Extracción de quercetina de hortalizas

Marisela Cruz-Ramírez^{a*}, Jennifer Cruz Hernández^b, Raquel Arciga Pedraza^c y Mariela Barron^d.

^{a, b, c y d.} Universidad Tecnológica de San Juan del Río, Querétaro, México.

*E-mail: mcruzr@utsjr.edu.mx

Resumen

En este trabajo se presenta la extracción de quercetina de diversas hortalizas por el método soxhlet. Para la optimización del proceso se trabajaron con diversos solventes y condiciones experimentales. Es importante conocer el derivado de quercetina a obtener lo cual depende del tipo de hortaliza determina, así como el rendimiento de extracción.

Palabras Clave: Quercetina, derivados de quercetina, extracción, purificación y caracterización.

Abstract

In this work, a non-classical methodology is developed for the synthesis of copper coordination complexes, which presents a series of advantages such as being economic, selective and with less contamination. The proposed synthesis is the electrochemical route of 2,2'-bipyridine bis chelate copper coordination compounds.

Key Words: Sacrificial anode, electrosynthesis, gold complexes, voltammetry

Introducción

Reportes de estudios epidemiológicos indican que las dietas ricas en alimentos de origen vegetal traen consigo una disminución en el riesgo a padecer enfermedades no transmisibles; específicamente, en el consumo de las hortalizas debido al contenido de flavonoides presentes en ellas, como la quercetina. Los antioxidantes captadores de radicales libres, como la quercetina, se convierten químicamente en productos de oxidación cuando protegen contra los radicales libres. Sin embargo, el principal producto de oxidación de la quercetina muestra una alta reactividad hacia los tioles, lo que puede conducir a la pérdida de la función proteica (P. Portillo, 2011)

Existen muchas técnicas comúnmente utilizadas para la extracción de quercetina de las plantas, como la extracción con solvente, extracción asistida por ultrasonido, extracción de fluidos supercríticos y extracción asistida por microondas. Los disolventes más adecuados son las mezclas acuosas que contiene etanol, metanol, acetona y acetato de etilo. Entre ellos, el etanol ha sido conocido como un buen y seguro disolvente para extracción de polifenoles y para consumo humano.

La quercetina se clasifica como flavonol, una de las 6 subclases de compuestos flavonoides, corresponde a una aglicona, que carece de un azúcar adjunto. Se caracteriza por un brillante color amarillo cidra y es completamente insoluble en agua fría, poco soluble en agua caliente, pero bastante soluble en alcohol y lípidos. Un glucósido de quercetina se forma uniendo un grupo glucosilo (un azúcar como glucosa, ramnosa o rutinosa) como reemplazo de uno de los grupos OH (comúnmente en la posición 3). El grupo glicosilo unido puede cambiar la solubilidad, la absorción y los efectos in vivo. Como regla general, la presencia de un grupo glucosilo (glucósido de quercetina) aumenta la solubilidad en agua en comparación con la quercetina aglicona. (Vicente-Vicente et al., 2013) Los compuestos comunes de la quercetina se muestran en la Figura 1 (Vicente-Vicente et al., 2013)



Figura 1 Compuestos químicos de la familia de la quercentina. Fuente: elaboración propia

Metodología

Preparación de la materia prima:

Se seleccionaron las cascaras en buen estado y se retiró cualquier impureza con la ayuda de papel; después se procedió a cortar las cáscaras al menor tamaño posible, como se observa en la Figura 1A, esto facilitó el proceso de molienda y la extracción misma. Una vez hecho esto, en un recipiente de aluminio, se colocaron las cáscaras cortadas, se llevó a un horno Mca. Binder, modelo FP53 a una temperatura de 60°C para lograr eliminar cualquier presencia de humedad, sin alterar al producto. Se redujo nuevamente el tamaño de las cáscaras, con ayuda de un mortero con pistilo de porcelana para lograr un tamaño de partícula pequeño que favorezca la extracción. Se colectó la muestra en molienda y se conservó a temperatura ambiente, sellada herméticamente en una bolsa plástica.



Figura 2 Preparación de muestras A) Cortado fino de cebollas previamente colocadas a bajas temperaturas. B) Lavado y escurrido de hojas de eucalipto y rábano. Fuente: elaboración propia

Extracción por Sohhxlet

Para la extracción se pesaron 10 g de muestra vegetal seca y triturada; ambos se colocaron dentro del dedal de extracción, el cual se introdujo en el interior del sifón. Posteriormente, se llevó a cabo el armado del equipo extractor soxhlet, en el que se colocó 150 ml de alcohol etílico en el matraz balón; por último, llevaó a la parrilla eléctrica modelo AR-311 potencia 400 W, a una temperatura de 31°C hasta que se obtuvieron 6 ciclos.

