



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“CUANTIFICACIÓN DE TANINOS EN MALEZAS USADAS COMO  
FORRAJE EN EL ESTADO DE QUERÉTARO”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO EN ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**GEORGINA SARAID MUÑOZ TAVERA**

**DIRIGIDA POR**

**Dra. DORA MARINA GUTIÉRREZ AVELLA**

**SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2009.**

Universidad Autónoma de Querétaro  
DIR. GRAL. DE BIBLIOTECAS

1987

**RECIBIDO**

No. Adq. H58976

No. Título \_\_\_\_\_

Clas. TS

632.5

M971c

\_\_\_\_\_



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“CUANTIFICACIÓN DE TANINOS EN MALEZAS USADAS  
COMO FORRAJE EN EL ESTADO DE QUERÉTARO”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO EN ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**GEORGINA SARAID MUÑOZ TAVERA**

**DIRIGIDA POR**

**Dra. DORA MARINA GUTIÉRREZ AVELLA**

**SINODALES**

**Dra. DORA MARINA GUTIÉRREZ AVELLA**  
DIRECTOR

**Dra. SILVIA LORENA AMAYA LLANO**  
SINODAL

**Dr. MAMADOU MOUSTAPHA BAH**  
SINODAL

**M. en C. ISIDRO RESÉNDIZ LÓPEZ**  
SINODAL

---

---

---

---

## ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
II.1 Taninos	5
II.1.1 Interacción de taninos con proteínas	8
II.1.2 Interacción de taninos con carbohidratos	9
II.1.3 Interacción de taninos con metales	10
II.2 Análisis químico de taninos	10
II.3 Plantas forrajeras seleccionadas para el presente estudio	11
III. HIPÓTESIS	28
IV. OBJETIVOS	
IV.1 General	29
IV.2 Específicos	29
V. METODOLOGÍA	
V.1 Materiales y reactivos	30
V.2 Métodos	
V.2.1 Recolección del material vegetal	31
V.2.2 Preparación de los extractos	31
V.2.3 Curva de calibración para fenoles totales	31
V.2.4 Análisis del contenido de fenoles totales en cada extracto	32
V.2.5 Remoción de taninos del extracto acetónico- acuoso	33
VI. RESULTADOS	
VI. 1 Curva de calibración	34
VI. 2 Fenoles totales	35

VI. 3 Fenoles remanentes	35
VI. 4 Contenido de taninos	35
VII. DISCUSIÓN	37
VIII. CONCLUSIONES	38
IX. BIBLIOGRAFÍA	39

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Efectos biológicos de los factores antinutricionales en rumiantes.	5
2. Curva de calibración del ácido tánico.	32
3. Concentraciones de ácido tánico empleadas para obtención de la curva de calibración.	34
4. Contenido de fenoles totales, fenoles remanentes y taninos en 100 g de planta seca.	36

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Flavan-3-ol	7
2. Epicatequina-[(4 $\beta$ ->8)-epicatequina] <sub>15</sub> -(4 $\beta$ ->8)-catequina	7
3. $\beta$ -1,2,3,4,6-pentagaloil-O-D-glucosa	8
4. <i>Amaranthus hybridus</i> L.	12
5. <i>Brassica rapa</i> L.	13
6. <i>Cosmos bipinnatus</i> Cav.	15
7. <i>Cynodon dactylon</i> Pers.	16
8. <i>Desmodium molliculum</i> DC.	17
9. <i>Ipomoea purpurea</i> Roth.	18
10. <i>Malva parviflora</i> L.	19
11. <i>Oxalis decaphylla</i> H. B. & K.	21
12. <i>Parthenium hysterophorus</i> L.	22
13. <i>Sanvitalia Procumbens</i> Lam.	23
14. <i>Simsia amplexicaulis</i> Pers.	24
15. <i>Sorghum halepense</i> Pers.	26
16. <i>Tithonia tubiformis</i> Cass.	27
17. Curva de calibración del ácido tánico	34
18. Comparación del contenido de taninos en las 13 malezas forrajeras	36

## RESUMEN

Las malezas son plantas con potencial nutricional, lo cual puede representar una alternativa para la alimentación animal sobre todo en regiones pobres. Sin embargo, esta aparente alta disponibilidad de nutrientes de origen vegetal no puede ser utilizada en todo su potencial por los animales debido a un efecto limitante que presentan algunos metabolitos que se encuentran en ellas y que se conocen como factores antinutricionales (FAN). Entre estos factores destacan los taninos, los cuales interfieren en el aprovechamiento de proteínas, carbohidratos y minerales, por su propiedad química de formar complejos con dichas moléculas. De las 13 malezas analizadas, *Desmodium molliculum* presentó el mayor contenido de taninos (5.168 g de equivalentes de ácido tánico/100 g de planta seca) y *Cynodon dactylon* tuvo la menor cantidad (0.080 g de equivalentes de ácido tánico/100 g de planta seca). De acuerdo a estudios sobre la aceptabilidad de algunas plantas forrajeras por rumiantes basados en el contenido de taninos, podemos considerar altos contenidos, los comprendidos entre 3 y 14%. Parece ser que un alto contenido de estos metabolitos limita la ingestión de los forrajes, por lo cual *D. molliculum* puede ser menos aceptada que las otras plantas consideradas en el presente estudio a la vez que puede afectar adversamente la salud de los animales.



## I. INTRODUCCIÓN

Las malezas son plantas indeseables que crecen como organismos macroscópicos en lugares donde no se les ha sembrado o junto con las plantas cultivadas, interfiriendo de esta manera en el desarrollo normal de éstas. Son una de las principales causas de la disminución del rendimiento de cultivos de mayor valor económico debido a que compiten por agua, luz solar, nutrimentos y bióxido de carbono; son albergue de plagas y patógenos dificultando su combate y, finalmente, obstaculizan la cosecha. Las malezas generalmente se muestran persistentes y altamente dañinas o destructivas hacia los cultivos, animales y al agricultor. De ahí que el impacto negativo a las actividades del hombre provoque que se les considere como indeseables.

A través del tiempo, el agricultor se ha visto en la necesidad de integrar nuevas maneras para controlar a estas plantas, reconociendo que son inevitables en los sistemas agrícolas, que interfieren con los cultivos y que necesariamente requieren de manejo ya sea para controlarse o aprovecharse.

En lo que concierne al aprovechamiento de las malezas, éstas pueden servir ya sea como forraje y alimento animal, en el campo de la medicina tradicional o incluso como alimento para el hombre. En la actualidad, se ha visto que las malezas pueden constituir un potencial nutricional alternativo sobre todo en zonas pobres para la alimentación animal. Sin embargo, esta ventaja no puede ser aprovechada totalmente debido a la presencia de otras sustancias que pueden afectar la salud y productividad de los animales y que son conocidas como factores antinutricionales FAN, las cuales son sustancias naturales no fibrosas generadas por el metabolismo secundario de las plantas, las cuales las utilizan, entre otros propósitos, como medio de defensa contra depredadores. Estas sustancias antinutricionales interfieren en el total aprovechamiento de otros nutrientes como minerales y proteínas o pueden incluso afectar la salud y causar daños al organismo del animal que las consuma.

Dentro de los compuestos antinutricionales podemos encontrar a los taninos, saponinas, fitatos, lectinas y oxalatos por mencionar algunos. Para este estudio, los taninos han merecido especial interés por estar presentes en una gran mayoría de especies vegetales.

Los taninos son compuestos naturales de alto peso molecular que poseen grupos hidroxilo, los cuales pueden formar complejos con proteínas, carbohidratos, moléculas de paredes celulares bacterianas y otras moléculas bajo condiciones ambientales particulares.

Los taninos pueden agruparse en dos clases: condensados e hidrolizables y los efectos sobre los animales van desde benéficos a tóxicos, incluyendo la muerte. Los taninos hidrolizables son potencialmente tóxicos para animales rumiantes debido a las sustancias que originan cuando se degradan en el rumen, y aunque los taninos condensados son considerados no tóxicos para este tipo de animales, pueden producir lesiones en la mucosa intestinal, disminuyendo la absorción de nutrientes, a la vez que forman complejos con carbohidratos, proteína endógena y productos microbianos, reduciendo de esta manera su absorción y asimilación. Los taninos comienzan su acción durante la masticación, al producirse la ruptura del tejido celular y exponer los taninos a las proteínas y carbohidratos. Además, los animales pueden reducir el consumo de alimento por una disminución en la gustosidad que provoca la astringencia de los taninos afectando su nutrición y digestión negativamente. Es por eso que el saber la cantidad de taninos presentes en las plantas que forman parte del alimento para animales es de gran importancia para aportar resultados aplicables a la industria de la alimentación animal.

Los resultados de esta investigación contribuyeron a complementar el proyecto titulado "Caracterización nutricional y actividad antioxidante de malezas que puedan ser utilizadas como aditivos en alimento para animales", el cual se realizó en el laboratorio de Investigación Química y Farmacológica de Productos Naturales de esta facultad.

## II. ANTECEDENTES

Existen plantas que llegan a ser perjudiciales o indeseables en determinado lugar y tiempo, plantas que interfieren con las prácticas agrícolas y hortícolas al ser extremadamente competitivas, colonizadoras agresivas y con la capacidad de adaptarse a distintos ambientes, dichas plantas son conocidas comúnmente como malezas o mala hierba debido a que son plantas que crecen en lugares que no les corresponde en los cuales no han sido sembradas y que obstaculizan los objetivos del hombre (Suárez y col., 2004).

Resulta difícil determinar las grandes pérdidas económicas que representan las malezas debido al bajo rendimiento que producen en las plantas cultivadas al competir con ellas por agua, luz, nutrientes y espacio, además de que afectan el precio de los productos hortícolas cuando forman parte de la cosecha como impurezas. De esta manera se han buscado diferentes alternativas para ejercer un control sobre ellas, siendo una de las formas más viables para su aprovechamiento utilizarlas como forraje y alimento animal según sus características y propiedades nutricionales particulares (Bentley y col., 2002).

