

# Purificación de curcumina por cromatografía en columna. Propuesta para la enseñanza experimental en química orgánica

Aguilera Martínez Luis Erasmo, Arellano Martínez Luis Antonio, Penieres Carrillo José Guillermo, García Estrada José Guadalupe, Ortega Jiménez Fernando\*

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Sección de Química Orgánica, Avenida 1 de mayo s/n, Colonia Santa María Guadalupe Las Torres, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, C. P. 54740, México.

\*Autor para correspondencia: fdo.ortega@unam.mx

## Recibido:

15/junio/2017

## Aceptado:

6/septiembre/2017

## Palabras clave

Curcumina, cromatografía, enseñanza

## Keywords

Curcumin, chromatography, teaching

## RESUMEN

Este trabajo describe una propuesta para el mejoramiento de la enseñanza experimental en un laboratorio de química orgánica para la carrera de ingeniería química que se imparte en la FES-Cuautitlán UNAM, por medio de la purificación de curcumina utilizando cromatografía en columna. Los resultados muestran que el protocolo presentado es una excelente alternativa que permite mejorar la enseñanza experimental de la química orgánica a través de un experimento sencillo y con el cual se puede demostrar un principio teórico aplicando diferentes técnicas previamente aprendidas.

## ABSTRACT

This paper describes a proposal for the improvement of experimental teaching in an organic chemistry laboratory for the chemical engineering career that is taught at FES-Cuautitlán UNAM, through the purification of curcumin using column chromatography. The results show that the presented protocol is an excellent alternative that allows to improve the experimental teaching of organic chemistry through a simple experiment and with which a theoretical principle can be demonstrated applying different previously learned techniques.

## Introducción

Uno de los sectores industriales de crecimiento más rápido en una economía desarrollada es la industria química y, dentro de ésta, destaca la industria química orgánica, en la que la característica más llamativa es su gran diversidad (Tejedor, 2017). Esta diversidad se debe a varios aspectos, entre los que destacan el tipo y finalidad de sus productos, la capacidad de producción, la extensa variedad de estructuras químicas que se sintetizan industrialmente y a los procesos de síntesis desarrollados para generar dichas estructuras químicas (Wittcoff y Reuben, 2002).

En la actualidad, la química orgánica en general experimenta un desarrollo creciente al compás de los nuevos descubrimientos científicos y tecnológicos en el área, su importancia recae en muchos compuestos orgánicos, que sin duda alguna constituyen una de las bases de la economía de un país.

En el Plan de Estudios de la Carrera de Ingeniera Química que se imparte en la FES Cuautitlán-UNAM se presenta la asignatura de Química Orgánica I (Ingeniería Química., 2016), entre las actividades de la asignatura se encuentra una sesión de laboratorio, dicha sesión tiene como objetivo desarrollar habilidades en la identificación de propiedades fisicoquímicas y métodos tanto de separación como de purificación en compuestos orgánicos y dada la importancia que ha venido experimentado esta área de la química, resulta muy significativo proporcionar a los estudiantes de esta carrera, las bases de los conocimientos que les permitan vincular la parte teórica con la práctica, además de equiparlos con las habilidades, destrezas y herramientas experimentales que les permitan entender y aplicar estos conocimientos para su formación profesional.

Dada la importancia que tiene la química orgánica, su estudio en los laboratorios de enseñanza es fundamental, ya que con ello se ilustran de una manera más didáctica los principios teóricos a través de, tanto de la síntesis de diferentes compuestos, de su reactividad, así como del uso de las diferentes técnicas que se utilizan para la separación, purificación y caracterización de los mismos; de igual manera, esta enseñanza experimental es pieza clave para que el alumno de licenciatura desarrolle destrezas dentro de un laboratorio de química orgánica, que le permitan entender y aplicar los conocimientos de esta área de la química.

Dado lo anterior y con la finalidad de proporcionar a los estudiantes de Ingeniera química un material didáctico adecuado para el estudio de la sesión experimental vinculada a la química orgánica En este trabajo se presenta un protocolo sobre el aislamiento y purificación de la curcumina (Anderson, *et al.*, 2000) como una propuesta para el mejoramiento de la enseñanza experimental en química orgánica. Esta práctica tiene como meta que el alumno aplique integralmente los conocimientos adquiridos durante el curso de laboratorio de Química Orgánica I, por lo que se propone llevarla a cabo en la última sesión del curso.

En esta experiencia se harán uso de algunas de las técnicas aprendidas como lo es la extracción, la identificación de los componentes extraídos mediante cromatografía en capa fina y la purificación del componente principal utilizando cromatografía en columna. Quedando implícitos en la metodología general de esta práctica, procedimientos como la destilación simple para la eliminación del disolvente.

