

## IV

### EXTRACCIÓN DE QUINONAS

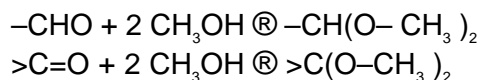
Los productos elaborados por los animales y los vegetales son complejos naturales y, para la extracción de sus componentes, deben ser secados y disgregados antes de ser sometidos a procesos de extracción general no selectivos.

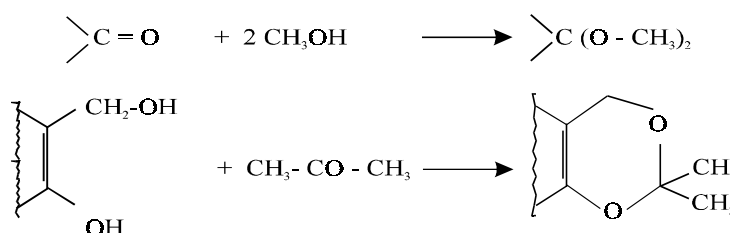
Las quinonas se pueden extraer empleando solventes orgánicos volátiles, con soluciones alcalinas diluidas, con agua sola o por destilación en corriente de vapor de agua. El extracto obtenido contendrá los compuestos que sean solubles en el solvente empleado.

#### 4.01 EXTRACCIÓN CON SOLVENTES

Las benzoquinonas y naftoquinonas no hidroxiladas se extraen por medio de solventes orgánicos volátiles como el éter de petróleo y el benceno. El extracto crudo obtenido es concentrado y el residuo crudo "goma cruda" puede ser sometido a procedimientos de separación de sus componentes, por cristalización fraccionada en solventes, por cromatografía en columna o capa, gruesa; o mediante un tratamiento químico selectivo en condiciones especiales.

Debe tenerse presente cuando el compuesto quinónico tiene grupos aldehído  $-\text{CHO}$ , cetónico  $>\text{C}=\text{O}$ , o hidroximetilén  $-\text{CH}_2\text{OH}$  en *orto* al grupo  $-\text{OH}$  fenólico, y se emplea metanol o acetona como solventes, estos grupos durante la extracción pueden reaccionar y dar acetales, cetales o dimetilcetales.





La elección del solvente más apropiado para un proceso de extracción, depende de la naturaleza y composición de la muestra-problema.

Las benzoquinonas y naftoquinonas también pueden ser separadas por destilación en corriente de vapor de agua.

Las orto-quinonas y antraquinonas no son volátiles en corriente de vapor de agua.

#### 4.02 EXTRACCIÓN CON SOLUCIONES ALCALINAS

Las soluciones alcalinas diluidas, son solventes químicamente activos que se utilizan generalmente para la extracción de quinonas de naturaleza ácida.

La fuerza ácida de las quinonas hidroxiladas depende de, la posición y el número de los grupos -OH fenólicos; y en algunos casos del grupo carboxilo -COOH.

Las quinonas a-hidroxiladas son ácidos débiles, solubles en las soluciones al 5% de hidróxido de sodio, e insolubles en las soluciones al 5% de bicarbonato de sodio y de carbonato de sodio.

El comportamiento de la solubilidad de las quinonas en las soluciones alcalinas diluidas permite obtener una información de tipo cualitativo importante.

Si las quinonas a-hidroxiladas son tratadas con bases fuertes como el hidróxido de sodio, se oxidan y degradan en presencia de aire.

Las quinonas b-hidroxiladas son ácidos más fuertes que las quinonas a-hidroxiladas. Son solubles en las soluciones acuosas de bicarbonato de sodio y de carbonato de sodio.

La extracción de antronas y antranoles, con bicarbonato de sodio se realiza en atmósfera inerte para evitar su oxidación y transformación en antraquinonas, diantronas o poliantronas.

### 4.03 CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA

La cromatografía en columna es una técnica de separación basada en el establecimiento de un equilibrio, por adsorción entre un sólido como fase estacionaria y un líquido, como fase móvil.

La columna cromatográfica que contiene el adsorbente puede ser de vidrio o de nilón.

La columna de nilón permite dividir los cromatogramas por corte en tantas fracciones como bandas coloreadas o fluorescentes sean observadas bajo luz ultravioleta. Cada fracción es separada y sometida a una extracción con metanol para recuperar el compuesto extraído.

