

<https://doi.org/10.47300/actasidi-unicyt-2022-06>

IDENTIFICACIÓN PARCIAL DE SULFORAFANO EN MUESTRAS DE TALLO E INFLORESCENCIA DE *BRASSICA OLERACEA* VAR. ITALICA

Pérez Hernández, Sandra Jazmín

Tecnológico de Estudios Superiores de Chimalhuacán
Estado de México, México
2017152029@teschi.edu.mx
ORCID: 0000-0001-6399-9550

Márquez Ortega, Ángel Eduardo

Tecnológico de Estudios Superiores de Chimalhuacán
Estado de México, México
angelmarquez@teschi.edu.mx
ORCID: 0000-0001-8932-7859

RESUMEN

La *Brassica oleracea* var. *Italica* posee un compuesto bioactivo denominado Sulforafano, el cual actúa ante la gastritis, úlcera gástrica y cáncer de estómago. Actualmente este componente reduce el tamaño del tumor actuando como un activador del factor de transcripción Nrf2, el cual proporciona un efecto preventivo contra el estrés oxidativo, siendo este la principal causa del cáncer de estómago. El presente trabajo está enfocado en realizar el proceso de extracción del Sulforafano del tallo y la inflorescencia de *B. oleracea* a través del deshidratado y la lixiviación de la materia vegetal con solventes. Obtenida la fracción del extracto se prosiguió a la identificación de la sustancia mediante espectrofotometría UV-Visible en un barrido de longitud de onda en un rango de 190-300 nm, debido a que el Sulforafano muestra una detección a la longitud de onda de 202 nm. Los resultados mostraron que la concentración del extracto en inflorescencia fue 28 mg y en tallo de 80.3 mg en 10 g de muestra vegetal seca, por lo que en el tallo se encuentra una mayor concentración de extracto aprovechable. Por otra parte, al realizar la espectrofotometría UV-Vis, el barrido de 190-300 nm del extracto en una dilución 1:100 en metanol al 5% mostró un pico a los 202 nm, el cual correspondería al Sulforafano presente en el tallo y la inflorescencia de *B. oleracea*.

Palabras clave: Sulforafano, *Brassica oleracea*, extracción, Identificación parcial.

ABSTRACT

Brassica oleracea var. *Italica* has a bioactive compound called Sulforaphane, which acts against gastritis, gastric ulcer, and stomach cancer. Currently this component reduces the size of the tumor by acting as an activator of the transcription factor Nrf2, which provides a preventive effect against oxidative stress, this being the main cause of stomach cancer. The present work is focused on conducting the extraction process of Sulforaphane from the stem and inflorescence of *B. oleracea* through dehydration and leaching of plant matter with solvents. Once the fraction of the extract was obtained, the identification of the substance was continued by means of UV-Visible spectrophotometry in a wavelength scan in a range of 190-300 nm, because Sulforaphane shows a detection at a wavelength of 202 nm. The results showed that the concentration of the

extract in the inflorescence was 28 mg and, in the stem, it was 80.3 mg in 10 g of dry plant sample, so that a higher concentration of usable extract is found in the stem. On the other hand, when performing UV-Vis spectrophotometry, the 190-300 nm scan of the extract at a 1:100 dilution in 5% methanol showed a peak at 202 nm, which would correspond to Sulforaphane present in the stem and the inflorescence of *B. oleracea*.

Keywords: Sulforaphane, *Brassica oleracea*, extraction, Partial identification.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, México es el quinto país con más biodiversidad vegetal, ya que existe un estimado de 30 mil especies, lo cual se traduce en la capacidad de biosintetizar cerca de 15 mil productos naturales con alguna acción farmacológica, siendo el 50% de productos naturales utilizados como fármacos para la salud humana (López-Suárez, 2022). Por lo anterior, existen diversas variedades de *Brassica oleracea* (Brócoli) siendo la más estudiada la variedad Italica, debido a sus propiedades antioxidantes en términos del poder reductor y capacidad de eliminar radicales libres, destacando su importancia medicinal y terapéutica (García-Ruiz, 2021). *B. oleracea* var Italica pertenece a las magnoliophytas (plantas con flores), la cual es considerada benéfica para la salud por su contenido de compuestos antioxidantes, vitaminas, minerales, selenio y glucosinolatos (Díaz, 2018; Mahn y Reyes, 2012); esta planta posee diversos compuestos biológicamente activos como los glucosinolatos precursores de los isotiocianatos, donde el Sulforafano sobresale por demostrar prevención a enfermedades como la gastritis y ulcera gástrica por su propiedad antimicrobiana, antioxidante, anticancerígena y bacteriológica comprobadas *in vitro* e *in vivo* (Saha et al., 2012; Lenzi et al., 2007).