Es bien sabido que las plantas proporcionan un sinnúmero de sustancias nutrientes como vitaminas, minerales, proteínas, carbohidratos etc. que ayudan a contribuir a la buena alimentación humana y animal. Por esta razón, debido a que muchas veces las malezas pueden llegar a ser la única fuente alimenticia de distintos animales, en especial de los rumiantes, es importante también evaluar aquellos compuestos antinutricionales que puedan afectar su salud y correcta nutrición (Sodeinde y col., 2007).

El valor nutricional de las plantas está en función de varias características, por ejemplo, el contenido de agua, fibra, celulosa, lignina, minerales, proteína y la presencia de metabolitos secundarios. Avances de la fisiología de las plantas demuestran que los metabolitos secundarios no son producidos al azar, ya que pueden poseer funciones esenciales en el crecimiento y desarrollo de las

plantas al funcionar como defensa contra bacterias, virus, hongos, depredadores y estrés ambiental (Romero, 2000).

Los metabolitos secundarios producidos por las plantas pueden tener efectos nutricionales o antinutricionales en los animales que las consumen. Los factores antinutricionales (FAN) que poseen las plantas, pueden ser definidos como las sustancias que son producidas por el metabolismo secundario y que interfieren en el total aprovechamiento de otros nutrientes como minerales y proteínas o que pueden producir daños al organismo del animal que los consuma. Los factores antinutricionales pueden ser divididos en tres grandes grupos:

- Los que impiden la utilización de la proteína y deprimen la digestión como los inhibidores de proteasas, los taninos, las saponinas y las lectinas. (Makkar y col., 1993).
- Los captadores de iones metálicos como los oxalatos, fitatos, gossipol y glucocinolatos.
- Las antivitaminas y otros como las micotoxinas, cianogénicos, nitratos, alcaloides, agentes fotosensibilizadores, etc. (Neucere y col., 1978; Bernaye y col., 1989):

Los factores antinutricionales presentes en las plantas forrajeras y sus efectos en rumiantes se incluyen en el Cuadro 1. El efecto de los FAN depende de la especie animal, condiciones de manejo, edad, estado nutricional, sexo y de los procesos digestivos de cada especie. Por ejemplo, algunos compuestos son tóxicos para los monogástricos como los inhibidores de tripsina y no presentan efectos adversos en rumiantes porque son degradados en el rumen (Romero, 2000).

Los taninos han merecido especial interés por estar presentes en una gran mayoría de especies vegetales. Su importancia radica en la capacidad que tienen para reaccionar con macromoléculas como carbohidratos, polisacáridos,

enzimas y proteínas del forraje según su concentración, estructura química y peso molecular (Hidalgo y Otero, 2004).

Cuadro 1. Efectos biológicos de los factores antinutricionales en rumiantes

FAN	EFEECTO
Alcaloides, Glucósidos (cianogénicos, saponinas)	Causan hipoxia celular, inhibición de la fermentación y síntesis microbiana en el rumen.
Aminoácidos no proteicos (mimosina, indospectina)	Pérdida de pelo, hinchamiento y baja de los niveles de tirosina sérica.
Inhibidores de proteasas	Impiden la actividad proteolítica de las enzimas.
Lectinas	Provocan interferencia con la absorción de nutrientes.
Oxalatos (ácido oxálico)	Quelante de iones calcio y potasio.
Polifenoles (taninos)	Forman complejos con las proteínas y otras macromoléculas de la dieta y con las enzimas digestivas.

(Romero, 2000).

## II.1 Taninos

Los taninos son compuestos fenólicos de elevado peso molecular (500 a 20000 Daltons) que están presentes en la naturaleza y se encuentran frecuentemente en frutas, árboles, sorgo, maíz, té, chocolate y en algunas especies forrajeras que se utilizan comúnmente en la alimentación del ganado (Hidalgo y Otero, 2004). Los taninos pertenecen al grupo de los polifenoles y son sintetizados por numerosas especies vegetales. Estas estructuras se diferencian del resto de los fenoles por su capacidad de precipitar esencialmente a las proteínas debido a la disminución de la solubilidad en el complejo que forma (García y Medina, 2005).

Los taninos son sustancias de sabor acre y amargo, de tal manera que los alimentos que los contienen también presentan este sabor característico. Suelen acumularse en raíces, tallos, corteza, fruto y en menor proporción se les encuentra en las hojas. Poseen acción astringente, hemostática, antiséptica y antiinflamatoria (Rodríguez y Cucufate, 2005). Existen reportes que indican que los taninos pueden tener efectos positivos sobre el aprovechamiento de las proteínas y que además pueden reducir la emisión de metano en rumiantes (Theodorou y col., 1994).

En la naturaleza, los taninos pueden agruparse en dos clases según su estructura química: condensados e hidrolizables. Los taninos condensados son polímeros de flavan-3-oles de la (-)-epicatequina y la (+)-catequina (Figura 1), flavan-3,4-diol (leucoantocianidina) o sus derivados. Las uniones son por enlaces carbono-carbono entre el C8 de una unidad terminal y el C4 de la siguiente unidad, estos enlaces no son susceptibles a rompimiento por hidrólisis (Figura 2). Los taninos condensados pueden ser oxidativamente degradados en ácido a antocianidinas, tienen estructuras complejas, pueden contener de 2 a 50 o más unidades de flavonoides y dependiendo de su estructura química y grado de polimerización pueden ser o no solubles en agua o en solventes orgánicos.

Los taninos hidrolizables son moléculas con un poliol (generalmente D-glucosa) como núcleo central. Los grupos hidroxilos de estos carbohidratos son parcial o totalmente esterificados con grupos fenólicos como el ácido gálico (galotaninos) (Figura 3), o el ácido elágico (elagitaninos) (Reed, 1995).

La estructura química que presentan los taninos condensados que se encuentran en los tallos aéreos de algunas plantas les permite actuar como atrapadores de radicales libres y agentes antivirales (Ricco y col., 2003; Ricco y col., 2006). Las principales diferencias estructurales presentes entre los taninos condensados e hidrolizables se reflejan en la interacción que existe entre la proteína y los taninos condensados, ya que la misma interacción no se observa con los taninos hidrolizables por que estos últimos son rápidamente degradados

en grupos fenólicos más pequeños que son incapaces de reaccionar con las proteínas del medio (Hidalgo y Otero, 2004).

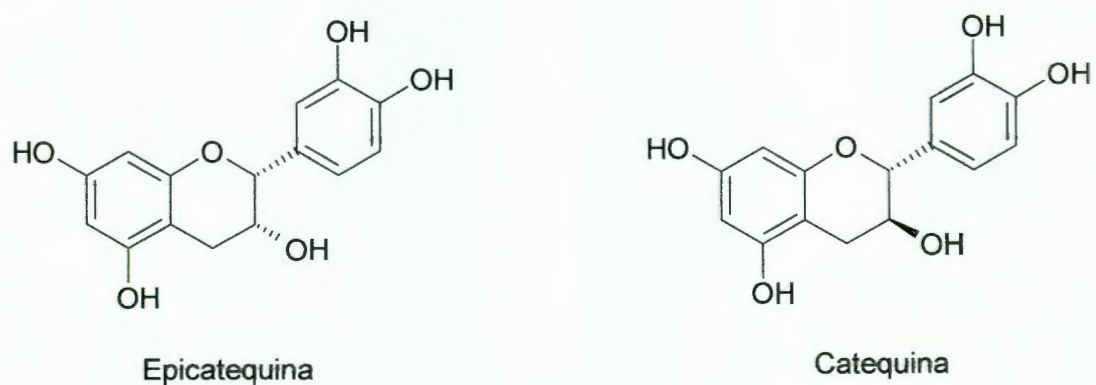


Figura 1. Flavan-3-ol

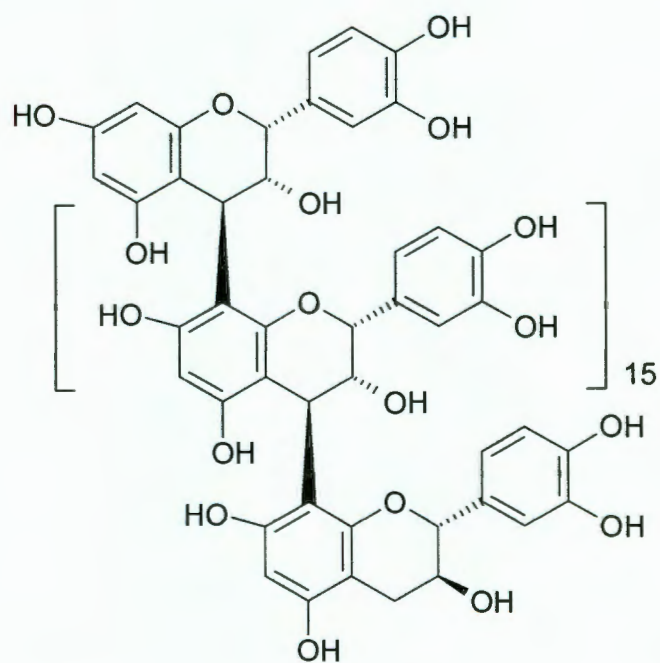


Figura 2. Epicatequina-[(4β->8)-epicatequina]<sub>15</sub>-(4β->8)-catequina.