El éxito para la separación cromatográfica de los componentes de una mezcla, dependerá del solvente o del sistema de solventes mezclados en la proporción correcta, del empaquetado de la columna, del adsorbente, de la altura y diámetro de la columna; las columnas muy cortas no dan una buena resolución. Para la columna la relación de diámetro–altura que recomendamos, es de 0.64:10.

#### 4.03.1 ADSORBENTES

Los adsorbentes más empleados son: gel de sílice, ácido silícico malla 100, óxido de aluminio (alumina), óxido de magnesio calcinado, carbonato de magnesio–Hiflo Supercel, poliamidas simples y acetiladas, policaprolactama, celulosa en polvo, resinas cambiadoras de iones, geles de sephadex, etc.

La cantidad de adsorbente a emplearse es de veinte partes de adsorbente por una parte de “goma cruda” a ser cromatografiada.

La preparación de la columna cromatográfica se inicia introduciendo en la parte inferior un tapón de lana de vidrio, el cual se cubre con una capa de arena blanca y a continuación se añade el solvente hasta la mitad de la columna.

En un erlenmeyer que contenga el solvente inicial, se dispersa el adsorbente, lo cual se vierte en la columna poco a poco, regulando la llave de salida para que el volumen de solvente que sale sea proporcional al que entra con el adsorbente. Se deja en reposo y se añade arena blanca para formar una capa.

La “goma cruda” se disuelve en la menor cantidad de un solvente volátil, luego se agrega ácido silícico malla 100 hasta formar una pasta fluida, la que se deja secar al aire. Esta mezcla se coloca en la cabeza de la columna y se inicia la elusión.

#### 4.03.2 SOLVENTES

La elección de los solventes para la cromatografía es un factor importante. Empleando mezcla de solventes con polaridad diferente se puede obtener una buena resolución para la separación de los componentes de la mezcla.

A continuación se da una relación de solventes ordenados en polaridad creciente:

Éter de petróleo, hexano®benceno, tetracloruro de carbono, cloroforno, éter etílico, acetato de etilo, acetona, isopropanol, metanol  
® agua ® piridina ® ácidos orgánicos ® ácidos y álcalis inorgánicos.  
Sistemas de solventes que pueden emplearse:

¶I

- A) Benceno, benceno–cloroformo 1:1, cloroformo, cloroformo–metanol 99:1, cloroformo–metanol 97:3, metanol.
- B) Benceno, benceno–acetato de etilo 19:1, benceno–acetato de etilo 18:2, metanol.
- C) Benceno, benceno–acetato de etilo 95:5, acetato de etilo, metanol.
- D) Benceno, benceno–acetato de etilo 95:5, acetato de etilo–ácido acético 99:1.

#### 4.03.3 ELUSIÓN

La elusión se inicia con un solvente de baja polaridad, como el benceno. Si el benceno no separa bien la mancha, se ensaya una mezcla de solventes que contenga uno que desplace bien la mancha y otro que no la mueva.

Cada fracción recolectada es destilada a presión reducida. Del residuo se toma una parte alícuota para determinar su comportamiento cromatográfico en capa delgada analítica y evaluar el desarrollo de la elusión. Si la fracción contiene una mezcla, debe ser recromatografiada. Si sólo presenta una mancha, la solución se destila a presión reducida y el residuo se recristaliza en metanol y registra sus espectros.

Ejemplo:

Extracto crudo seco “goma cruda”	100 g
Adsorbente: ácido silícico malla 100	2000 g
Sistema de solventes	A

<b>Solventes</b>	<b>Fracción de 2 lt c/u</b>
Benceno	1 a 25
Benceno–cloroformo 1:1	26 a 50
Cloroformo	51 a 75
Cloroformo–metanol 99:1	76 a 100
Cloroformo–metanol 97:3	101 a 102
Metanol	103

#### 4.04 CROMATOGRAFÍA EN CAPA GRUESA PREPARATIVA

La cromatografía en capa gruesa se emplea para separaciones más rápidas de 0,5 g o menos de muestra.

Se utilizan placas de vidrio de 20 x 20, 20 x 40, o de 20 x 50 cm de

lado.

Para cubrir dos placas de 20 x 20 cm se requiere de 20 g de gel de sílice Merck PF 254 + 366 y 75 mL de agua que se mezclan en un matraz durante cuarenta segundos.