Los glucosinolatos son localizados en las vacuolas de la célula vegetal, donde son hidrolizados al mezclarse con la enzima mirosinasa dando como resultado sulfúranos, nitrilos, tiocianatos e isotiocianatos, liberando moléculas de glucosa, bisulfato y aglicona (1-Isotiocianato-4-(metilsulfenil) butano); esta última sufre modificaciones estructurales para formar la glucorafanina de la cual se deriva el sulforafano, molécula poco soluble en agua, muy reactiva y potencial efectivo para inhibir el crecimiento de *Helicobacter pylori*. (Rincon-Pérez, 2014; Navas-Nájera, 2004; Falka et al., 2004). El sulforafano como compuesto bioactivo es afectado por el procesamiento de la planta *B. oleracea* var Italica, ya que el escaldado, la cocción, la congelación y deshidratación han reportado pérdidas del 30% al 72% de los glucosinolatos totales (Cieslik et al., 2007).

Actualmente, la bacteria *Helicobacter pylori* ha sido tratada mediante antibióticos, pero ha desarrollado resistencia bacteriana, aun con nuevas opciones de tratamiento comprometiendo de forma negativa la erradicación de la infección y con ello, se pueda producir un grave problema en el tratamiento de los trastornos asociados a la infección por el patógeno en un corto plazo (Organización Mundial de la Salud, [OMS], 2017). Por lo anterior, el sulforafano ha demostrado tener un efecto de antibiosis selectiva hacia la *H. pylori*, ya que ensayos *in vitro* ha sido capaz de matar cepas naturales y resistentes (Conzatti et al., 2015). Un estudio en el 2009 reveló que ratones alimentados diariamente con brotes de *B. oleracea* durante dos meses ayudó a reducir hasta un 40% los niveles de *H. pylori* en sus heces (Fahey et al., 2002; Jed W. Fahey, 2002), así mismo, en estudios anteriores se comprobó que el sulforafano tiene un efecto antibiótico, porque ratones infectados llegaron a eliminar a *Helicobacter pylori* (Yanaka et al., 2009)

Por lo anterior, el estudio está enfocado al aislamiento e identificación de Sulforafano de *B. oleracea* por su posible alto potencial medicinal para la eliminación de la bacteria *H. pylori*, causante de enfermedades gastrointestinales en adolescentes, jóvenes y adultos, y con ello, evitar y/o erradicar en un futuro las complicaciones internas generadas como la gastritis, úlceras gástricas o cáncer de estómago entre otras. Además, la búsqueda de nuevos productos naturales bioactivos como agentes antimicrobianos que sean de utilidad en el bienestar y la salud de las personas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Los reactivos químicos utilizados fueron hexano (J.T. Baker), diclorometano (J.T. Baker), ácido cítrico monohidratado (Meyer), silica gel anhidra (Sigma). Las soluciones fueron preparadas con agua desionizada. Los materiales de vidrio fueron lavados con agua corriente y después enjuagados con agua desionizada antes de su utilización. La materia vegetal de *Brassica oleracea* se adquirió en la Central de Abastos del municipio de Chicoloapan en el Estado de México.

Obtención de la materia vegetal seca

La materia vegetal de *Brassica oleracea* var *Italica* fresca fue separada en inflorescencia y el tallo, después fueron cortadas en pequeños trozos y sumergidas en una solución de ácido cítrico al 0.5%. En dos charolas recubiertas de papel absorbente por separado fueron colocados 200 g de inflorescencia y 200 g de tallo, llevándolas a un espacio fresco con corriente de aire y sin sol directo para su deshidratación por 5 días para luego ser pesadas. Una vez secas las muestras fueron pulverizadas en una trituradora (72703, Hamilton Beach) y almacenadas en frascos ámbar para su posterior utilización.