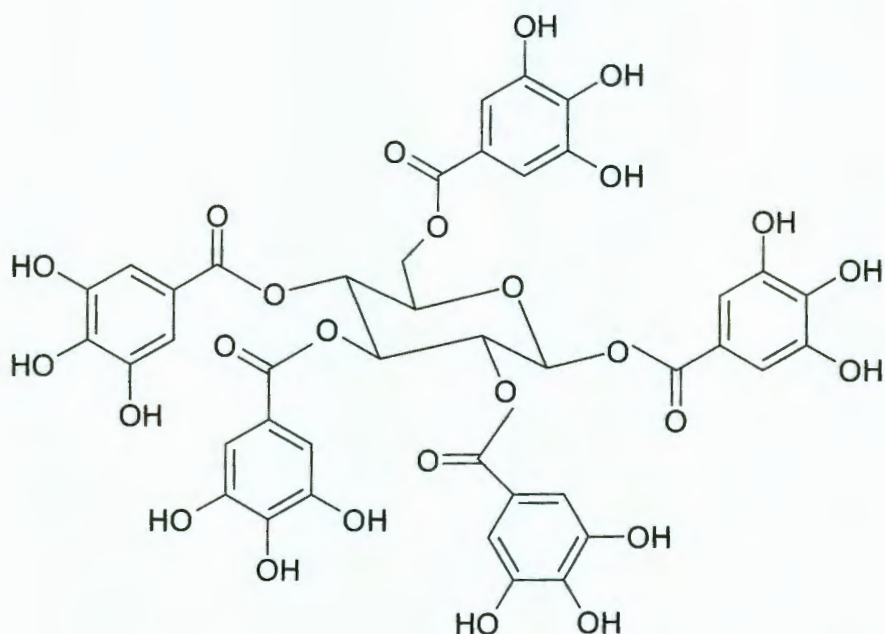


Figura 3.  $\beta$ -1,2,3,4,6-pentagaloiil-O-D-glucosa

Los taninos hidrolizables son potencialmente tóxicos para animales rumiantes debido a las sustancias que originan cuando se degradan en el rumen y aunque los taninos condensados son considerados no tóxicos para este tipo de animales, pueden producir lesiones en la mucosa intestinal disminuyendo la absorción de nutrientes. Generalmente, los taninos inducen una respuesta negativa cuando son consumidos. Estos efectos pueden ser instantáneos como el producido por la astringencia (sabor amargo) o pueden tener una respuesta lenta relacionada a los efectos tóxicos y antinutricionales. Los taninos comienzan su acción durante la masticación al producirse la ruptura del tejido celular y exponer los taninos a las proteínas y carbohidratos. Pueden reducir el consumo por una disminución en la gustosidad y afectar la digestión negativamente (Kumar y Shing, 1984).

### II.1.1 Interacción de taninos con proteínas

La principal característica de los taninos es que pueden ligarse a las proteínas. Estudios recientes han reconocido que las interacciones tanino-proteína son



específicas y dependen de la estructura de la proteína y del tanino (Hidalgo y Otero, 2004).

La formación del complejo tanino-proteína es más favorable y fuerte cuando las proteínas son relativamente más largas y con una estructura flexible, de manera que la interacción se intensifica con la movilidad conformacional y el peso molecular de los taninos. Las interacciones tanino-proteína están basadas en enlaces de hidrógeno, hidrofóbicos, iónicos y covalentes. El grupo fenólico del tanino es un excelente donador de hidrógeno para formar fuertes enlaces con el grupo carboxilo de la proteína, por esta razón los taninos tienen una mayor afinidad por las proteínas que por el almidón (Romero, 2000).

La precipitación de proteínas por los taninos es máxima a valores de pH cercanos al punto isoeléctrico de la proteína. En solución con un pH alto, los hidroxilos fenólicos son ionizados y las proteínas tienen una carga negativa neta. Bajo estas condiciones, la precipitación no ocurre, ya que las proteínas exhiben fuerzas repulsivas.

#### II.1.2 Interacción de taninos con carbohidratos

Cuando los taninos condensados se polimerizan, forman complejos con los polisacáridos. Las características de tener baja solubilidad en agua, alto peso molecular y flexibilidad conformacional, juegan un papel importante en la estabilidad de la interacción tanino-carbohidrato (Romero, 2000).

Las interacciones tanino-almidón muestran diferentes grados de unión en comparación con la interacción tanino-celulosa. El almidón tiene la habilidad de formar huecos hidrofóbicos que permiten la formación de complejos con los taninos, mientras que la celulosa tiene una superficie directa de interacción con los taninos.

La interacción tanino-almidón es específica para los polisacáridos y este fenómeno no ha sido observado en los complejos tanino-proteína; por otro lado,

no está claro, si el pH tiene un papel en la interacción tanino-carbohidrato. No obstante, existe evidencia de un incremento en la afinidad a valores de pH altos (Romero, 2000).

### II.1.3 Interacción de taninos con metales

Los compuestos fenólicos pueden afectar la disponibilidad o actividad biológica de iones metálicos debido a la formación de quelatos. El complejo que se forma es a menudo coloreado, característica que ha sido utilizada para la identificación de compuestos fenólicos. Es ampliamente aceptado que el complejo que forma el tanino con iones metálicos no es biodisponible y por ejemplo el consumo de grandes cantidades de té u otros alimentos ricos en taninos es algunas veces asociada con enfermedades como la anemia (Hargerman, 2002).

### II.2 Análisis químico de taninos

Varios métodos se han utilizado en el análisis de taninos, y se pueden dividir en colorimétricos, gravimétricos, precipitación de proteínas y mezclas de estos métodos. Los métodos colorimétricos son ampliamente usados debido a su simplicidad y alta sensibilidad. En éstos, se incluyen los métodos de Folin Ciocalteu, Folin Denis, vainillina-HCl, butanol-HCl, ensayo de la rodamina, y el ensayo de Wilson y Hagerman entre otros. Los ensayos de vainillina-HCl determinan catequinas y el del butanol-HCl determina proantocianidinas o taninos condensados; sin embargo, estos ensayos no son específicos y no distinguen fenoles de bajo peso molecular de polifenoles (Makkar, 1989).

El método de Folin-Ciocalteu determina fenoles totales solubles y se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico (Peterson, 1979). La transferencia de electrones a pH básico reduce a los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso de tungsteno ( $W_8O_{23}$ ) y molibdeno ( $Mo_8O_{23}$ ), cuya estructura es

desconocida, siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula (Julkunen-Tiito, 1985). La absorbancia del color azul producido se mide en el espectrofotómetro a 725 nm. El contenido de fenoles de cada extracto es expresado como porcentaje de fenoles en extracto y mg/g de peso seco de la planta, basándose en la curva de calibración del estándar (ácido tánico), de ahí que se utilice el término de “Unidades de ácido tánico equivalentes por gramo de extracto o materia vegetal desecada”. De la misma manera, combinando el método colorimétrico de Folin Ciocalteu con el método gravimétrico del polivinil polipirrolidona (PVPP; ligante de fenoles- taninos), se puede determinar el contenido total de taninos en un extracto y expresar el resultado como equivalentes de ácido tánico (Makkar y col., 1995).

### II.3 Plantas forrajeras seleccionadas para el presente estudio

De 102 malezas arvenses descritas en el estado de Querétaro, 25 son usadas como alimento de vacunos, ovejas, caballos, cerdos y aves (Suárez y col., 2004). Para este estudio se escogieron 13 de estas malezas: *Amaranthus hybridus* L., *Brassica rapa* L., *Cosmos bipinnatus* Cav., *Cynodon dactylon* Pers., *Desmodium molliculum* DC., *Ipomoea purpurea* Roth., *Malva parviflora* L., *Oxalis decaphylla* H.B. & K., *Parthenium hysterophorus* L., *Sanvitalia procumbens* Lam., *Simsia amplexicaulis* Pers., *Sorghum halepense* Pers. y *Tithonia tubiformis* Cass. Existe un estudio sobre el contenido de sustancias nutritivas tales como minerales, proteínas, fibra y actividad antioxidante de estas plantas, el cual fue llevado a cabo en el laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro donde se concluyó que plantas como *C. bipinnatus*, *M. polymorfa*, *T. tubiformis* y *A. hybridus* presentan buenas características para ser utilizadas como forraje porque cumplen con la mayoría de los valores recomendados para el mantenimiento de la salud de los animales que las consumen (Gutiérrez y col., 2008). A continuación se describe cada una de las plantas citadas anteriormente (Figuras 4-16).

*Amaranthus hybridus* L.



Figura 4. *Amaranthus hybridus* L. (Vibrans, 1993).

Introducción: Es una de las malezas mexicanas más comunes y útiles, se le conoce también como Quintonil y Quelite de pollo (Figura 4).

Familia: Amaranthaceae.

Distribución y usos: Es originaria de México, distribuida también en el viejo mundo. Habita en climas cálido, semiseco y templado desde el nivel del mar hasta los 2,600 msnm. Se encuentra distribuida en casi todo el estado de Querétaro, excepto en los municipios de Colón, Corregidora y Huimilpan. Se emplea en casi todo el estado como forraje para toda clase de animales y como alimento cuando está tierna, mejora la engorda de conejos cuando se tiene un 40% de *Amaranthus hybridus* en relación al alimento. En San Pablito Pahuatlán, Puebla, se utiliza para la bilis, cocido y en baños.

Impacto económico y social: contamina las cosechas con sus semillas y estructuras florales (Suárez y col., 2004).

Estudios químicos: Se han realizado estudios sobre:

- Contenido de aceite (He y Corke, 2003).
- Contenido de los pigmentos (Yizhong y col., 1998).
- Evaluación del contenido proteínico (Uzo y Okorie, 1983).

Estudios farmacológicos: determinación de la actividad antibacteriana del polen de *A. hybridus*, encontrándose que el polen de esta planta inhibe el crecimiento de las bacterias en cultivo (Ortega y col., 2003).

*Brassica rapa* L. (*B. Campestris* L.)



Figura 5. *Brassica rapa* L. (*B. Campestris* L.) (Tenório, 2000).

Introducción: En la agricultura campesina generalmente no es vista como perjudicial ya que es una planta comestible importante y nutritiva. Comúnmente se le conoce como Nabo o Mostaza (Figura 5).

Familia: Brassicaceae.