Caracterización de la quercetina y las muestras:

La caracterización realizó con las técnicas de IR, RAMAN, UV-vis y estudios electroquímicos para confirmar las fórmulas y estructuras propuestas.

Espectroscopia de IR:

La caracterización por espectroscopia IR, se realizó en un espectrofotómetro con intervalo de 400-4000 cm⁻¹ en modo de transmisión con la muestra seca y el extracto de cebolla amarilla, morada y el rábano tomando 60 mg de las muestras seca y 2 ml de los extractos. Como todo lo que viene está redactado entre presente y futuro, no se entiende la idea. Favor de redactar en pasado si corresponde a un procedimiento que realizaron o bien en presente si ya es la definición del subtítulo. Para que la estructura del texto ayude a entenderlo, favor de apegarse a la estructura textual de títulos y subtítulos de APA 7

La medición de espectroscopia Raman

Se realiza con un equipo StellarNet Inc Raman, a una longitud de onda del láser de 785 y 532 nm, y una potencia de 4Mw en un intervalo de 795 a 1000 cm^{-1} , en un vital de cuarzo.

Experimentos electroquímicos

Se realizarán estudios electroquímicos del comportamiento electroquímico en solución de los compuestos metal-orgánicos en solventes orgánicos, usando las técnicas de cronoamperometría y voltametria cíclica con un potenciostato-galvanostato PAR 263-A. A partir de estos se calcularán los potenciales redox (E°) y coeficiente de difusión (D).

Ensayo de shinoda

Para el ensayo colorimétrico de shinoda se agregó 2 ml del extracto de hojas de eucalipto dentro de un tubo de ensayo, al cual se le añadió un trozo de cinta de magnesio y tres gotas de ácido clorhídrico concentrado. Posteriormente, se observó el cambio de coloración a naranja o rojo, correspondiente a la presencia positiva de flavonoides en el extracto.

Resultados

Después de la preparación física de las muestras y el secado, se maceraron las muestras, y se procedió a su caracterización fisico-química. En la Figura 3, se muestra los espectros Raman e IR de la materia seca, estas técnicas son complementarias se observan vibraciones polares y no polares, así como vibraciones de compuestos orgánicos e inorgánicos. Se presenta las transiciones vibracionales de estiramiento intensidad variable en Raman generalmente débil a 3500–3200 cm⁻¹, pues se trata de un polímero OH de banda ancha, debido a la formación de puentes de hidrogeno, 2900–2800 cm-1 vibración combinada débil con resonancia de fermi de C-H, a 1621 cm⁻¹ vibración de estiramiento de C=C, 1408 cm⁻¹ vibración de estiramiento C-C, 1050cm⁻¹ vibraciones de estiramiento simétrica fuerte de C-O-C, 1000–700 cm⁻¹ deformación de vibraciones fuera de plano C-H.

Mover Figura 2 a este espacio

Las transiciones identificadas tienen un resultado óptimo ya que cuenta con grupos funcionales característicos de los flavonoides como el grupo alcohol, éter cíclico, alquenos y bencenos. Se muestran los espectros con sus debidas transiciones de las variaciones que se obtuvieron de las distintas hortalizas en la Tabla 1. Después de este párrafo, colocar la Tabla 1.



Figura 3 Espectro electrónico de la cebolla morada. Fuente: elaboración propia

Tabla 1

Vibraciones de las muestras

W.N Cebolla amarilla	W.N Hoja de rabano	W.N Hoja de eucalipto	Transiciones
3,340 cm ⁻¹	3414 cm ⁻¹	3,340 cm ⁻¹	O-H st (poli)
2,929 cm ⁻¹	3156 cm ⁻¹	2,929 cm ⁻¹	C-H st
1,622 cm ⁻¹	1655 cm ⁻¹	1,622 cm ⁻¹	C=C st
1,413 cm ⁻¹	1362 cm ⁻¹	1,413 cm ⁻¹	O-H δ ip
1,256 cm ⁻¹	1099 cm ⁻¹	1,256 cm ⁻¹	ar C-OH