La dispersión se vierte en forma uniforme sobre las placas. Se deja secar a la temperatura del ambiente y después a 110°C. Enfriar.

#### Aplicación de la muestra:

La muestra es solubilizada en un solvente volátil, a continuación con una pipeta preparativa o un capilar la solución se aplica con cuidado a  $\pm 15$  mm del extremo del borde inferior de la placa y de un extremo a otro como raya. Se deja evaporar el solvente en corriente de aire.

La placa se coloca en la cámara cromatográfica cuyas paredes deben estar cubiertas con papel de filtro empapado con el solvente que contiene la cámara. La superficie del solvente no debe tocar la línea de la placa que contiene el problema. Se tapa la cámara y deja para su desarrollo. Terminada la elusión, se saca la placa de la cámara y se deja secar. La placa se examina con una lámpara de luz ultravioleta corta de 254 nm o larga de 366 nm, para ver si contiene compuestos detectables bajo luz UV.

Las manchas visualizadas se señalan con una espátula, raspan, recogen y se extraen con un solvente volátil. Se evapora el solvente, recristaliza si es necesario; toma su punto de fusión, y se registran sus espectros UV, IR, RMN y EM.

#### 4.04.1 CROMATOGRAFÍA EN CAPA DELGADA ANALÍTICA

La cromatografía en capa delgada analítica se emplea para fines analíticos cualitativos. Se utilizan láminas de vidrio porta-objetos de 75 x 25 mm o placas cuadradas de 20 x 20 cm.

Para cubrir 120 láminas de vidrio de 75 x 25 mm se requiere de 50 g de gel de sílice Merck HF-254 y 150 mL de agua los cuales se mezclan en un matraz durante cuarenta segundos. La dispersión se vierte en forma uniforme sobre las láminas que están acondicionadas en una plantilla de plástico. Se deja secar a temperatura

ambiente y después a 110°C durante sesenta minutos. Dejar enfriar.

Aplicación de la muestra:

La muestra se solubiliza en un solvente volátil y con un capilar la solución se aplica a  $\pm 15$  mm del extremo del borde inferior de la lámina. Se deja evaporar el solvente en corriente de aire. A continuación la lámina se coloca en la cámara que contiene el solvente. Concluida la elusión se saca la lámina de la cámara y se deja secar.

Para localizar las manchas se emplea luz ultravioleta. Las manchas también pueden ser localizadas por carbonización por rociado de ácido sulfúrico concentrado y calor. Las sustancias separadas se hacen visibles como manchas negras.

#### **4.05 TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN, AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN**

Los compuestos producidos por los seres vivos se encuentran formando parte de un complejo natural organizado que contiene una variedad de productos entre ellos los pigmentos quinónicos, con estructuras y propiedades diversas.

Para la obtención de las benzoquinonas, naftoquinonas y antraquinonas, se requiere que la muestra materia de estudio sea sometida a un proceso de técnicas de extracción, aislamiento y purificación, para concluir con su caracterización.

##### **4.05.1 BENZOQUINONAS**

Las benzoquinonas se extraen con hexano en caliente o por medio de una destilación en corriente de vapor de agua.

Si la quinona tiene grupos -OH fenólicos libres, se puede emplear solventes orgánicos próticos volátiles, o realizar una percolación con una solución al 5% de carbonato de sodio; y precipitar la quinona, por acidulación.

**Procedimiento:**

De 4 a 5 kg de muestra seca y triturada se somete a extracción con hexano en un soxhlet hasta su agotamiento. El extracto hexánico se destila a presión reducida en un evaporador de tipo rotatorio; y el concentrado se deja en refrigeración durante 48 horas. Si hay formación de un precipitado cristalino, éste es separado y recristalizado en acetato de etilo-hexano. Se toma su punto de fusión y registra sus espectros UV, IR, RMN y EM.

El concentrado se vuelve a dejar en el frío, y si no hay formación de cristales, se lleva a seco. El residuo se solubiliza con cloroformo, luego se mezcla con gel de sílice desactivado o con ácido silícico malla 100 y se deja secar. La mezcla seca se coloca en la cabeza de una columna cromatográfica preparada con 1000 gr. de gel de sílice en benceno. Se eluye con el sistema de solventes (A).