Distribución y usos: Es una especie de origen Euroasiática, adventicia en América; muy difundida como maleza de los cultivos. En el país está registrada en Baja California Norte, Baja California Sur, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luís Potosí, Sinaloa, Sonora, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas. En el estado de Querétaro se localiza en los municipios de Amealco, Colón, Corregidora, El Marqués, Huimilpan, Pedro Escobedo, Pinal de Amoles, Querétaro y San Juan

del Río, en altitudes por debajo de las reportadas en el valle de México, las cuales se reportan en México de 2,250 a 2,950 msnm (Suárez y col., 2004).

A pesar de ser una especie introducida, es una de las plantas recolectadas como quelite más importantes de México (Vibrans, 2005). Sus hojas jóvenes y a veces las flores, son consumidas crudas o cocidas con sal. Sus frutos o silicuas se venden en los mercados con el nombre de vaina y sirven como alimento para pájaros enjaulados. Las semillas contienen un aceite, el cual, si bien no es comestible, se puede usar para fines técnicos, como en lámparas. En el estado de Querétaro es usada como forrajera, para borregos, puercos y vacas. En Amealco, San Joaquín, Huimilpan y Querétaro la usan como alimento cuando está tierna. Cocida y aplicada en cataplasma reduce los sabañones. El jugo obtenido de la raíz cocida combate la tos y la bronquitis crónica (Suárez y col., 2004).

Impacto económico y social: A pesar de ser una especie frecuente y ocasionalmente dominante, no se tienen datos de que tenga un efecto negativo sobre la diversidad en los habitats arvenses y ruderales. Su forma de vida no es intolerante, no es tan alta para que sombre exageradamente a otras especies, y tiene su mayor desarrollo en invierno y al principio de la temporada de lluvias, así evade la competencia y el efecto negativo sobre las malezas nativas (Vibrans, 2005).

Estudios químicos: Se han realizado estudios sobre:

- Contenido de flavonoides (Sasaki y Takahashi, 2002).

Estudios farmacológicos: El flavonoide isoramnetina presentó actividad contra el virus del Herpes simplex tipo HSV-1 mediante el bioensayo SRB (Kim y col., 1998).

*Cosmos bipinnatus* Cav.

Introducción: Es una de las arvenses más atractivas de las partes altas de México. Puede presentarse en grandes poblaciones, sobre todo en cultivos de maíz abiertos y también se le conoce como Mirasol (Figura 6).



Figura 6. *Cosmos bipinnatus* Cav. (Vibrans, 1996).

Familia: Asteraceae o compositae.

Distribución y usos: Se distribuye desde Estados Unidos hasta Guatemala (Suárez y col., 2004). Se reporta de casi todos los estados, menos los de la península de Baja California y de Yucatán. En el estado de Querétaro se encuentra en los municipios de Amealco, Huimilpan y Pinal de Amoles a una altitud de 2,660 msnm. En la cuenca de México se usa como planta ornamental y con este fin se cultiva y se recolecta donde crece espontáneamente. Puede llegar a usarse con fines ceremoniales y religiosos. En Jiquilpan, Michoacán se usa para la tos y en Pinal de Amoles, Querétaro se utiliza como planta forrajera (Suárez y col., 2004).

Impacto económico y social: afecta cultivos como el maíz, cebada, avena, calabaza, haba, frijol, nopal, papa, sorgo, remolacha, tomate, alfalfa, maguey y hortalizas (Vibrans, 2005).

Estudios químicos: Se han realizado estudios sobre:

- Constituyentes principales del aceite esencial (Menut y col., 2000).
- Contenido de flavonoides (Saito, 1976).
- Presencia de procianidinas (Bate- Smith, 1979).

Estudios farmacológicos: No se reportan estudios farmacológicos.

*Cynodon dactylon* Pers. (*Capriola dactylon* Kuntze)



Figura 7. *Cynodon dactylon* (Tenorio, 2000).

**Introducción:** Este pasto es una de las exóticas más comunes de México. Se encuentra como dominante sobre todo en sitios un poco más secos. Comúnmente es conocida como Gramilla (Figura 7).

**Familia:** Poaceae.

**Distribución y usos:** Supuestamente originaria del Nuevo Mundo. Se conoce desde el sur de los Estados Unidos hasta Argentina. Ampliamente distribuida en el valle de México. En el estado de Querétaro se encuentra en los municipios de Arroyo Seco, Caderyta, El Marqués, Pinal de Amoles y Tolimán. En el municipio del Marqués se utiliza como forraje para todo tipo de ganado (Suárez y col., 2004).

Se cultiva para formar céspedes y contener la erosión del suelo. Como planta medicinal utilizan los rizomas como diurético para aliviar la hepatitis no infecciosa y la ictericia (Vibrans, 2005). Su toxicidad se debe al contenido de glucósidos cianogénicos y su consumo puede provocar una gran variedad de síntomas como orina rojizo-café, temblores musculares, mucosas de coloración rojo brillante, dificultades motoras y taquicardia.



Impacto económico y social: En cultivos de plantación forma manchones que llegan a cubrir superficies considerables, sofoca y elimina a las plantas de cultivo, por ejemplo: alfalfa, caña de azúcar, forrajes, huertos, etc.

Estudios químicos: No hay reportes sobre estudios químicos.

Estudios farmacológicos: Evaluación de la actividad antioxidante del extracto acuoso de esta planta el cual mostró una concentración inhibitoria media ( $IC_{50}$ ) de 273.64  $\mu\text{g/ml}$  (Auddy y col., 2003).

*Desmodium molliculum* DC.



Figura 8. *Desmodium molliculum* (Morley, 2005).

Introducción: Es una planta de origen americano que crece en pastizales y bosques de *Quercus* y *Pinus*, es conocida también como Pegarropa (Figura 8).

Familia: Fabaceae

Distribución y usos: Su distribución va desde Sonora y Nuevo León hasta el norte de Sudamérica. En el estado de Querétaro se distribuye en los municipios de Jalpan y Landa de Matamoros, en cultivos de maíz (Suárez y col., 2004).

En el municipio de Landa de Matamoros se usa como forraje para burros y reses. Las hojas se usan contra la sordera; para ello se maceran y la pasta

resultante se pone en los oídos. Las hojas preparadas en té se usan para la diarrea.

Impacto económico y social: Se desconoce.

Estudios químicos: No se encuentran estudios sobre los constituyentes químicos presentes en esta planta.

Estudios farmacológicos: Esta planta formó parte de un estudio de actividad antioxidante llevado a cabo sobre 40 plantas de uso medicinal en Perú, la cual mostró un porcentaje de inhibición de 89.92 a una concentración de 50  $\mu\text{g/ml}$  (Lock y col., 2005).

*Ipomoea purpurea* Roth. (*I. Hirsutula* Jacq. F., *Hirta* Th. Dur., *I. Mexicana* A. Gray, *I. Purpurea* var. *Diversifolia* (Linde.) O'Donell)



Figura 9. *Ipomoea purpurea* (Tenorio, 2000).

Introducción: Esta planta atractiva también llamada “campanitas” (Figura 9), es una de las malezas nativas más comunes y ampliamente distribuidas en cultivos de maíz.

Familia: Convolvulaceae.

Distribución y usos: Se encuentra desde el sur de los Estados Unidos hasta Argentina sobre todo como arvense y ruderal. En el estado de Querétaro se localiza en los municipios de Arroyo Seco, Colón, Peñamiller, Pedro Escobedo,

Pinal de Amoles, Querétaro, San Juan del Río y Tolimán. Los vistoso de sus flores ha hecho que sea ampliamente cultivada como ornamental, también se le encuentra de forma espontánea en cercos, escombros y en campos con otros cultivos (Suárez y col., 2004). En Tolimán y Pinal de Amoles se usa como forraje para los animales.

Impacto económico y social: En cultivos de maíz forma densas poblaciones que se enredan en los tallos de maíz y luego dificultan la cosecha (Vibrans, 2005).

Estudios químicos: Se han realizado estudios sobre:

- Contenido de policétidos y terpenoides (Power y Rogerson, 1909).
- Identificación de una serie de alcaloides (Wilkinson y col., 1986).

Estudios farmacológicos: No se han reportado estudios farmacológicos.

*Malva parviflora* L.



Figura 10. *Malva parviflora* L. (Tenorio, 2000).

Introducción: Esta es la malva introducida más común de México comúnmente conocida como malva de quesitos (Figura 10). Se encuentra sobre todo en los alrededores de casas y poblaciones, pero también como arvense en parcelas, generalmente sobre suelos bien fertilizados.

Familia: Malvaceae.

Distribución y usos: Es una planta originaria de Europa y adventicia en América. En México se encuentra en el norte y centro del país. En el estado de Querétaro la podemos localizar en los municipios de Amealco, Cadereyta, Colón, Corregidora, El Marqués, Ezequiel Montes, Huimilpan, Pedro Escobedo, Peñamiller, Pinal de Amoles, Querétaro, Tolimán y Tequisquiapan (Suárez y col., 2004).

Es usada como planta medicinal (emoliente, digestiva, laxante, para lavar heridas y moretones). La infusión de las hojas se toma para los riñones y las hojas frescas machadas se aplican en las paperas para desinflamarlas (Vibrans, 2005). Las hojas hervidas y los frutos tiernos sirven como alimento y forraje.

Se reporta que en Cadereyta y Pinal la usan como forraje para vacas y chivos, en Tolimán, para curar heridas, y en Pedro Escobedo, Huimilpan y Corregidora la usan como planta medicinal para curar golpes (Suárez y col., 2004).

Impacto social y económico: Se ha reportado que algunos animales que ingieren esta planta presentan envenenamiento que se manifiesta con temblores musculares, vértigo y postración llegando a causar hasta la muerte.

Estudios químicos: Se han realizado estudios sobre:

- Contenido de proteínas antimicrobiales de las semillas de *Malva* (Wang y col., 2001).
- Identificación de un nuevo estigmastano llamado 5 $\alpha$ -estigmastano-9-en-3-ona (Sharma y Ali, 1999).