## Presentación del protocolo de práctica

### Objetivos

- 1) Aislar los pigmentos de la *Cúrcuma longa* utilizando la técnica de extracción con diclorometano a temperatura ambiente asistida por ultrasonido.
- 2) Emplear la técnica de cromatografía en capa fina para observar los componentes de los extractos obtenidos.
- 3) Llevar a cabo la separación de la curcumina mediante cromatografía en columna.

### Temas a revisar

- a) Propiedades físicas, químicas y toxicológicas de la curcumina.
- b) Métodos de extracción de productos naturales. Extracción con solventes orgánicos. Extracción con ultrasonido, características, ventajas y desventajas.
- c) Cromatografía en capa fina y en columna.
- d) Selección de los eluyentes para la separación de compuestos por cromatografía en columna.

## Metodología

### Material

Extracción		Destilación	
Matraz Erlenmeyer de 125 mL	3	Matraz de bola de fondo plano de 100 mL	1
Matraz Erlenmeyer de 50 mL	2	Matraz de bola de 100 mL	1
Vaso de precipitados de 250 mL	1	T de destilación	1
Probeta graduada de 100 mL	1	Refrigerante para agua con mangueras	1
Vidrio de reloj	1	Tapón de vidrio	1
Embudo de vidrio	1	Colector	1
Matraz kitazato de 250 mL	1	Pinzas de tres dedos con nuez	4
Embudo Büchner con alargadera	1	Barra magnética	1
Manguera para vacío	1	Recipiente de peltre	1
Espátula	1		
Varilla de vidrio	1		
Cromatografía			
Placas para cromatografía (portaobjetos)	8	Pipeta graduada de 10 mL	1
Matraces Erlenmeyer de 25 mL o tubos de ensaye de 15 mL	10	Pipeta graduada de 1 mL	1
Gradilla	1	Capilares	5
Frasco para cromatografía con tapa	1	Columna de cromatografía	1
Pro-pipeta	1	Pipeta pasteur	1

### Equipo

Baño de ultrasonido	1	Parrilla con agitación	1
Lámpara de luz UV con gabinete	1	Rotavapor (opcional)	1
Balanza	1		

### Sustancias

Diclorometano	300 mL	Metanol	20 mL
Sílice malla 70-230	15 gr	Acetato de etilo	100 mL
Sílice para ccf	35 gr	Cúrcuma en polvo	2 gr
Sulfato de sodio anhidro	10 gr	Cúrcuma (raíces)	20 gr

### Material diverso

Papel filtro del número 2	Frascos para residuos de 250 mL	8
Fibra de vidrio	Mechero Bunsen	
Cromatofolios de sílice (opcional)	Cúter	

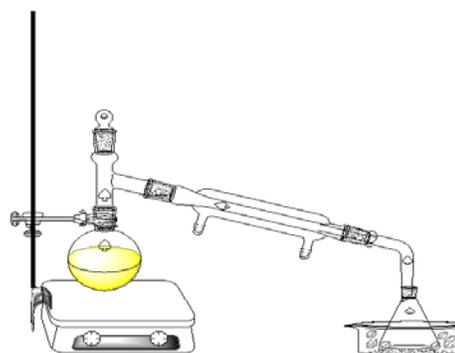
## Extracción

Se colocó 1 g de harina de cúrcuma en un matraz Erlenmeyer de 125 mL y se adicionaron 50 mL de diclorometano. Se sujeto el matraz de tal manera que quede inmerso en un baño de ultrasonido el cual fue previamente llenado con agua (Figura 1). Después se sometió la mezcla de extracción a sonicación durante 30 minutos. Una vez transcurrido este tiempo, se adicionó la cantidad necesaria de sulfato de sodio anhidro para eliminar el agua remanente que haya sido extraída de la harina de cúrcuma y se filtró por gravedad. Se enjuagó el matraz con un poco de diclorometano (5 a 8 mL). Se recuperó el filtrado, y se tomó 1 mL de esta solución, luego se puso en un vial y se utilizó para cromatografía en capa fina.



**Figura 1.** Equipo de ultrasonido.

Posteriormente se transfirió el resto del filtrado a un matraz de bola de 100 mL, y dentro de él una barra magnética. El montaje del equipo de destilación (Figura 2) simple se utilizó para eliminar en su totalidad el diclorometano. Nota. Se puede utilizar un rotavapor.



**Figura 2.** Montaje del equipo para realizar una destilación simple.

### Cromatografía en capa fina

Se utilizó el extracto obtenido y se aplicó la muestra en la cromatoplaqueta. Se eluyó con una mezcla diclorometano-metanol (97:3) (Figura 3).

