			
HOJAS	10,95	19,84	2,17
RAMAS	12,41	22,03	2,73

TABLA 6. Determinación de taninos condensados por el método de la Proantocianidina

TANINOS CONDENSADOS, %			
(Método proantocianidina: D.O. 550nm)			
SOLUCIONES ACUOSAS		SOLUCIONES ETANÓLICAS	
HOJAS	RAMAS	HOJAS	RAMAS
0,71	0,70	0,85	0,95
Desviación estándar		Desviación estándar	
0,0105	0,0114	0,0106	0,0113

TABLA 7. Determinación de polifenoles por el método UV

% REACTIVIDAD UV	
SOLUCIONES ACUOSAS	
HOJAS	30,10 ± 0,0205
RAMAS	28,94 ± 0,0287
SOLUCIONES ETANÓLICAS	
HOJAS	29,88 ± 0,0153
RAMAS	27,04 ± 0,0139

En la TABLA 3 se cuantifican los taninos hidrolizables por el método de Lowenthal obteniendo 14,38 g de ácido tánico/100 g de muestra, en comparación a lo obtenido por el método de Folín – Ciocalteu (TABLA 4) 15,18 g de ácido tánico/100 g de muestra, ambos resultados son obtenidos de los extractos de hojas en alcohol al 50%. Se deduce que los extractos en alcohol y por el método espectrofotométrico son los que presentan mayor proporción de taninos hidrolizables.

Los taninos condensados se determinan mediante el método de Stiasny (TABLA 5) obteniendo la mayor proporción para extracto de ramas en alcohol al 50%; 2,73%.

El método de la proantocianidina (TABLA 6) cuantifica taninos condensados como equivalentes de leucocianidinas (0,95% para extracto de ramas en alcohol al 50%), ambos métodos dan valores igualmente bajos.

La cuantificación de polifenoles (TABLA 7) mediante la absorción de luz ultravioleta (UV) se considera el método más eficaz ya que no sólo cuantifica los taninos condensados, sino también los taninos hidrolizables y demás polifenoles.

IV. CONCLUSIONES

- Se comprueba mediante pruebas cualitativas, utilizando reacciones de coloración y precipitación, presencia de taninos

hidrolizables y condensados en esta planta.

- El método espectrofotométrico de Folín – Ciocalteu presenta valores más altos que los obtenidos por el método volumétrico de Lowenthal: hojas de extracto acuoso se obtiene 14,22 gramos de ácido tánico/100 gramos; en cambio por el método de Lowenthal se obtiene 13,16 gramos de ácido tánico/100 gramos de muestra.
- Mediante el método de Stiasny se obtienen los porcentajes de taninos condensados. En nuestra planta este método dio valores bajos con respecto a otras especies.
- El método de la técnica de la proantocianidina que cuantifica taninos condensados como equivalentes de leucocianidinas dio valores igualmente bajos.
- Los datos obtenidos para taninos condensados, permiten concluir que ambas partes analizadas de la planta no contienen cantidades suficientes que justifiquen su extracción para la aplicación en la industria de adhesivos o curtiembre, pero sí en las industrias farmacéuticas y cosméticas, ya que actualmente se prefieren productos naturales en estas industrias.

V. EJEMPLO DE CÁLCULOS

Concentración del extracto

$$FT \text{ (mg } \acute{A}T/L) = \left(\frac{(A_{\text{Muestra}} - A_{\text{Blanco}}) \pm b}{m} \right) \times FD = FT_1$$

Donde:

FT = Fenoles Totales

A_{Muestra} = Absorbancia de la muestra

A_{Blanco} = Absorbancia del blanco

b = Intercepto

m = Pendiente

FD = Factor de dilución

1. Concentración de la muestra en el extracto total

$$FT \text{ (g } \acute{A}\text{T/100 g de muestra)} = \left(\frac{FT_1 \times V_{\text{Extracto}}}{M \times 1000} \right) \times 100$$

Donde:

FT = Fenoles Totales

V_{Extracto} = Volumen del extracto (Litros)

M = Masa de la muestra usada en la extracción (gramos)

VI. AGRADECIMIENTOS

Al Laboratorio de Productos Naturales, por brindar los elementos necesarios para la realización de la parte experimental de la investigación.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1]. **KÄHKÖNEN, MARJA; COPIA, ANU I.; HEINONEN, MARINA** "Berry phenolic and their Antioxidant activity", Journal of Agricultural Food Chemical, Vol. 49, pp. 4076 – 4082, 2001.
- [2]. **ROBBINS, R.** "*Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology*", Journal of Agricultural Food Chemical, Vol. 51, pp. 2866 – 2887, 2003.
- [3]. **GONZALES J.; LECHUGA A.; SERRANO C.** "Estudio fitoquímico comparativo de *Oenothera rosea* y *Oenothera multicaulis* (Yawar ch'onqa)". Rev. Situa; Vol. 9 (17): pp. 66 – 76, 2000.