Estudios farmacológicos: estudio de agentes anticancerígenos de plantas nativas del desierto de Sonora, en el cual *Malva parviflora* no mostró una actividad significativa contra células epiteliales de carcinoma (Donaldson y Cates, 2004).

*Oxalis Decaphylla* H. B. & K. (*Ionoxalis decaphylla* Rose, *I. jaliscana* Rose, *I. Painteri* Rose & Smal, *O. painteri* Knuth, *O. jaliscana* Rose ex Knuth)

Introducción: Planta de origen probablemente americano, se le conoce también como Agritos (Figura 11).

Familia: Oxalidaceae.



Figura 11. *Oxalis decaphylla* (Muer, 2000).

Distribución y usos: En México la encontramos desde Pachuca y Real del Monte hasta Tepozotlán, Tlalpan y San Martín de las Pirámides. En el estado de Querétaro se encuentra en el municipio de Landa de Matamoros, en cultivos de girasol, maíz, calabaza y frijol (Suárez y col., 2004).

Se utiliza como forrajera para las reses.

Impacto económico y social: Provoca daños en ciertos cultivos.

Estudios químicos: No se encuentran reportes de estudios químicos llevados a cabo sobre esta planta.

Estudios farmacológicos: No se encuentran reportes de estudios farmacológicos llevados a cabo sobre esta planta.

*Parthenium hysterophorus* Linn.

Introducción: Planta que se utiliza con éxito en casos de dolores de cabeza y problemas (Suárez y col., 2004). Se le conoce también como hierba amargosa (Figura 12).

Familia: Asteraceae.



Figura 12. *Parthenium hysterophorus* L. (Oudhia, 2005).

Distribución y usos: Es originaria de América tropical y está distribuida desde el sur de Estados Unidos hasta Sudamérica. En el estado de Querétaro se encuentra en los municipios de Arroyo Seco, Jalpan, Landa de Matamoros y Pinal de Amoles.

Se usa principalmente para problemas digestivos así como para infecciones cutáneas, granos, ronchas, y herpes. En el municipio de Landa de Matamoros se le da un uso medicinal tomada en té para el mal del estómago ó como forrajera para burros y reces. En Perú, la planta es usada como analgésica, astringente y antiinflamatoria (Vibrans, 2005).

Impacto económico y social: Contiene en sus tallos y hojas el alcaloide parthenina lo que la hace tóxica para el ganado, ya que actúa en sistema circulatorio disminuyendo el porcentaje de hemoglobina y las propiedades coagulantes de la sangre (Vibrans, 2005).

Estudios químicos: Se han realizado estudios sobre:

- Aislamiento de algunos pseudoguaianolidos del extracto clorofórmico de esta planta (Chhabra y col., 1999; Das y Das, 1997).

- Estudios a cerca de lactosas sesquiterpénicas (partenina, coronopilina y tetraneurina) (Picman y col., 1982).

Estudios farmacológicos: evaluación del contenido de fenoles totales y actividad antioxidante en la cual *P. hysterothorus* no mostró una actividad significativa (Zheng y Wang, 2001).

*Sanvitalia Procumbens* Lam.



Figura 13. *Sanvitalia Procumbens* Lam. (Vibrans, 2006).

Introducción: Planta originaria de México de uso medicinal y forrajero, comúnmente conocida como Ojo de Pollo (Figura 13).

Familia: Asteraceae o compositae.

Distribución y usos: Se localiza a lo largo de la República Mexicana. Habita en climas cálidos, semicálidos, semisecos, secos y templados. Se encuentra en cultivos abandonados, en orillas de caminos, en zonas urbanas o con vegetación perturbada de bosques, pastizales y matorrales. En el estado de Querétaro se localiza en los municipios de Arroyo Seco, Colón, Jalpan y Landa de Matamoros. En el municipio de Landa de Matamoros la usan como forraje para las reses (Suárez y col., 2004).

En diferentes estados de la república se usa para padecimientos digestivos, como diarrea, empacho, falta de digestión, vómito y dolor de estómago. También se usa para combatir la fiebre, para las hinchazones, piquete de alacrán, reumas, mal de orín, comezón de encías, enfermedades respiratorias, inflamación de testículos y como calmante nervioso.

Impacto económico y social: Se ha reportado como maleza en calabaza, cebada, estropajo, frijol, frutales, jitomate, leguminosas forrajeras, maíz, mango, melón, sorgo y tomate provocando daños al cultivo (Vibrans, 2005).

Estudios químicos: Se han realizado estudios sobre:

- Identificación de ésteres triterpénicos de las flores de *S. procumbens* (Ganzinger y col., 1981).
- Aislamiento de un compuesto poliacetilénico de las raíces de esta planta (Bohlmann y col., 1966).

Estudios farmacológicos: No se han encontrado reportes sobre estos estudios.

*Simsia amplexicaulis* Pers.



Figura 14. *Simsia amplexicaulis* Pers. (Tenorio, 2001).



Introducción: Esta es una de las arvenses mexicanas más importantes y abundantes de las tierras altas y se le conoce también como Shotol delgado (Figura 14).

Familia: Asteraceae o compositae.

Distribución y usos: Es de origen probablemente americano, tiene una distribución amplia desde Coahuila y Chihuahua hasta Guatemala (Vibrans, 2005). En el estado de Querétaro se encuentra en los municipios de Colón, El Marqués, Pedro Escobedo y Querétaro a una altitud de 1,820 msnm.

En el municipio de Pedro Escobedo se usa como forraje para burros, borregos y reces, y en el interior de la República Mexicana se ha reportado que se utiliza para tratar la bilis, la tos y para curar el mal de orín. Cuando las plantas están tiernas los agricultores las usan como forraje para el ganado en cantidades sustanciales (Suárez y col., 2004).

Impacto económico y social: Se han registrado diversos cultivos afectados por esta planta como: ajo, aguacate, alfalfa, avena, calabaza, cebolla, chile, estropajo, frijol, nopal, papa, sorgo, tomate.

Estudios químicos: Se han realizados estudios sobre:

- Contenido de compuestos terpénicos (Pérez-Amador y col., 2000).

Estudios farmacológicos: No se han reportado estudios sobre esta planta.

### *Sorghum halepense* Pers.

Introducción: Como maleza de los más diversos cultivos y de campos de pastoreo ha alcanzado tal importancia, que se le declaró plaga de la agricultura nacional, prohibiéndose su cultivo en 1930 (Suárez y col., 2004). Esta maleza es comúnmente conocida como Pasto Johnson (Figura 15).

Familia: Poaceae.

Distribución y usos: En el municipio de Landa de Matamoros se usa como forrajera par alimentar a caballos y burros, en Arroyo seco, para alimentas chivos y vacas.

Es una planta originaria del Mediterráneo, conocida en América tropical y subtropical, Europa, Asia menor, India, Australia, E. U. A., Sur y Centroamérica.

En Querétaro se encuentra en los municipios de Arroyo Seco, Corregidora, El Marqués, Jalpan, Landa, Pedro Escobedo y Tolimán.



Figura 15. *Sorghum halepense* (Tenorio, 2000).

En el municipio de Landa de Matamoros se usa como forrajera para alimentar a caballos y burros. En Arroyo Seco se la dan a chivos y vacas. Es una buena forrajera pero, como todos los sorgos, posee un glucósido cianogénico, (dhurrina) (*p*-hidroxi-(S)-mandelonitrilo-beta-D-glucósido), capaz de provocar la muerte de los animales que la ingieren, por lo que debe proporcionarse al ganado en el momento adecuado (Suárez y col., 2004).

Impacto social y económico: Está restringido y declarado maleza nociva en muchos estados de E.U.A. y en otras partes del mundo. Deben extremarse las medidas preventivas, cuidando el uso de semilla pura y la limpieza de la maquinaria agrícola. Se han reportado daños en cultivos de agave, aguacate, ajonjolí, alfalfa, algodón, arroz, avena, cacahuate, café, calabaza, caña, cebolla, chile, cítricos, estropajo, frijol, lenteja, maíz, mango, melón, papaya, pepino, plátano, potrereros y sandía (Vibrans, 2005).

Estudios químicos: No se encuentran reportes de estudios químicos llevados a cabo sobre esta planta.

Estudios farmacológicos: No se encuentran reportes de estudios químicos llevados a cabo sobre esta planta.

*Tithonia tubiformis* Cass.

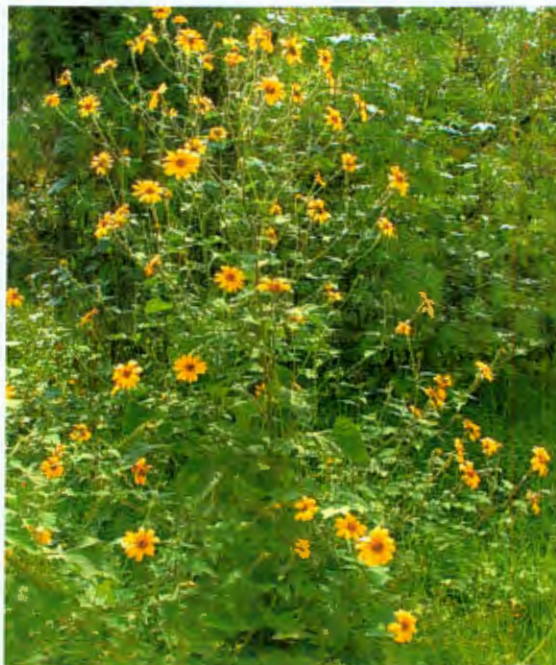


Figura 16. *Tithonia tubiformis* Cass. (Tenorio, 2000).

**Introducción:** Esta planta robusta y atractiva, muy parecida al girasol, puede dominar paisajes enteros al principio de otoño. Se le conoce como Shotol (Figura 16).

**Familia:** Asteraceae o compositae.

**Distribución y usos:** Se encuentra desde Chihuahua a Honduras y el Salvador. En el estado de Querétaro se encuentra en casi todos los municipios excepto en Amealco, Corregidora y Ezequiel Montes.