Obtención del extracto de *Brassica oleracea*

La extracción fue realizada en la inflorescencia y el tallo por separado mediante un tren de tratamiento en dos etapas. La primera etapa, consistió en colocar 10 g de *B. oleracea* seca y pulverizada en un cartucho filtro, al mismo tiempo en un matraz de 500 mL de fondo plano fueron adicionados 250 mL de hexano para la lixiviación de la muestra en un equipo Soxhlet con una duración de 8 ciclos. Luego, la materia agotada con hexano se secó durante 24 horas a temperatura ambiente para tratarla con 250 mL de diclorometano en el Soxhlet durante 8 ciclos. Posteriormente, los extractos de hexano y diclorometano fueron concentrados a temperatura de 69°C y 40°C respectivamente en un rotavapor BUCHI modelo RII. Finalmente, los extractos concentrados se almacenaron en frasco ámbar de vidrio para evitar su degradación u oxidación (Navas-Nájera, 2004; Garcia Pujol et al., 2020).

Rendimiento en peso fresco, seco y extracto de *B. oleracea*

La prueba fue realizada por triplicado pesando 100 g de *B. oleracea*, para separar el tallo de la inflorescencia y nuevamente pesar la materia vegetal fresca (Muños Cajiao & Sanchez Barcia, 2018). Por otra parte, las muestras conseguidas en el rendimiento en peso fresco de la inflorescencia y el tallo fueron deshidratadas durante 5 días a temperatura ambiente y corriente de aire en un lugar fresco libre de rayos solares adicionando ácido cítrico para evitar su oxidación. Pasado el tiempo, la muestra se colocó en un desecador y posteriormente fue pesado hasta obtener su peso constante, la prueba fue realizada por triplicado. A continuación, se muestran las fórmulas utilizadas para el rendimiento peso fresco y seco.

$$\% \text{rendimiento fresco} = \frac{\text{Peso inflorescencia o tallo fresco}}{\text{Peso materia prima}} * 100 \quad (1)$$

$$\% \text{rendimiento seco} = \frac{\text{Peso inflorescencia o tallo seco}}{\text{Peso materia prima}} * 100 \quad (2)$$

El rendimiento del extracto se llevó a cabo mediante la extracción con solventes con la inflorescencia y el tallo. Realizada la extracción, los frascos ámbar utilizados fueron colocados en una estufa a 30°C hasta alcanzar peso constante con mediciones cada 15 minutos.

Finalmente, los extractos de tallo e inflorescencia fueron colocados en los frascos ámbar a peso constante para después dejar evaporar el solvente a temperatura ambiente y llegar a obtener un residuo sólido que posteriormente fue pesado y así calcular la diferencia de peso con la siguiente fórmula:

$$\% \text{rendimiento extracto} = \frac{\text{Extracto Obtenido (grs)}}{\text{Muestra Vegetal seca utilizada (grs)}} * 100 \quad (3)$$

Para el cálculo del rendimiento del extracto se tomó en cuenta el valor nominal de 10 g de la materia vegetal (tallo o inflorescencia).

Determinación de longitud de onda del extracto

El extracto de *B. oleracea* fue fraccionado a través de cromatografía en columna donde el relleno de la columna fue sílica gel anhidra y el eluyente metanol al 5%, colectando cada hora las muestras. Las fracciones se emplearon para identificar la longitud de onda del compuesto activo del Sulforafano (202 nm) mediante un espectrofotómetro UV-G10SUV-VIS; estas muestras fueron diluidas 1:100 con metanol para luego realizar una gráfica de barrido de longitud de onda en un intervalo de 190-300 nm, tomando como control el eluyente de metanol al 5%.