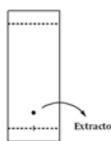


Figura 3. Diagrama para la aplicación del extracto.

Se reveló la cromatopla con luz ultravioleta. Se anotaron las observaciones y se interpretaron las cromatoplas obtenidas.

Se observó el numero de componentes coloridos que tuvo el extracto. Se calculo el Rf de cada una de las señales en forma de manchas en la cromatopla.

**Observaciones:**

1) Para preparar las cromatoplas se introdujeron dos portaobjetos juntos, limpios y secos, en una suspensión de gel de sílice al 35% en AcOEt. Para mayor facilidad se pueden usar cromatofolios comerciales.

2) Para aplicar las soluciones a las cromatoplas se utilizaron capilares, que previamente debieron ser estirados en la flama del mechero con el fin de que tengan el diámetro adecuado (Figura 4a).

3) Se Introdujo la placa en la camara para ccf y se eleuyo como se indico previmante (Figura 4b)

3) Se revelaron las placas utilizando una lampara de luz ultravioleta. Precaución, nunca mire directamente la luz ultravioleta, ésta puede causar daños severos a los ojos. Una vez revelada la placa (Figura 4c), se marcó ligeramente con un lápiz el contorno de las manchas para mejor ubicación de las mismas.

4) Para mayor claridad de los resultados, se incluyeron en la bitacora los dibujos de las cromatoplas de todos los experimentos de esta práctica.



Preparación de tubos capilares



b) Frasco-cámara para ccf



Revelado de placas utilizando lámpara de UV

Figura 4. Cromatografía en capa fina.

**Purificación de la curcumina por cromatografía en columna**

Se introdujo un pedazo de algodón en la columna ayudándose de la varilla de vidrio. Por otra parte, se prepararon 200 mL de una mezcla de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Metanol en una relación v/v 99:1, con 10 mL de esta mezcla empapando el algodón y procurando que no queden burbujas de aire (Nota 1). También se preparo gel de sílice (15 gr de sílice y 50 mL de la mezcla CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH) y se empacó la columna (Figura 5), (Nota 2).

Por otro lado, se re-disuvió el extracto obtenido con la mínima cantidad del eluyente y se aplicó uniformemente sobre la fase estacionaria. Se abrió la llave para coleccionar el disolvente y permitir que se adsorbiera la muestra aplicada. Se eluya la muestra con la mezcla que se preparó cuidando que la columna no se seque.

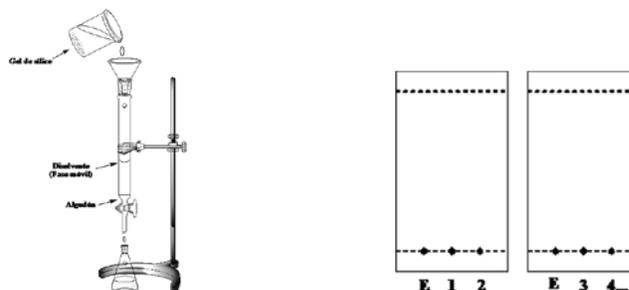


Figura 5. Montaje de columna de gel de sílice y seguimiento de la columna por ccf. E: Extracto como referencia.

Se colectaron fracciones de 8-10 mL en los frascos viales y se verifico la separación de la muestra siguiéndola por cromatografía en capa fina utilizando una mezcla diclorometano-metanol (97:3) (Figura 5). Se Juntaron las fracciones que contenían el componente colorido menos polar y se removió el disolvente mediante una destilación simple (Figura 2, Nota 3). Se peso la cantidad de compuesto obtenido el cual corresponde a la curcumina pura (Nota 4). Se Calculó el porcentaje de curcumina contenida en la cúrcuma, y se comparó este porcentaje en relación al método de extracción empleado.

**Notas:**

- 1) Se mantuvo cerrada la llave de la columna.
- 2) Una vez que se empacó la columna, se dejo el nivel del disolvente 0.5 cm por encima de la fase estacionaria recién empacada y se recuperó la mezcla de eluyente para re-utilizarla en el desarrollo de la cromatografía.

- 3) En este procedimiento, se cercioró de coleccionar el diclorometano en un baño de hielo y cuando se eliminó en su totalidad el disolvente fue retirado inmediatamente en el matraz bola de la fuente de calentamiento para evitar descomposición del producto aislado.
- 4) Para mayor facilidad, se pesó el matraz bola vacío antes de vaciar las fracciones que contienen la curcumina pura y al terminar la destilación, se volvió a pesar este matraz. Se determinó el peso del compuesto aislado por diferencia de peso.