Es utilizada por los productores como forrajera para alimentar a todo el ganado en general, y es recomendada para usarse en problemas del estómago como la diarrea, así como para la sarna y las reumas. **Impacto social y económico:** Se ha reportado su presencia en los cultivos de ajo, avena, cebada, frijol, haba, maíz, nopal, sorgo, tomate y trigo (Suárez y col., 2004).

**Estudios químicos:** no se encuentran reportes sobre estudios químicos.

**Estudios farmacológicos:** no se encuentran reportes sobre estudios farmacológicos en esta especie.

### **III. HIPÓTESIS**

Las 13 malezas objeto de estudio, usadas como forraje en el estado de Querétaro presentan un alto contenido de taninos.

## **IV. OBJETIVOS**

### **IV.1 GENERAL**

Determinar cuantitativamente el contenido taninos de 13 malezas arvenses del estado de Querétaro usadas como forraje.

### **IV.2 ESPECÍFICOS**

- Estandarizar las curvas de calibración para la determinación del contenido de fenoles totales y de taninos.
- Determinar el contenido de fenoles totales de los extractos acetónico - acuosos.
- Determinar, por diferencia, el contenido de taninos totales expresado como equivalentes de ácido tánico.

## V. METODOLOGÍA

### V.1 Materiales y reactivos

- Balanza analítica OHAUS Analytical Plus
- Baño de agua ultrasónico Branson 1510
- Espectrofotómetro UV/VIS 635/Varian Techtron
- Centrífuga Clay Adams Brand
- Celdas de cuarzo
- Tubos para centrífuga.
- Sonificador Daigger
- Refrigerador
- Máquina para hacer hielo.
- Matraces volumétricos de 25 mL.
- Frascos de vidrio ámbar
- Viales ámbar
- Pipetas automáticas de 50, 100, 1000  $\mu$ L
- Vasos de precipitados de 50 mL
- Probetas graduadas de 10 y 100 mL
- Papel aluminio
- Acetona J. T. Baker
- Reactivo de Folin Ciocalteu Sigma Aldrich Chemical
- Carbonato de Sodio Sigma Aldrich Chemical
- Solución estándar de ácido tánico Sigma Aldrich Chemical
- Polivinil Polipirrolidona (PVPP) Sigma Aldrich Chemical
- Agua destilada

## V.2 Métodos

### V.2.1 Recolección del material vegetal

Las plantas en estado maduro que se utilizaron en este estudio, fueron recolectadas en diferentes localidades del estado de Querétaro. Un espécimen de cada planta fue depositado en el herbario de Querétaro “Dr. Jerzy Rzedowski” (QMEX) situado en la facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro. Las plantas se secaron a 39 °C, se pulverizaron y se guardaron en frascos ámbar para protegerlas de la luz y la humedad a una temperatura de 4° C hasta su uso posterior.

Las plantas objeto de estudio fueron: *A. hybridus*, *B. rapa*, *C. bipinnatus*, *C. dactylon*, *D. molliculum*, *I. purpurea*, *M. parviflora*, *O. decaphylla*, *P. hysterothorus*, *S. procumbens*, *S. amplexicaulis*, *S. halepense*, y *T. tubiformis*.

### V.2.2 Preparación de los extractos

Se pesaron 200 mg del material seco y pulverizado de cada planta en un matraz Erlenmeyer de 25 mL de capacidad. Se adicionaron 10 mL de acetona acuosa al 70% y se colocaron los matraces en un baño de agua ultrasónica, manteniéndolos en tratamiento durante 20 minutos a temperatura ambiente. El contenido de cada matraz se transfirió a tubos de centrifuga, los cuales fueron enfriados a una temperatura de 4° C manteniéndolos en un baño de hielo. Posteriormente, se centrifugaron durante 10 minutos a 3000 rpm, se colectó el líquido sobrenadante y se guardaron sobre hielo para medir en este extracto los fenoles totales y el contenido de taninos de acuerdo al método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Dewanto y col., 2002).

### V.2.3 Curva de calibración para fenoles totales

Se preparó una solución de 0.1 mg/mL de ácido tánico como disolución madre de referencia a partir de la cual se hicieron las soluciones calibrantes. Posteriormente se adicionaron los reactivos correspondientes a cada tubo: el

agua destilada, el reactivo de Folin Ciocalteu (1N) y la solución de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) al 20% como se indica en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Curva de calibración para ácido Tánico

Nº Tubo	Solución de ácido Tánico ( $\mu\text{l}$ )	Agua destilada ( $\mu\text{l}$ )	Reactivo de Folin ( $\mu\text{l}$ )	Solución $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ( $\mu\text{l}$ )
Blanco	0	500	250	1250
1	40	460	250	1250
2	60	440	250	1250
3	80	420	250	1250
4	120	380	250	1250
5	150	350	250	1250

Una vez preparada la curva de calibración, se dejó reposar por 40 minutos y posteriormente se efectuaron las lecturas de absorbancia en un espectrofotómetro UV/VIS a una longitud de onda de 725 nm. Este estudio se llevó a cabo por triplicado.

#### V.2.4 Análisis del contenido de fenoles totales en cada extracto

Se tomaron alícuotas de los extractos acetónico-acuosos de cada planta (inicialmente se probó con 0.02, 0.05 y 0.1 mL) en tubos de ensayo. Posteriormente, se llevaron a un volumen de 0.5 mL con agua destilada y se les adicionó 0.25 mL del reactivo de Folin Ciocalteu y 1.25 mL de la solución de carbonato de calcio. Se agitaron los tubos en un Vortex y se dejaron reposar por un espacio de 40 minutos. Finalmente se leyó su absorbancia en un espectrofotómetro UV/VIS a 725 nm y se calculó el contenido de fenoles totales en la materia seca. El objetivo de probar con tres alícuotas diferentes al inicio se hizo con la finalidad de elegir la concentración que mejor conviniera de acuerdo a las lecturas de las absorbancias. De acuerdo a los resultados observados se determinó tomar alícuotas de 0.03 mL. El estudio se llevó a cabo por triplicado.



### V.2.5 Remoción de taninos del extracto acetónico-acuoso

El método de Folin Ciocalteu es un método muy útil para conocer la eficiencia de la extracción de fenoles en solventes. Se ha observado que este método puede ser acoplado con una matriz insoluble, la polivinil polipirrolidona (PVPP), agente ligante de taninos, para cuantificar taninos en extractos y expresar los resultados como equivalentes de ácido tánico.

Para este estudio, se pesaron 100 mg de PVPP en tubos de ensayo a los cuales se les adicionaron 1.0 mL de agua destilada y 1.0 mL del extracto acetónico-acuoso de cada planta (100 mg de PVPP son suficientes para enlazar 2 mg de fenoles totales). Posteriormente se agitaron los tubos en un Vortex y se mantuvieron en un baño de hielo a 4° C por 15 minutos. Pasado este tiempo, los tubos se agitaron de nuevo. Posteriormente, el contenido de los tubos se centrifugó por 10 minutos a 3000 rpm y se colectó el líquido sobrenadante. En seguida se determinó el contenido de fenoles totales como se mencionó anteriormente, tomándose al menos el doble del volumen de las alícuotas que se usaron para la estimación de los fenoles. Se expresó el contenido de fenoles no tánicos en la materia seca y finalmente, se calculó la concentración de taninos en g/100 de planta seca expresados como equivalentes de ácido tánico, por diferencia entre el contenido de fenoles totales y fenoles no tánicos.

## VI. RESULTADOS

### VI.1 Curva de calibración

Para la determinación de taninos presentes en las 13 malezas objeto de estudio para esta investigación, el primer paso consistió en elegir las concentraciones adecuadas para la construcción de la curva de calibración del ácido tánico como estándar. El promedio de las lecturas de absorbancia  $\pm$  desviación estándar y el gráfico correspondiente se pueden observar en el Cuadro 3 y en la Figura 17.

Cuadro 3. Concentraciones de ácido tánico empleadas para la obtención de la curva de calibración.

Concentración de ácido tánico (mg/mL)	Absorbancia
0.04	0.1886 $\pm$ 0.008
0.06	0.3043 $\pm$ 0.024
0.08	0.3843 $\pm$ 0.006
0.12	0.5823 $\pm$ 0.0165
0.15	0.7073 $\pm$ 0.009

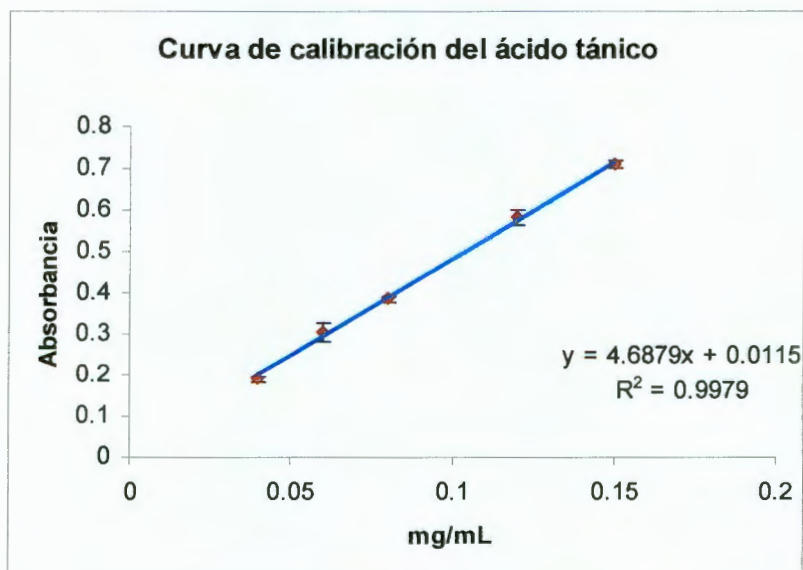


Figura 17. Curva de calibración del ácido tánico.