**4.05.2 NAFTOQUINONAS**

Las naftoquinonas que no tengan un alto grado de hidroxilación, son extraídas con benceno en caliente.

**Procedimiento-1:**

2 kg de la raíz seca y triturada de una especie del género *Plumbago*, se extrae con benceno en un soxhlet hasta su agotamiento. El extracto bencénico se somete a destilación a presión reducida; y el concentrado se deja en refrigeración. Si hay formación de un precipitado cristalino, éste es separado y recristalizado en alcohol. Se toma el punto de fusión de los cristales y registra sus espectros UV, IR, RMN y EM.

El concentrado se lleva a seco y se cromatografía en una columna preparada con gel de sílice. Para la elusión se puede emplear el sistema de solventes (A) o (C).

**Procedimiento-2:**

Dos kg de púas y caparazones de erizos de mar son tratados con una solución acuosa 5N de ácido clorhídrico durante 24 horas; a continuación se filtra y la solución ácida se extrae con éter etílico.

Se separa el extracto etéreo al cual se añade una solución de bicarbonato de sodio en cantidad suficiente; se mezcla bien y se deja en reposo. Se toma la fase acuosa, acidula con ácido clorhídrico y luego se sacude con éter etílico en atmósfera de nitrógeno. Se separa la fase etérea que es desecada con sulfato de sodio anhidro. El extracto etéreo seco se pasa por una columna empacada con gel de sílice, para la separación de los pigmentos naftoquinónicos (1).

#### 4.05.3 ANTRAQUINONAS

Para la extracción de las antraquinonas se emplea metanol o acetona caliente. Si las antraquinonas están al estado de glicósidos, la extracción se realiza, en caliente, con agua o con soluciones alcalinas.

##### Procedimiento -1:

La muestra seca y triturada se extrae con metanol en un soxhlet hasta agotamiento. El extracto metanólico se somete a destilación a presión reducida; y el concentrado se deja en refrigeración durante 48 horas. Si hay formación de cristales, éstos son separados y recristalizados en metanol. El residuo que no forma materia cristalizada se trata varias veces con agua y la fase insoluble es separada y sometida a extracción en un soxhlet primero con éter y luego con metanol.

Al extracto etéreo se añade una solución 2N de carbonato de sodio, se sacude y deja en reposo. Se toma la fase acuosa y acidula con una solución 2N de ácido clorhídrico. El precipitado es separado, lavado y secado; es la "fracción soluble en carbonato de sodio".

La fase etérea se trata con una solución 2N de hidróxido de sodio, en atmósfera de nitrógeno y deja en reposo. Se toma la fase acuosa y acidula con una solución 2N de ácido clorhídrico. El precipitado es separado, lavado y secado; es la "fracción soluble en hidróxido de sodio".

La fase etérea que contiene la fracción insoluble en alcalí, se seca con sulfato de sodio, deja en reposo, filtra y se evapora el solvente; es la "fracción insoluble en alcalí".

La "fracción soluble en carbonato de sodio" se pasa por una columna empacada con gel de sílice, luego se eluye con benceno-acetato de etilo 95:5.

La "fracción soluble en hidróxido de sodio" es cromatografiada sobre gel de sílice y se eluye con benceno.

La "fracción insoluble en álcali" se cromatografía por una columna empacada con gel de sílice, eluyéndose en forma sucesiva con éter de petróleo, éter de petróleo-benceno, benceno y benceno-acetato de etilo.

#### Procedimiento-2:

La muestra seca y triturada se extrae con etanol en un soxhlet hasta su agotamiento. El extracto etanólico se destila a presión reducida.

Al residuo se añade acetato de etilo y se mezcla con gel de sílice en suficiente cantidad, a continuación se deja secar. El producto seco se percola en forma sucesiva con éter de petróleo, benceno y cloroformo, dando tres extractos.

Con los extractos se realiza una evaluación cromatográfica en capa delgada cualitativa para determinar si contienen productos de interés.

Los extractos obtenidos con éter de petróleo y benceno son cromatografiados en una columna empacada con gel de sílice y se eluyen con los sistemas de solventes (B) y (D) respectivamente.