### Manejo de residuos

Los residuos generados durante el desarrollo de esta práctica se separaron en frascos contenedores siguiendo la tabla 1 que a continuación se describe.

**Tabla 1.** Residuos de la práctica Purificación de curcumina por cromatografía en columna.

Residuos	
R1: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	R5: Sílice para columna
R2: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -MeOH	R6: Sulfato de sodio húmedo
R3: Capilares	R7: Papel filtro
R4: Sílice para ccf	R8: Cúrcuma impregnada de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>

**R1 y R2:** Se guardaron para su recuperación por destilación.

**R3, R4, R7 y R8:** Se empacó cuidadosamente para su incineración.

**R5:** Se lavó para su reutilización.

**R6:** Se secó y se empacó para incineración. Si está limpio se puede reutilizar.

### Resultados y discusión

#### Resultados obtenidos al desarrollar el protocolo de práctica

A continuación se describen los resultados al realizar el experimento. En primera instancia se llevó a cabo la extracción, en un matraz erlenmeyer de 125 mL se pesaron 0.5 g de harina de cúrcuma y se adicionaron 50 mL de diclorometano como disolvente, posteriormente el matraz se colocó en un baño de ultrasonido durante 30 minutos (Figura 1). La figura 6 muestra el antes y el después de la extracción.



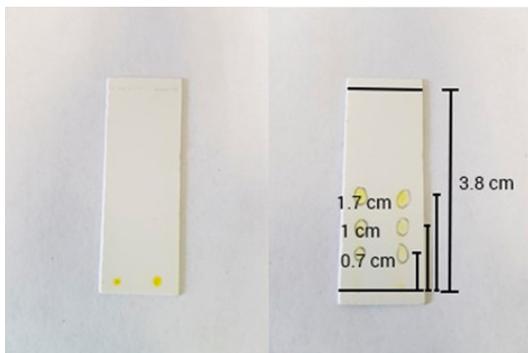
**Figura 6.** Izquierda sistema previo al ultrasonido, derecha sistema después de la sonicación.

Una vez hecho esto, se realizó una filtración por gravedad para eliminar el remanente de la harina de raíz de cúrcuma (Figura 7).



**Figura 7.** Filtración del extracto.

De acuerdo a la metodología planteado en el protocolo antes descrito, se aisló 1 mL del filtrado con el cual se realizó una cromatografía en capa fina utilizando un eluyente diclorometano-metanol (97:3), los resultados se encuentran descritos en la figura 8.



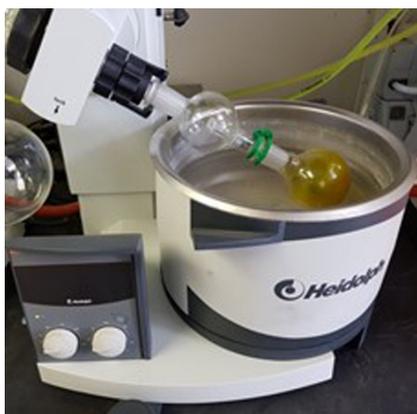
**Figura 8.** Izquierda placa cromatográfica con el extracto aplicado en dos puntos. Derecha placa después de la elución con la mezcla de disolventes.

Como se puede observar en la placa de la derecha, se observa la presencia de tres componentes en el extracto a los cuales se les determinó el R.f., en la tabla 2 se ilustran los resultados.

**Tabla 2.** Resultados de Rf según el componente, obtenidos por medio de una cromatografía en capa fina del extracto de cúrcuma.

Componente	Rf
Curcúmina	0.45
Demetoxicurcumina	0.26
Bis-demetoxicurcumina	0.18

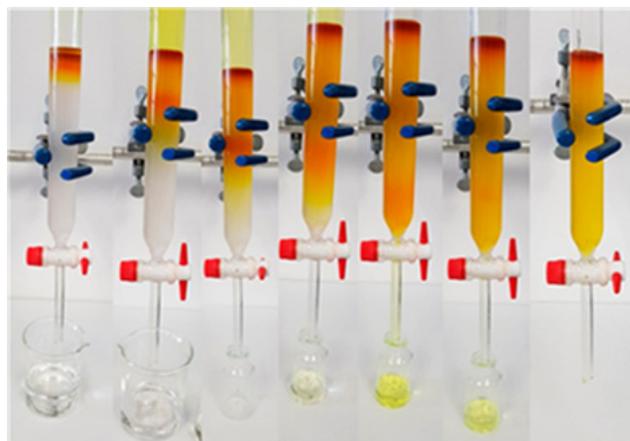
Posterior a esto, se tomó el extracto restante se eliminó el disolvente utilizando un rotavapor a 60°C (Figura 9).