## VI.2 Fenoles Totales

Los taninos pueden extraerse con solventes orgánicos como el metanol, etanol y acetona. Generalmente se usan soluciones acuosas de metanol al 50% y acetona al 70% siendo esta última mezcla la más utilizada y que da mejores resultados (Terril y col., 1990).

Se prepararon los extractos acetónico-acuosos de cada planta por agitación en un baño de agua ultrasónico durante 20 minutos a temperatura ambiente. Dichos extractos se centrifugaron y se colectó el líquido sobrenadante en frascos ámbar debidamente identificados. Los frascos fueron guardados a una temperatura de 4° C para posteriormente cuantificar el contenido de fenoles totales en cada extracto de acuerdo al método colorimétrico de Folin-Ciocalteu. Todos los experimentos se llevaron a cabo por triplicado. Los resultados de la cuantificación de fenoles totales se muestran en el Cuadro 4.

## VI.3 Fenoles remanentes

Conociendo el contenido de fenoles totales y en base a que la polivinil polipirrolidona (PVPP) enlaza y precipita taninos, se agregó ésta matriz insoluble a la solución enriquecida de fenoles con el fin de retirar de la solución los taninos que se enlazan en ella precipitándolos. Posteriormente se procedió a la separación de los fenoles remanentes por centrifugación para cuantificar de esta manera los fenoles que no se consideran taninos siguiendo la misma metodología mencionada anteriormente (apartado VI.2). El contenido de fenoles totales en cada planta se encuentra expresado en el Cuadro 4.

## VI.4 Contenido de taninos

Finalmente, la diferencia entre fenoles totales y fenoles remanentes (que no son taninos) permite saber el contenido de taninos expresados como equivalentes de ácido tánico en cada planta. Dichos resultados se presentan en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Contenido de fenoles totales, fenoles remanentes y taninos en 100 g de planta seca

Especie vegetal	Fenoles totales (g de ácido tánico /100 g de planta seca)*	Fenoles remanentes (g de ácido tánico /100 g de planta seca)*	Taninos (g de ácido tánico /100 g de planta seca)
<i>A. hybridus</i>	1.191±0.08	1.052±0.07	0.139
<i>B. rapa</i>	1.112±0.16	0.995±0.15	0.117
<i>C. bipinnatus</i>	2.888±0.04	1.545±0.03	1.343
<i>C. dactylon</i>	0.867±0.07	0.788±0.05	0.080
<i>D. molliculum</i>	11.463±0.04	6.295±0.03	5.168
<i>I. purpurea</i>	1.561±0.24	1.336±0.16	0.225
<i>M. parviflora</i>	1.231±0.08	1.007±0.08	0.224
<i>O. decaphylla</i>	0.992±0.20	0.861±0.18	0.131
<i>P. hysterothorus</i>	1.927±0.10	1.074±0.10	0.853
<i>S. procumbens</i>	1.013±0.06	0.916±0.07	0.097
<i>S. amplexicaulis</i>	1.35±0.07	0.938±0.08	0.412
<i>S. halepense</i>	1.093±0.08	0.842±0.05	0.251
<i>T. tubiformis</i>	1.253±0.01	1.129±0.05	0.124

\*Promedio de tres mediciones expresadas sobre la base de material seco (±DE).



Figura 18. Comparación del contenido de Taninos en las 13 malezas forrajeras.

## VII. DISCUSIÓN

Los taninos son sustancias complejas que se encuentran comúnmente en las especies forrajeras utilizadas en la alimentación de animales de producción pastoril. La concentración de estas sustancias es muy variable dependiendo de la especie, tipo de tejido, cultivo, estado de desarrollo y condiciones ambientales. Sin embargo, en concentraciones de 2 a 5% en el material seco (MS) afectan de manera adversa la digestibilidad en ganado vacuno y ovino (Diagayete y Huss, 1981). En altas concentraciones de 6 a 10% en el MS deprimen el consumo voluntario y la palatabilidad de las especies forrajeras, reducen la digestibilidad de la materia seca, materia orgánica, fibra, proteína y carbohidratos (Reed y col., 1990; Reed, 1995), niveles de taninos de 3 a 7% en alimento para aves pueden causar la muerte.

Como puede observarse en la Figura 18, en las plantas objeto del presente estudio los contenidos de taninos expresados como equivalentes de ácido tánico variaron de 0.08 a 5.1% de MS que se considera de baja a moderada concentración. Existen datos del contenido de taninos totales en especies forrajeras de familias de Fabaceae principalmente, cuyos valores oscilan entre 0.05 y 7.7 % MS (Hidalgo y Otero, 2004), el contenido de taninos totales de las plantas analizadas cae dentro de este rango, siendo *D. molliculum* la planta que mostró el mayor contenido y *C. dactylon* la que mostró la menor concentración (Cuadro 4). Por otro lado (Aschfal y col., 2000) reportan que las plantas con un contenido de taninos entre 5.8 y 8% son evitadas por los animales (particularmente ovejas) para su consumo, debido a su baja palatabilidad además de que disminuyen la digestibilidad de proteínas y materia orgánica. Por el contrario aquellas de bajo contenido 0.2 a 0.4 % gozan de buena aceptabilidad.

## VIII. CONCLUSIONES

Las 13 malezas objeto de estudio de esta investigación mostraron marcadas variaciones en el contenido de taninos, yendo desde concentraciones bajas de 0.08 g hasta concentraciones altas de 5.168 g de equivalentes de ácido tánico/100g de planta seca, pertenecientes a *C. dactylon* y a *D. molliculum* respectivamente.

De acuerdo a estudios sobre la aceptabilidad de algunas plantas forrajeras por rumiantes basados en el contenido de FAN, podemos considerar altos contenidos de taninos, los comprendidos entre 3 y 14%, por lo cual *D. molliculum* pudiera ser menos aceptada que las otras plantas consideradas en el presente estudio y afectar adversamente la salud de los animales.

Las demás plantas no representan un riesgo en cuanto al contenido de taninos para la alimentación animal ya que los niveles reportados en este estudio están dentro de los límites seguros.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

**Aschfalk, A., Steingass, H., Muller, W., Drochner, W. 2000.** Acceptance and digestibility of some selected browse feeds with varying tannin content as supplements in sheep nutrition in west Africa. *Journal of Veterinary Medicine A*: Vol. 47: 513-524.

**Auddy, B., Ferreira M., Blasina, F., Lafon, L., Arredondo, F., Dajas, F., Tripathi, P.C., Seal, T., Mukherjee, B. 2003.** Screening of antioxidant activity of three Indian medicinal plants, traditionally used for the management of neurodegenerative diseases. *Journal of Ethnopharmacology*: Vol. 84 (2-3): 131-138.

**Bate-Smith, E. C. 1979.** Astringent tannins of *Cosmos bipinnatus*. *Phytochemistry*: Vol. 19: 982.

**Bentley, J., Nina, S., Pérez, S. 2002.** Conocimiento popular de malezas en Cochabamba. Cochabamba, Bolivia. Universidad Mayor de San Simón. Trabajo para presentar en la reunión plenaria del proyecto PROMMASEL: 1-3.

**Bernaye, E. A., Driver, G. C., Bilgener, M. 1989.** Herbivore and plant tannin. *Advances in Ecological Research*: Vol. 19: 263-302.

**Bohlmann, F., Zdero, C., Bonnet, P.H. 1966.** Polyacetylene compounds. CIX. New polyene ester from *Sanvitalia*. *Chemische Berichte*: Vol. 99 (10): 3194-3196.

**Chhabra, B. R., Jain, M., Bhullar, M. K. 1999.** Isolation and structure elucidation of some pseudoguaianolides from *Parthenium hysterophorus*. *Indian Journal of Chemistry*: Vol. 38B (9): 1090-1092.

**Das, R., Das, B. 1997.** A new pseudoguaianolide from *Parthenium hysterophorus*. *Indian Journal of Heterocyclic Chemistry*: Vol. 7(2): 163-164.

**Dewanto, V., Wu, X., Adom, K., Lui, R. 2002.** Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 50(10): 3010-3014.

**Diagayete, M., Huss, W. 1981.** Tannin contents of African pasture: Effects on analytical data and *in vitro* digestibility. *Animal Research and Development*: Vol. 15: 79-90.

- Donaldson, J. R., Cates, R.G. 2004.** Screening for Anticancer Agents from Sonoran Desert Plants: A Chemical Ecology Approach. *Pharmaceutical Biology*: Vol. 42(7): 478-487.
- Ganzinger, D., Oesterreicher, U., Pailer, M. 1981.** Triterpene esters from *Sanvitalia procumbens* Lam. *Monatshefte fuer Chemie*: Vol. 112 (4): 483-487.
- García, D. E., Medina, M. G. 2005.** Metodología para el estudio de compuestos polifenólicos en especies forrajeras: Un enfoque histórico. *Zootecnia Tropical*: Vol. 23(3): 259-294.
- Gutiérrez, D., Mendoza, S., Serrano, V., Bah, M., Pelz, R., Balderas, P. 2008** Proximate composition, mineral content and antioxidant properties of fourteen Mexican weeds used as fodder. *Weed Biology and Management*: Vol. 8: 291-296.
- Hagerman, A. E. 2002.** <http://www.users.muohio.edu/hagermae/tannin.pdf>, fecha de consulta enero 2009.
- He, H. P., Corke, H. 2003.** Oil and squalene in *Amaranthus* grain and leaf. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 51 (27): 7913-7920.
- Hidalgo, L., Otero, M., 2004.** Taninos condensados en especies forrajeras de clima templado: efectos sobre la productividad de rumiantes afectados por parasitosis gasrtointestinales. Buenos Aires, Argentina. UNICEN
- Julkunen-Tiito R. 1985.** Phenolic constituents in the leaves of Northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 33(2): 213-217.
- Kim, H. K., Kang, B. J., Park, K. J., Ko, B. S., Whang, W. K. 1998.** Anti-herpes simplex virus type 1 (HSV-1) effect of isorhamnetin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside isolated from *Brassica rapa*. *Pharmaceutical Society of Korea*: Vol. 42(6): 607-612.
- Kumar, R., Shing, M. 1984.** Tannins: their adverse role in ruminant nutrition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 32: 447- 453.
- Lock, O., Castillo, P., Doroteo, V., Rojas, R. 2005.** Antioxidant activity in vitro of selected Peruvian medicinal plants. *Acta Horticulturae*: Vol. 1(675): 103-106.
- Makkar, H. P. 1989.** Protein precipitation methods for quantitation of tannins: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 37: 1197- 1202.