Al extracto clorofórmico se añade una solución 2N de carbonato de sodio, se sacude y deja en reposo. Se toma la fase acuosa y acidula con ácido clorhídrico; y el precipitado que se forma es separado y recristalizado en acetato de etilo. Se toma su punto de fusión y se registra sus espectros UV, IR, RMN y EM.

#### Procedimiento-3:

300 gr. de talos secos y triturados del liquen *Teloschistes flavicans* (Sw) Norm se extraen con acetona(2) en un soxhlet hasta su agotamiento. Si el extracto acetónico al enfriar forma un precipitado cristalizado, éste es separado y recristalizado en acetato de etilo-

metanol y acetona–metanol. Los cristales son sometidos a un ensayo de comportamiento cromatográfico en capa fina, se toma su punto de fusión y registra sus espectros UV, IR, RMN y EM.

El concentrado del cual fueron separados los cristales se lleva a seco y luego se pasa por una columna empacada con gel de sílice y se eluye en forma sucesiva con los solventes: benceno, benceno–acetona 9:1, benceno–acetona 1:1 y acetona acidulada con ácido acético.

#### Procedimiento- 4:

100 gr. del insecto *Dactylopius coccus* Costa “cochinilla” seco y triturado es sometido a ebullición con 1000 mL de agua destilada durante 15 minutos(3). Se deja en reposo, decanta el líquido y filtra. Al extracto se añade una solución de acetato de plomo, deja en reposo y decanta el líquido. El remanente se filtra y lava.

El complejo obtenido se deja expuesto al ambiente hasta que se cubra de una pelusa blanquecina.

El complejo se trata con una solución de metanol–ácido sulfúrico y se deja en reposo 48 horas. Se filtra y la solución metanólica se concentra a un volumen aproximado de 100 mL.

El concentrado se deja en un ambiente seco hasta la formación de cristales de color rojo brillante de ácido carmínico.

## 4.06 EXTRACTORES

Para la extracción de sólidos se dispone a nivel de laboratorio de aparatos simples para la extracción continua, que utilizan una mínima cantidad de solvente con el máximo de rendimiento en la extracción y la recuperación del solvente.

El extractor clásico de este tipo es el aparato de Soxhlet que consta de tres partes: el matraz, la cámara de extracción y el refrigerante de reflujo.

La cámara de extracción en su parte inferior tiene un tubo estrecho doblado en U que funciona como sifón. En la cámara de extracción se introduce la sustancia–problema, dentro de un cartucho de papel de filtro o en una bolsita de tela tupida.

El solvente se añade a la cámara de extracción en cantidad suficiente para que funcione el sifón, y cuando el líquido ha terminado

de trasegar, se añade más solvente hasta cubrir las  $\frac{2}{3}$  partes de la cámara de extracción. Se pasa agua por el refrigerante y se empieza a calentar el matraz hasta que la extracción esté agotada, es decir, que el líquido pase incoloro por el tubo-sifón.

121

Extractor de Soxhlet

- Extractor de Soxhlet
- A) Extractor mediano de vidrio
  - B) Micro extractor
  - C) Extractor mediano de acero inoxidable

Extractores

### Extractor tipo Soxhlet

- |                                   |                               |
|-----------------------------------|-------------------------------|
| 8. Vidrios—observación            | 1. Evaporador                 |
| 9. Entrada de solvente            | 2. Cámara de calefacción      |
| 10. Condensador de tubos          | 3. Nivel                      |
| 11. Entrada—agua de enfriamiento  | 4. Llave de purga—extracto    |
| 11a. Salida—agua de enfriamiento  | 4a. Llave—solvente recuperado |
| 12. Enfriador—solvente recuperado | 5. Cámara de extracción       |
| 13. Salida de gases               | 6. Cestos                     |
| 14. Soportes.                     | 7. Sifón                      |

Destilador para extracción  
en corriente de vapor

Evaporador rotatorio

Decantadores y filtración al vacío

Desecadores

## REFERENCIAS

1. FARINA, F. y HEILMLICH, W. **1969**: Anal de Química (**julio-agosto**), 713-715.
2. GIBAJA OVIEDO, S., y MONTES, R. 1979: Bol. Soc. Quim. Perú. **Vol. XLV, Jun. Nº 2**, 102-106
3. GIBAJA OVIEDO, S., y TERRY, D. 1984: Bol. Soc. Quim. Perú. **Vol. 1, Mar. Nº.1**, 83-87.