Cálculos estadísticos

La estadística de los datos fue realizada mediante el cálculo de la media y la desviación estándar promedio como medida de dispersión a través del programa PSPP.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados en *Brassica oleracea*, estiman que solo se aprovecha la inflorescencia que constituyen alrededor del 30% de su peso total, por lo tanto, el 70% de la planta son residuos que lo conforman los tallos y las hojas verdes, con posibilidad de ser utilizadas para beneficio de diversas industrias farmacéuticas o alimentarias, así mismo, el 40.32% de la materia vegetal corresponde a la inflorescencia, mientras que el 59.67% es tallo y hojas de *B. oleracea*, concordando con lo citado, ya que reportan que solo el 30% es inflorescencia y el 70% corresponde a tallo y hojas (Dominguez Perles, 2010).

Por otra parte, la humedad relativa es mayor en el tallo con 13.21%, mientras la inflorescencia muestra un 11.24%, esto podría expresar que el tallo presenta mayor concentración de Sulforafano con respecto a la inflorescencia (Pérez Hernández et al., 2021). Además, en la Tabla 1, se muestra que el tallo presenta mayor rendimiento en la materia fresca y la seca (81 y 61%) con respecto a la inflorescencia (19 y 9%).

Tabla 1.

Datos de del rendimiento en Peso Fresco y seco de la Inflorescencia y Tallo a partir de la *B. oleracea*

Indicadores	Peso Fresco (100 g)			Peso Seco (100g)		
	Prom (%)	Desv. STD	Rendimiento	Prom (%)	Desv. STD	Rendimiento
Tallo	81	3.77	81.00	62	4.22	61.66
inflorescencia	19	3.77	19.00	9	0.88	9.33
Total	100	0.00	233.33	71	4.66	71.00

Rendimiento de las muestras del extracto de Inflorescencia y Tallo

Los rendimientos para el extracto del tallo y la inflorescencia fueron 28 mg y 80.3 mg, respectivamente, estos resultados a partir de 10 g de muestra vegetal seca, que se emplearon

para la extracción, de acuerdo a lo citado por algunos autores, los cuales reportan un intervalo de 45-246 mg por cada 100g de muestra de inflorescencia en peso seco (Navas-Nájera, 2004; Verdugo Almeida, 2021), por lo que al compararlos con el rendimiento de la muestra realizada se puede mencionar que entra dentro del rango proporcionado por los autores en cuestión de la inflorescencia.

Cromatografía de columna (Eluyente Metanol)

La identificación por medio de la cromatografía en columna del Sulforafano mostró la recuperación de las fracciones del extracto del tallo y la inflorescencia. Las fracciones colectadas fueron corridas en el barrido en el espectro UV-Vis en un rango de 190-300nm, donde se muestra en las fracciones diluidas 1:100 un pico máximo a 202 nm como se muestra en la Figura 1 y 2, inflorescencia y tallo, respectivamente. Este pico máximo correspondería al Sulforafano, ya que autores muestran que el compuesto activo antes mencionado tiene un máximo en la longitud de onda de 202 nm (Campas Baypoli et al., 2009).

Figura 1

Barrido de la Inflorescencia de la B. oleracea

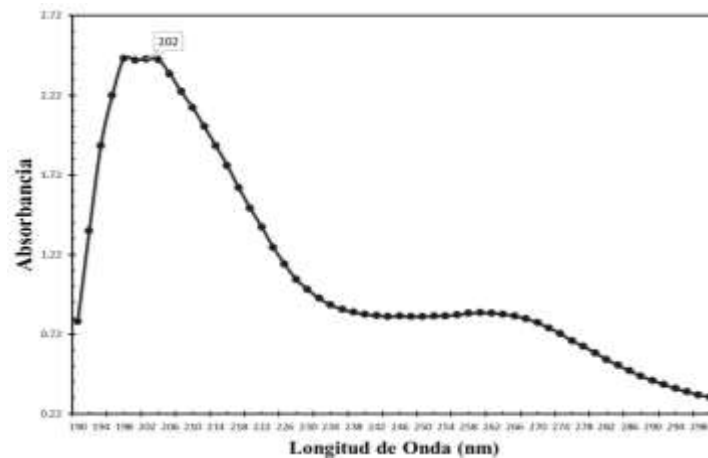
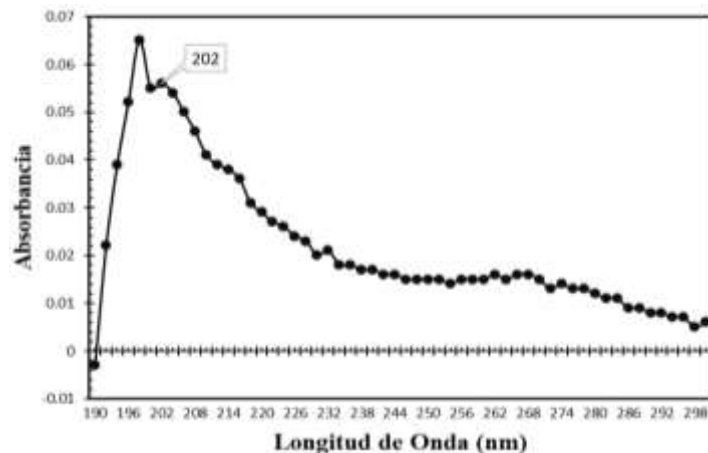