- Makkar**, H. P. S., Bluemmel, M., Borowy, N. K., Becker, K. **1993**. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods, *Journal of the Science of Food and Agriculture*: 161- 165.
- Makkar**, H. P. S., Bluemmel, M., Becker, K. **1995**. Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins and their implication in gas production and true digestibility in vitro techniques. *British Journal of Nutrition*: Vol.73: 897- 913.
- Menut**, C., Bessiere J.M., Zollo, P.H.A., Kuate, J.R. **2000**. Aromatic plants of Tropical Central Africa. XXXVII. Volatile components of *Cosmos atrosanguineus* Staff and *Cosmos bipinnatus* Cav. leaves from Cameroon. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*: Vol. 3(2): 65-69.
- Morley**, R. **2005**. [http://www.morley-read.com/flora/flora\\_pics/fabaceae/desmodium\\_molliculum.jpg](http://www.morley-read.com/flora/flora_pics/fabaceae/desmodium_molliculum.jpg), fecha de consulta enero 2009.
- Muer**, T. **2000**. [http://www2.lubw.baden-wuerttemberg.de/public/abt2/dokablage/oac\\_168/typ\\_01/0101457\\_1.jpg](http://www2.lubw.baden-wuerttemberg.de/public/abt2/dokablage/oac_168/typ_01/0101457_1.jpg), fecha de consulta enero 2009.
- Neucere**, N. J., Jacks, T. J., Sumrell, G. **1978**. Interactions of globular protein with simple poliphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 26(1): 214- 216.
- Ortega**, V.S., Ávila, R.J., Almaraz, A.N., Herrera, C.J., Naranjo J. N. **2003**. [http://www.cocyted.gob.mx/Memoriasweb/RECURSOS%20NATURALES%20Y%20MEDIO%20AMBIENTE.htm#\\_Toc73419928](http://www.cocyted.gob.mx/Memoriasweb/RECURSOS%20NATURALES%20Y%20MEDIO%20AMBIENTE.htm#_Toc73419928), fecha de consulta enero 2009.
- Oudhia**, P. **2005**. [http://www.hear.org/pier/images/parthenium\\_hysterophorus\\_ecoport\\_42619.jpg](http://www.hear.org/pier/images/parthenium_hysterophorus_ecoport_42619.jpg), fecha de consulta enero 2009.
- Pérez-Amador**, M. C., García, J. F., Corona, M. C., Márquez, A. **2000**. Terpenes and phototoxic compounds from the inflorescence of *Simsia amplexicaulis* (Cav.) Pers. (Asteraceae). *Phyton*: Vol. 67: 201-204.
- Peterson**, G.L. **1979**. Review of the Folin protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr and Randall. *Analytical biochemistry*: Vol. 100 (2): 201-220.
- Picman**, A.K., Towers, G.H.N. **1982**. Sesquiterpene lactones in various populations of *Parthenium hysterophorus*. *Biochemical Systematics and Ecology*: Vol. 10 (2): 145-153.
- Power**, F.B. Rogerson, H. **1909**. Chemical Examination of *Ipomoea purpurea*, Roth. *American Journal of Pharmacy*: Vol. 80: 251-286.

- Reed, J. D. 1995.** Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal of Animal Science*: Vol. 73: 1516- 1528.
- Reed, J. D., Soller, H., Woodward, A. 1990.** Fodder tree and straw diets for sheep: intake, growth, digestibility, and the effects of phenolics on nitrogen utilization. *Animal Feed Science and technology*: Vol. 30: 39-50.
- Ricco, R. A., Kathrein, F., Lozano, V., Wagner, M. L., Gurni, A. A. 2006.** Condensed tannins from *Ephedra frustillata* Miers (Ephedraceae). *Acta Farmaceutica Bonaerense*: Vol. 25(2): 192-197.
- Ricco, R. A., Vai, V. M., Sena, G. A., Wagner, M. L., Gurni, A. A. 2003.** Condensed tannins from *Ephedra ochreatea* Miers (Ephedraceae). *Acta Farmaceutica Bonaerense*: Vol. 22(1): 33-37.
- Rodríguez, P. A., Cucufate, R. C. 2005.** Formulación y elaboración de una tintura con acción antiséptica cicatrizante a base del extracto del tallo del apio *Apium graveolens*. L. San Salvador, El Salvador. Universidad Nueva San Salvador. Tesis para obtener el título de Licenciado en Química y Farmacia. 11,12.
- Romero, C, E. 2000.** Efecto del pastoreo con ovinos sobre la concentración de taninos condensados en *Gliricida sepium* (Jacq) Walp en el trópico seco. Colima, Col. Universidad de Colima. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias pecuarias. 22, 24, 25, 28, 29,30.
- Saito, K. 1976.** Flavone glycosides in the ray flowers of *Cosmos bipinnatus*. *Planta Medica*: Vol. 30 (4): 349-355.
- Sasaki, K., Takahashi, T., 2002.** A flavonoid from *Brassica rapa* flower as the UV-absorbing nectar guide. *Phytochemistry*: Vol. 61 (3): 339-343.
- Sharma, S.K., Ali, M. 1999.** A new stigmastane derivative from roots of *Malva parviflora*. *Indian Journal of Chemistry*: Vol. 38B (6): 746-748.
- Sodeinde, F. G., Asaolu, V. O., Oladipo, M. A., Akinlade, J. A., Ige, A. O., Amao, S. R., Alalade, J. A. 2007.** Mineral and antinutritional contents of some forage legumes consumed by small ruminants in the derived savanna of Nigeria. *Research Journal of Agronomy*: Vol. 1(1): 30-32.
- Suárez G, Serrano V, Pelz R., Balderas P. 2004.** Atlas de Malezas Arvenses del Estado de Querétaro. Universidad Autónoma de Querétaro, México: 34-35, 48-

49, 70-71, 74-77, 84-85, 90-91, 110-111, 138-139, 158-159, 174-175, 190-191, 204-205.

**Tenorio, L.P. 2000.** <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/tithonia-tubiformis/fichas/pagina1.htm>, fecha de consulta enero 2009.

**Tenorio, L.P. 2000.** <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/brassicaceae/brassica-rapa/imagenes/habito.jpg>, fecha de consulta enero 2009.

**Tenorio, L.P. 2000.** <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/convolvulaceae/ipomoea-purpurea/fichas/pagina1.htm>, fecha de consulta enero 2009.

**Tenorio, L.P. 2000.** <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/malvaceae/malva-parviflora/imagenes/habito.jpg>, fecha de consulta enero 2009.

**Tenorio, L.P. 2000.** <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/poaceae/cynodon-dactylon/imagenes/habito.jpg>, fecha de consulta enero 2009.

**Tenorio, L.P. 2000.** <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/poaceae/sorghum-halepense/imagenes/habito-habitat1.jpg>, fecha de consulta enero 2009.

**Tenorio, L.P. 2001.** [http://www.discoverlife.org/im/I\\_HLV/0003/80/Simsia\\_amplexicaulis,\\_stem,I\\_HLV355.jpg](http://www.discoverlife.org/im/I_HLV/0003/80/Simsia_amplexicaulis,_stem,I_HLV355.jpg), fecha de consulta enero 2009.

**Terrill, T. H., Windham, W. R., Evans, J. J., Hoveland, C. S. 1990.** Condensed tannin concentration in *sericea lespedeza* as influenced by preservation method. Dep. Agron. Univ. Georgia, Athens, GA, USA. Crop Science: Vol. 30 (1): 219-224.

**Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllen, A. B., France, J. 1994.** A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology: Vol. 48: 185-197.

**Uzo, J.O., Okorie, A.U. 1983.** *Amaranthus Hybridus*: a potential grain crop for West Africa. Nutrition Reports International: Vol. 27(3): 519-524.

**Vibrans, H. 1993.** <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/amaranthaceae/amaranthus-hybridus/imagenes/rama.jpg>, fecha de consulta enero 2009.

**Vibrans, H. 1996.** <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/cosmos-bipinnatus/imagenes/flores.jpg>, fecha de consulta enero 2009.

**Vibrans, H. 2005.** <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/home-malezas-mexico.htm>, fecha de consulta enero 2009.

- Vibrans, H. 2006.** [http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/sa\\_nvitalia-procumbens/imagenes/habito.jpg](http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/sa_nvitalia-procumbens/imagenes/habito.jpg), fecha de consulta enero 2009.
- Wang X., Bunkers G.J., Walters M.R., Thomas R.S. 2001.** Purification and Characterization of Three Antifungal Proteins from Cheeseweed (*Malva parviflora*). *Biochemical and Biophysical Research Communications*: Vol. 282: 1224-1228.
- Wilkinson, R. E.; Hardcastle, W. S.; McCormick, C. S. 1986.** Ergot alkaloid contents of *Ipomoea lacunosa*, *I. hederaceae*, *I. trichocarpa*, and *I. purpurea* seed. *Canadian Journal of Plant Science*: Vol. 66: 339-43.
- Yizhong, C. Mei, S. Huaixiang, W. Ronghua H., Corke, H. 1998.** Characterization and quantification of betacyanin pigments from diverse *Amaranthus* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 46 (6): 2063-2070.
- Zheng, W., Wang S.Y. 2001.** Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 49 (11): 5165-5170.