

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DE LOS TANINOS DE *OENOTHERA ROSEA L'HÉR. EX AITON*

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

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar la actividad antioxidante de los extractos alcohólicos y acuosos de *Oenothera rosea L'Hér. Ex Aiton*, aplicando el método del DPPH obteniendo como concentración inhibitoria para las hojas en extracto etanólico (IC₅₀) de 34,99 µg/mL.

También se realizó el ensayo de la actividad antimicrobiana donde se obtuvo una respuesta antibacteriana frente a *Escherichia coli*, mas no frente a la *Salmonella gallinarun*, para todas las concentraciones de los extractos acuosos y etanólicos.

Palabras clave: *Oenothera rosea*, taninos, actividad antimicrobiana, actividad antioxidante, DPPH, extracto etanólico, extracto acuoso.

ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF TANNINS OF *OENOTHERA ROSEA L'HÉR. EX AITON*

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the antioxidant activity of alcoholic and aqueous extracts of the *Oenothera rosea L'Hér. Ex Aiton* by using the DPPH method getting as an inhibitory concentration for leaves in ethanol extract (IC₅₀) 34,99 µg/mL.

We also performed the antimicrobial activity assay which yielded an antibacterial response against *Escherichia coli*, but not against *Salmonella gallinarun*, for all concentrations of the aqueous and ethanol extracts.

Keywords: *Oenothera rosea*, tannins, antimicrobial activity, antioxidant activity, ethanol extract, aqueous extract.

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

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

3. Dpto. de Química Orgánica, FQIQ - UNMSM, juancawoolcott@yahoo.es

I. INTRODUCCIÓN

Los taninos están asociados a las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), las características nutritivas y las propiedades antioxidantes de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los taninos se debe a la presencia de compuestos fenólicos. ^{[1], [2]}

Los compuestos extraídos de las plantas que poseen actividad antimicrobiana generalmente son compuestos fenólicos y polifenoles entre los que se encuentran: quinonas, flavonoides, taninos y cumarinas. ^[3]

Los taninos han sido utilizados como colorantes de pieles y alimentos, tienen gusto amargo y suelen acumularse en las raíces, cortezas y en menor medida en las hojas. Los taninos pueden tener varios usos por ejemplo en la clarificación del vino mediante la precipitación con gelatina, así como también la capacidad de precipitar proteínas sirve para el curtido de pieles. En ese sentido, los taninos se intercalan entre las fibras de colágeno, estableciendo uniones que permiten crear una gran resistencia frente al agua y el calor, haciendo que la piel se convierta en cuero. ^[4]

Esta combinación de los taninos con proteínas de la piel, forman precipitados resistentes a la putrefacción, lo cual priva a las bacterias contaminantes de su sustrato nutritivo. Su poder astringente lo hace apto para la cicatrización de heridas, sobretodo administrado en forma de cataplasmas. ^[4]

El uso terapéutico tradicional de *Oenothera rosea* L'Hér. Ex Aiton dentro de la medicina tradicional en nuestro país, es para aliviar contusiones, heridas e inflamaciones, lo cual se ha visto confirmado en estudios farmacológicos, donde se demuestran sus efectos antiinflamatorios y anticoagulantes ^[5]; por otra parte, esta especie presenta efectos analgésicos y relajantes, lo cual explica su uso reiterado tradicionalmente para calmar dolores. ^{[5], [6]}

Por el uso muy difundido en la medicina popular para el tratamiento de diversos padecimientos de la piel como cicatrizante.

Se decidió realizar el estudio de esta planta, comprobando la actividad antioxidante y antimicrobiana de los taninos en los extractos alcohólicos y acuosos 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 30°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. Actividad Antioxidante

De los extractos secos obtenidos, se pesó 0,5 gramos y se le añadió 10 mL de su respectivo solvente. Con estas diferentes soluciones se realizaron pruebas con el DPPH (2,2-difenilpicrilhidrazil) para determinar el

factor de dilución (se observó mediante el cambio de color de púrpura a amarillo) que se utilizará en los posteriores análisis.

De la concentración inicial de los extractos desecados en agua y alcohol al 50% (50 g/L) se realizaron diluciones sucesivas de 1; 5; 10; 20; 40; 60; 80; 100; 150 y 200 mg/L. En una batería de 10 pipetas eppendorfs se colocaron 5 µL de cada dilución preparada, luego se añadió 995 µL de DPPH. Se colocó la batería de eppendorfs bajo oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se midió la absorbancia de cada dilución a 517 nm.

3. Actividad Antimicrobiana

Se prepararon los precultivos de los microorganismos en el medio líquido correspondiente (agar nutritivo), se dejaron crecer durante 24 horas a 37°C. Los microorganismos se inocularon en el medio agarizado correspondiente, previamente fundido y mantenido a 45°C. Luego de la solidificación del medio, se hicieron 4 perforaciones de 7 mm de diámetro, donde se colocaron 100 µL del extracto obtenido con agua destilada a diferentes concentraciones (se realizó todo el procedimiento en presencia del mechero para obtener así un ambiente esterilizado). Las placas (forradas con papel kraft) se incubaron a 37°C durante 24 horas y después se evaluaron los resultados mediante la lectura del diámetro del halo de inhibición del crecimiento de los microorganismos. Lo mismo se realizó con los extractos obtenidos con alcohol al 50%.