**Figura 9.** Eliminación del disolvente en el extracto por medio de destilación en rotavapor.

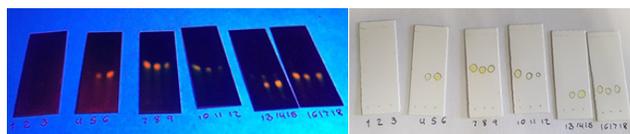
Una vez eliminado todo el disolvente del extracto, se montó una columna cromatográfica de acuerdo a las especificaciones descritas en la metodología del protocolo.

Con la mínima cantidad de eluyente se aplica el extracto en la columna, y se comienza a realizar la cromatografía en columna como se muestra en la figura 10.



**Figura 10.** Proceso de la cromatografía en columna, izquierda inicio, derecha final.

Después de realizar dicha cromatografía se obtuvieron 18 viales con aproximadamente 10 mL de muestra, con la finalidad de establecer la separación de los componentes, se realizó cromatografía en capa fina a cada una de las muestras obtenidas, estos datos se pueden observar en la figura 11.



**Figura 11.** Cromatografía en capa fina de las 18 muestras obtenidas de la cromatografía en columna.

De acuerdo a estos resultados se juntaron de la muestra 4 a la 12 en un matraz de bola y se procedió a eliminar el disolvente utilizando un rotavapor; el mismo procedimiento se hizo para las muestras 14-18. Los resultados de esta parte del experimento se resumen en la tabla 3.

**Tabla 3.** Resultados obtenidos de la cromatografía en columna.

Compuesto	Peso obtenido (g)
Curcúmina	0.0908
Curcuminoides	0.0860

Finalmente, se determinaron los porcentajes de curcúmina y curcuminoides presentes en la harina de la raíz de cúrcuma (Tabla 4) en relación a la cantidad utilizada de harina de cúrcuma.

**Tabla 4.** Porcentajes de los compuestos en la raíz de cúrcuma.

Compuesto	Porcentaje (%)
Curcúmina	18.16
Curcuminoides	17.2

## Conclusiones

Se logró aislar los pigmentos de la cúrcuma utilizando la técnica de extracción con diclorometano a temperatura ambiente asistida por ultrasonido.

Se utilizó con éxito la técnica de cromatografía en capa fina para observar los componentes del extracto obtenido.

Fue posible llevar a cabo la separación de la curcúmina y curcuminoides mediante cromatografía en columna.

Se encontró que la purificación de curcúmina por cromatografía en columna puede ser considerada como una práctica de laboratorio para la mejora de la enseñanza experimental en la química orgánica.

Con estos resultados obtenidos, la práctica "Purificación de curcúmina por cromatografía en columna", logrará incluirse como una práctica experimental en Química Orgánica I en la última sesión del curso.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a los proyectos DGAPA-UNAM PAPIIME PE206117 y FESC-PIAPI1618 por el apoyo económico para realizar este trabajo.

## Referencias

Anderson. A. M., Mitchell. M. S., Mohan. R. S. (2000). Isolation of Curcumin from Turmeric. *J. Chem. Educ.* 77: 359-360.

Ávila Zárraga G. y colaboradores, (2001). Química Orgánica, Experimentos con un Enfoque Ecológico. 1ª Ed. UNAM, México.

Ingeniería Química. (2016). Recuperado el 7 de junio de 2017 de: [http://www.cuautitlan.unam.mx/licenciaturas/ing\\_quimica/plan\\_estudios.html](http://www.cuautitlan.unam.mx/licenciaturas/ing_quimica/plan_estudios.html).

Jiménez. A., Beltrán. G., Uceda. M. Ultrasonic extraction of plant materials—investigation of hemicelulose release from buckwheat hulls. (2003). *Ultrasonics Sonochem.* 10: 127-133.

Mason. T.J., Paniwnky. L., Lorimer. J.P. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochem.*, 3: S253-S260.

Rasmussen. H. B., Christensen. S. B., Kvist. L. P., Karazmi. A. (2000). A simple and efficient separation of the curcumins, the antiprotozoal constituents of *Curcuma longa*. *Planta Med.* 6: 396-398.

Tejedor Sanz, A. (2017). Materias primas: reservas, suministro de energía y productos básicos de la Industria Química Orgánica. Recuperado el 7 de junio de 2017, de: <http://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-01.php>.

Wittcoff H.A., Reuben B.G. (2002). Productos químicos orgánicos industriales. Tecnología, formulaciones y usos, Vol 2. 7ª Ed. Limusa p. 522.