Una vez obtenida la caracterización de las muestras se procedió a la extracción por método soxhlet. Se cambió el disolvente para seleccionar en un futuro el de mayor rendimiento, lo que se muestra en la Tabla 2 a partir de la siguiente ecuación:

%Rendimiento=
$$rac{ extrm{gramos harina seca}}{ extrm{gramos extracciòn}} extrm{x100}$$

Tabla 1

Disolvente	Hortaliza	% Rendimiento
Etanol	Cebolla amarilla	82.68±0.22%
Metanol	Cebolla amarilla	78.9±0.19%
Etanol	Cebolla morada	85.76±0.32%
Metanol	Cebolla morada	81.12±0.27%
Etanol	Rábano	81.93 ±0.16%
Metanol	Rábano	81.93 ±0.31%
Etanol	Eucalipto	81.87%
Metanol	Eucalipto	81.87%

Porcentaje de rendimiento de extracción sohxlet en hortalizas seleccionadas

Para poder analizar el contenido en cada uno de los extractos de quercetina, se realizó una curva de calibración por espectroscopía de ultravioleta visible de la quercetina comercial. Se realizo la curva por triplicado, en los espectros se visualizan dos transiciones, como se muestra en la Figura 3, donde se observa la transición electrónica de la λ_2 en 451nm del tipo $\pi \rightarrow^* \pi$ cuyo resultado es un compuesto cromóforo de color reflejante amarillo.



Figura 4 Espectro UV-vis de la curva de quercetina a diferentes concentraciones. Fuente: elaboración propia

Para la obtención de la concentración de quercetina en las muestras, se preparó una disolución de la extracción de 100uL en 10 mL para poder analizar el contenido de quercetina. Para esto, se usó la ley de de Lambert-Beer:

A=-log₁₀ t = (
$$\epsilon$$
) (b) (c)

Donde ε es coeficiente de extinción molar específica del cromóforo; b, el paso óptico de la celda; c, la concentración, y A, la absorbancia. Se despeja esta fórmula para obtener la concentración presente en cada una de las muestras; con el dato anterior de 100uL en 10mL, se calcula la masa por unidad de volumen presente en cada una de las muestras. En la Tabla 3, se expone la concentración de quercetina presente en cada una de las muestras:

Tabla 3

Concentración calculada en las muestras

Muestra	Concentración
Cebolla amarilla	1.05 g/L
Cebolla morada	5.37 g/L
Rábano	0.413 g/L
Eucalipto	0.428 g/L

Con esta información se procedió a la purificación de cada una de las muestras, según lo reportado en la literatura. En la Tabla 4, se presenta la masa obtenida de la purificación de cada una de las muestras.

Tabla 4

Total de quercetina de cada muestra

Muestra	Masa obtenida
Cebolla amarilla	5.07 g
Cebolla morada	12.15 g
Rábano	1.58 g
Eucalipto	1.52 g

Una vez purificadas las muestras, se procedió a la caracterización de estas: se realizó un comparativo de espectroscopia de Uv-vis, donde se observó que a pesar del proceso de purificación de cada una de las muestras, aún no es adecuado, ya que presenta transiciones diferentes a la del compuesto puro. Tomando en cuenta que esta molécula tiene diversas variantes (solo en energía de transición electrónica), este caso presenta más de una transmisión electrónica; por lo cual podemos deducir que aún no es únicamente quercetina lo que tenemos.



Figura 5 Espectro UV-vis de la curva de quercetina y la quercetina purificada de la cebolla morada. Fuente: elaboración propia

Posteriormente, se realiza un estudio electroquímico de estas especies, en la purificación de la muestra de cebolla morada. La quercetina pura presenta un comportamiento muy capacitivo por lo cual no se observa en las figuras, pero se puede indicar que tiene un solo proceso redox; en otras palabras, es un proceso de oxidación (QH₂) de la quercetina (Q) y presenta un comportamiento Er (electroquímico reversible). Por otro lado, en la purificación de la muestra este proceso no es reversible (I_a/I_c), pues al aumento de velocidad de barrido recupera la reversibilidad pero a velocidades bajas no se observa. Lo anterior se debe a que presenta dos procesos de oxidación extra en comparación a pura. El proceso II_a desaparece con el aumento de la velocidad de barrido, por lo cual podemos pensar que es la señal que está interfiriendo con el proceso redox de la quercetina.