El método utilizado fue el de difusión por discos basados en la metodología de Bauer et al., las cepas utilizadas están depositadas en el ATCC (American Type Culture Collection): *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Salmonella gallinarum* (ATCC 9184). Se utilizaron placas de control con las cepas

para observar los efectos de las soluciones utilizadas. Se utilizaron concentraciones de 5; 25; 50 y 100%. Se obtuvo como resultado que los extractos de hojas tienen mayor actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* desde una concentración del 5% (1,5 mm de diámetro) hasta 100% (4,0 mm de diámetro) en solución acuosa; y en solución etanólica desde 5% (2,0 mm de diámetro) hasta 100% (6,5 mm de diámetro), mas no frente a *Salmonella gallinarum*.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la TABLA 1 se muestra los resultados de la concentración inhibitoria (IC_{50}) para los extractos etanólicos y acuosos. De acuerdo con el parámetro de coeficiente de inhibición (IC_{50}), bajos valores de IC_{50} reflejan una alta actividad para inhibir radicales libres (Ancos; González; Cano) [7], lo que nos demuestra que el extracto de hojas en solución etanólica presenta la más fuerte actividad antioxidante con una IC_{50} de 34,99 µg/mL.

Para el ensayo de actividad antimicrobiana se utilizaron las siguientes cepas: *Escherichia coli* y *Salmonella gallinarum*.

Se observa que los extractos acuosos y etanólicos (de hojas y ramas) presentan actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli*, desde el 5% hasta el 100% de concentración con halos de inhibición de 1,5; 1,5; 2,0; 2,0 mm; respectivamente. Como era de esperarse los extractos etanólicos presentan mayores valores de inhibición, ya que el alcohol es un bactericida de potencia intermedia y es activo frente a bacterias Gram negativas. [8] Las bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella gallinarum*, ambas son bacterias Gram negativas. [9], [10] Sin embargo, los extractos obtenidos frente a *Salmonella gallinarum* no presentan actividad antimicrobiana.

TABLA 1. Concentración inhibitoria (IC_{50}) de DPPH con los extractos acuosos y etanólicos

SOLUCIONES ACUOSAS		
	HOJAS	RAMAS
IC 50 ($\mu\text{g/mL}$)	42,08	53,98
Desviación estándar	0,0047	0,0225
SOLUCIONES ETANÓLICAS		
	HOJAS	RAMAS
IC 50 ($\mu\text{g/mL}$)	34,99	37,37
Desviación estándar	0,0109	0,0130

TABLA 2. Valores de inhibición observados en *Escherichia coli*

	Escherichia coli			
	EXTRACTOS EN AGUA DESTILADA		EXTRACTOS EN ALCOHOL AL 50%	
	RAMAS \varnothing mm	HOJAS \varnothing mm	RAMAS \varnothing mm	HOJAS \varnothing mm
5%	1,5	1,5	2,0	2,0
25%	2,0	2,5	3,0	3,0
50%	3,0	4,0	4,0	5,0
100%	4,0	5,0	5,5	6,5

Los extractos obtenidos frente a *Salmonella gallinarum* no presentan actividad antimicrobiana.

IV. CONCLUSIONES

La mayor actividad antioxidante se observó en el extracto etanólico de hojas con 34,99 $\mu\text{g/mL}$, frente a los radicales DPPH.

Los extractos obtenidos con agua destilada y alcohol al 50% poseen actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* desde una concentración del 5%, mas no frente a *Salmonella gallinarum*.

El extracto etanólico al 50% tiene una buena actividad antioxidante y a la vez actividad antimicrobiana por lo que ser de suma utilidad en la industria cosmética ya que actualmente se prefieren productos naturales en la preparación de cremas con propiedades antimicrobianas y antioxidantes.

V. AGRADECIMIENTOS

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

VI. 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] MURPHY, M "Plants products as antimicrobial agents", pp. 564 – 582, 1999.
- [4] GÓMEZ OROZCO, EDSON DANIEL "Comparación del porcentaje de extracto tánico de la corteza y de la madera de encino (*Quercus tristis Liebm*) proveniente de un bosque natural", Universidad de san Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Química, 2004.
- [5] YARLEQUÉ, MIRTHA; YARLEQUÉ, LILIANA; RUEDA, LUIS "Efecto anti-coagulante in vitro del extracto acuoso de *Oenothera rosea Aiton 'chupa-sangre'*", Departamento de Ciencias

Dinámicas, Facultad de Medicina, UNMSM, 2007.

[6] **VILLENA NAKAMURA, CÉSAR AUGUSTO** "Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* (Yawar socco) en ratas con inducción de inflamación aguda y crónica", Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM, 2010.

[7] **ANCOS, B.; GONZALES, E. M.; CANO, M. P.** "Ellagic acid, vitamin C and total phenolic contents and radical scavenging capacity affected by freezing and frozen storage in raspberry fruit", Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 48, Núm. 10, pp. 4565 - 4570, 2000.

[8] **SOCIEDAD CATALANA DE FARMACIA CLÍNICA** Alcoholes. Disponible en: <http://www.scfarmclin.org/docs/higiene/part2/232.pdf>.

[9] **WIKIPEDIA, LA ENCICLOPEDIA LIBRE** Escherichia coli. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli.

[10] **JURADO JIMÉNEZ, ARENAS MUÑOZ, R.; DOBLAS DELGADO, A.; RIVERO, A.; TORRE-CISNEROS J.** "Fiebre tifoidea y otras infecciones por salmonellas", Unidad de Gestión Clínica de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Reina Sofía.