Figura 2

Barrido del Tallo de la B. oleracea



4. CONCLUSIONES

La deshidratación solar de la materia vegetal es factible, mientras que la extracción con solventes obtiene el extracto de *B. oleracea* con presencia de sulforafano, El rendimiento en fresco y seco es favorable en el tallo con respecto a la inflorescencia, mientras que el rendimiento del extracto es mayor en la inflorescencia con cerca de 80 mg, el cual se encuentra dentro del rango propuesto algunos autores siendo de 45-246 mg en la inflorescencia. Finalmente, el barrido de 190-300 nm, realizado en el espectro UV-Vis, demuestra un pico de 202 nm que corresponde a la presencia de Sulforafano dentro de la muestra de inflorescencia y tallo extraída de *B. oleracea*, por lo que el método de extracción por solventes es factible en la obtención del compuesto activo.

REFERENCIAS

- Campas Baypoli, O. N., Bueno Solano, C., Martínez Ibarra, D. M., Camacho Gil, F., Villa Lerma, A. G., Rodríguez Núñez, J. R., . . . Sancier Machado, D. I. (2009). Contenido de sulforafano (1-isotiocianato-4-(metilsulfinil)-butano) en vegetales crucíferos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 59(1), 95-100.
- Cieslik, E., Leszczynska, T., Filipiak-Florkiewicz, A., Sikora, E., & Pisulewski. (2007). "Effects of some technological processes on glucosinolate contents in cruciferous vegetables". *Food Chemistry*, 976-981.
- Conzatti, A., Telles da Silva, F. C., Schweigert Perry, I. D., & Guerini de Souza, C. (2015). Clinical and molecular evidence of the Clinical and molecular evidence of the sulforaphane in humans. *Nutrición Hospitalaria*, 559-569.
- Díaz, C. (26 de Agosto de 2018). La Lección del brócoli en la lucha contra el cancer, investigadores de la Universidad de Sevilla logran sintetizar y mejorar compuestos con propiedades anticancerígenas presentes en este vegetal. . *Málaga*.
- Dominguez Perles, R. (2010). Broccoli Derivated by products a promising source of bioactive ingredients. *Journal Food Science*, 75(4), 382-392.
- Fahey, J. W., Xavier, H., Dolan, P. M., Kensler, T. W., Scholtus, I., & Stephenson, K. K. (2002). Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of *Helicobacter pylori* and prevents bezon(a)pyrene-induced stomach tumors. *PNAS*, 7610-7615.
- Falka, K., Vogela, C., Textora, S., Bartrama, S., Hickb, A., Pickettb, J., & Gerhenzon, J. (2004). Glucosinolate biosynthesis: demonstration and characterization of the condensing enzyme of the chain elongation cycle in *Eruca sativa*. *Phytochemistry*, 1073-1084.
- García Pujol, A., Tarmago, B., Salas, E., Calzadilla, C., Acevedo, R., & Sierra, G. (2020). Tamizaje Fitoquímico de extractos obtenidos de la planta *Sapindus saponaria* L que crece en Cuba. *Revista bionatura*, 5(3), 1209-1214.
- García-Ruiz, C. (Julio de 2021). Tesis: Métodos in vitro para caracterizar la biodisponibilidad de componentes fenólicos en especies vegetales comestibles. Andalucía, España: Universidad de Jaén.
- Jed W. Fahey, X. H. (2002). Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of *Helicobacter pylori* and prevents benzo[a]pyrene-induced stomach tumors. *PNAS-MEDICAL SCIENCES*, 7610-7615.
- Lenzi, M., Fimodnari, C., & Hrelia, P. (2007). Sulforafane as a promising molecule for fighting cancer. *National Library of Medicine*, 90-104.
- López-Suárez, P. (21 de Abri de 2022). *Gaceta UNAM*. Obtenido de <https://www.gaceta.unam.mx/mexico-tiene-potencial-para-explotar-hasta-125-millones-de-productos-naturales/>
- Mahn, A., & Reyes, A. (2012). Una descripción general de los compuestos del brócoli que promueven la salud (*Brassica oleracea* var. *Italica*) y el efecto del procesamiento.

- Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. *Internacional de Ciencia y Tecnología de los alimentos*, 513-514.
- Mazataud, E. (2021). El Sulforafano, los secretos del principal principio activo del brócoli. *Medicina Naturista*, 84-88.
- Muños Cajiao, C., & Sanchez Barcia, R. R. (2018). *Aplicacion de las operaciones unitarias de lixiviacion y destilacion en la obtencion del sustrato con la finalidad de cuantificar el poder antioxidante de la albahaca (Ocimum basilicum L.)*. Ecuador: Grupo Compas.
- Navas-Nájera, R. P. (2004). Tesis. Cuantificación de sulforafano procedente de glucorafanina en retoños de Brassica oleracea var Italica por cromatografía líquida de alta resolución. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Organización Mundial de la Salud, [OMS]. (20 de Septiembre de 2017). *Un informe de la OMS confirma que el mundo se está quedando sin antibióticos*. Obtenido de <https://www.who.int/es/news-room/detail/20-09-2017-the-world-is-running-out-of-antibiotics-who-report-confirms>
- Pérez Hernández, S. J., Márquez Ortega, Á. E., & González González, N. J. (02 de Mayo de 2021). Extracción de Sulforafano a partir de la Brassica oleracea Var. Italica. *Innovaciones en ciencia, tecnología y educación (ICTE) UNAM*, 5(5), 116-125.
- Rincon-Pérez, A. (2014). Biosíntesis de los glucosinolatos e importancia nutricional humana y funciones de protección a las plantas. *Alimentos Hoy "Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos"*, 64-80.
- Rocha. (2012). *Sulforafano*. Obtenido de Calameo: <https://es.calameo.com/read/00175220282589c12c4f0>
- Saha, S., Hollands, W., Teucher, B., Needs, P. W., Narbad, A., Ortori, C. A., . . . Kroon, P. A. (2012). Isothiocyanate concentrations and interconversion of sulforaphane and erucin in human subjects after consumption of commercial frozen broccoli compared to fresh broccoli. *Molecular Nutrition and Food Research*, 1906-1916.
- Verdugo Almeida, E. J. (2021). Tesis: Sulforafano: Estructura y Propiedades. Valladolid, España: Universidad de Valladolid.
- Yanaka, A., Fahey, J. W., Fukumoto, A., Nakayama, M., Inoue, S., Zhang, S., . . . Yamamoto, M. (2009). Dietary Sulforaphane-Rich Broccoli Sprouts Reduce Colonization and Attenuate Gastritis in Helicobacter pylori-Infected Mice and Humans. *Cancer Prevention Research*, 353-360.

i

ⁱ Los autores del trabajo autorizan a la Universidad Internacional de Ciencia y Tecnología (UNICYT) a publicar este resumen en extenso en las Actas del Congreso IDI-UNICYT 2022 en Acceso Abierto (Open Access) en formato digital (PDF) e integrarlos en diversas plataformas online bajo la licencia CC: Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International (CC BY-NC-SA 4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>.

La Universidad Internacional de Ciencia y Tecnología y los miembros del Comité Organizador del Congreso IDI-UNICYT 2022 no son responsables del contenido ni de las implicaciones de lo expresado en este artículo.