Figura 6 Voltamperograma Cíclico a 1500µl de quercetina purificada de la cebolla con 10ml de electrolito soporte (Buffer pH 7) con diferentes velocidades de barrido. Fuente: elaboración propia

Coclusiones

Para poder indicar el tipo de molécula presente en cada una de las muestras, se requiere más estudios de la molécula. La purificación de las muestras no fue la adecuada, aunque se siguieron los pasos de la literatura aún no es queratina pura y requiere trabajo en este sentido.

Bibliografía

- Álvarez-Rodríguez, L., Cabeza, J. A., García-Álvarez, P. & Polo, D. (2015). Amidinatogermylene Complexes of Copper, Silver, and Gold. Organometallics, 34(22), 5479–5484. https://doi.org/10.1021/acs.organomet.5b00828
- Chapman, M. R., Shafi, Y. M., Kapur, N., Nguyen, B. N. & Willans, C.

E. (2014). Electrochemical flow-reactor for expedient synthesis of copper–N-heterocyclic carbene complexes. *Chemical Communications*. https://doi.org/10.1039/C4CC08874C

- Curtis, N. F. & Curtis, Y. M. (1965). Some Nitrato-Amine Nickel(II) Compounds with Monodentate and Bidentate Nitrate Ions. *Inorganic Chemistry*, 4(6), 804–809. https://doi.org/10.1021/ic50028a007
- Del Río, R., Basaure, D., Schrebler, R., Gómez, H. & Córdova, R. (2002). Anodic electrosynthesis of a thin film of Cu2S on a gold electrode. A voltammetric, nanoelectrogravimetric, and I/t transient study. *Journal of Physical Chemistry B*, 106(49), 12684–12692. https://doi.org/10.1021/jp026485g
- Gou, Y., Qi, J., Ajayi, J., Zhang, Y., Zhou, Z., Wu, X., Yang, F. & Liang, H. (2015). Developing anti-cancer copper (II) pro-drugs based on the nature of cancer cells and human serum albumin carrier IIA subdomain Developing anti-cancer copper (II) pro-drugs based on the nature of cancer cells and human serum albumin carrier IIA subdoma (Issue li). https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.5b00314
- Horn, E. J., Rosen, B. R. & Baran, P. S. (2016). Synthetic Organic Electrochemistry: An Enabling and Innately Sustainable Method. https://doi.org/10.1021/acscentsci.6b00091
- Kachadourian, R., Brechbuhl, H. M., Ruiz-azuara, L., Gracia-mora, I. & Day, B. J. (2010). Casiopeina Ilgly-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in human lung cancer A549 and H157 cells. 268, 176–183. https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.12.010
- Khuntia, D. & Mehta, M. (2004). Motexafin gadolinium: A clinical review of a novel radioenhancer for brain tumors. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 4(6), 981–989. https://doi.org/10.1586/14737140.4.6.981
- Labisbal, E., Garcia-Vazquez, J. A., Romero, J., Picos, S. & Sousa, A. (1995). *Electrochemical synthesis and structural molecular structure of the five-coordinated c .' AwoHHo . c. 14*(5). cotejar si está correcta y cambiarlo a minúsculas
- Lever a.b.p. (1984). Inorganic Electronic Spectroscopy (Segunda). Elsevier Inc.
- Majumdar, A., Chakraborty, S. & Sarkar, M. (2014). Modulation of Non Steroidal Anti-In fl ammatory Drug Induced Membrane Fusion by Copper Coordination of These Drugs : Anchoring E ff ect.está incompleta
- Mereshchenko, A. S., Pal, S. K., Karabaeva, K. E., El-Khoury, P. Z., & Tarnovsky, A. N. (2012). Photochemistry of monochloro complexes of copper(II) in methanol probed by ultrafast transient absorption spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry A*, *116*(11), 2791–2799. https://doi.org/10.1021/jp208532u
- Puente, C. & López, I. (2018). Direct electrochemical synthesis of metal complexes. In *Direct Synthesis of Metal Complexes*. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811061-4.00003-7

- Trejo-solı, F. C.C., Rodrı, E., Corte E., Cedillo-pela, C., Æ, Æ. I. G. Æ. L. R., & Constantino-casas, V. M. Æ. F. (2008). Casiopeina III-ia induces apoptosis in HCT-15 cells in vitro through caspasedependent mechanisms and has antitumor effect in vivo. 17–28. https://doi.org/10.1007/s10534-007-9089-4
- Tuck, D. G. & Tuck, D. G. (2018). Pure & AppZ. Chem., 2005–2018. Direct electrochemical synthesis of inorganic and organometallic compounds. https://doi.org/10.1351/pac197951102005.