

Técnicas avanzadas para la concentración de antioxidantes naturales

Raquel Mur, Juan I. Pardo, José F. Martínez, José S. Urieta, Ana M. Mainar

Grupo GATHERS

Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón (I3A)

Universidad de Zaragoza, Mariano Esquillor s/n, 50018, Zaragoza, Spain.

Tel. +34-976761195, e-mail: ammainar@unizar.es

Resumen

En este trabajo se aborda la concentración de antioxidantes de interés mediante procesos avanzados y sostenibles que emplean CO₂ supercrítico, así como el estudio, en primera aproximación, de un modelo QSAR que permita en un futuro preseleccionar compuestos de interés para estos procesos.

Introducción

En los últimos años la industria química se ha centrado en desarrollar procesos alternativos que supongan un menor impacto en el medioambiente para la obtención de compuestos bioactivos, tales como antioxidantes, debido a su interés en las industrias farmacéutica, alimentaria y cosmética [1]. Dentro de estos procesos generan gran interés aquellos basados en el uso de fluidos a presión, especialmente los que emplean dióxido de carbono supercrítico (sc-CO₂). Gracias a sus propiedades pueden realizarse eficazmente procesos de separación, extracción, fraccionamiento, síntesis o precipitación generando productos de alto interés a partir de recursos naturales [2,3]. Junto con estos procesos, también se están desarrollando nuevas propuestas QSAR que permiten racionalizar y optimizar los estudios experimentales.

Métodos

Se ha llevado a cabo una secuenciación de dos técnicas avanzadas de separación basadas en el uso de sc-CO₂ para la obtención de compuestos antioxidantes a partir de extractos de *Salvia officinalis* y *Calendula officinalis*. En una primera etapa, el material vegetal fue molido y tamizado y posteriormente fue desengrasado mediante extracción con sc-CO₂ (SFE). Posteriormente, se realizó un diseño de experimentos, basado en la Ecuación 1, para optimizar y estudiar la influencia de presión y caudal de CO₂ en los rendimientos total, Y_{SAF} , de cámara, Y_{PV} , y de colector, Y_{DV} , del fraccionamiento antidisolvente supercrítico (SAF).

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^2 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^2 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i \neq j=1}^2 \beta_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

Ambos procedimientos se realizaron un equipo escala laboratorio Waters modelo SFE-1000F-2-FMC10 System. Finalmente, las fracciones obtenidas mediante SAF se analizaron con un equipo HPLC-PDA para verificar la concentración de los antioxidantes seleccionados.

En este trabajo se ha estudiado también el desarrollo de un modelo preliminar QSAR, basado en la teoría COSMO-RS, como herramienta futura para realizar un screening previo que permita seleccionar los antioxidantes de interés a obtener en los procesos SFE y SAF. Para ello se obtuvieron las distribuciones superficiales de carga polarizada, llamadas perfiles σ , de un conjunto de compuestos antioxidantes que conforman la base de datos del modelo. Se pusieron a prueba dos modelos QSAR, uno basado en la división del perfil σ en 4 intervalos y otro basado en la división de dicho perfil en 10 intervalos con el objetivo de comprobar cuál de las dos divisiones era más representativa. La Figura 1 muestra un ejemplo de las dos divisiones del perfil σ para el caso del ácido rosmarínico (RA) y el ácido clorogénico (CHA). Los descriptores del modelo corresponden al área bajo la curva de cada uno de los intervalos considerados que se pueden correlacionar linealmente con la actividad antioxidante de cada compuesto.

Resultados

Los rendimientos para SFE fueron de 4.9% para *S. officinalis* y 8.3% para *C. officinalis*. En todos los experimentos SAF de *S. officinalis* precipitó un polvo fino de color verde claro en la fracción de cámara y se obtuvieron rendimientos totales de recuperación del 69% al 85%, mientras que para el caso de *C. officinalis* no precipitó polvo en la mayoría de experimentos y se obtuvo un rendimiento total del 31% al 74%. Los rendimientos Y_{DV} y Y_{SAF} se ajustaron perfectamente al modelo descrito por la Eq.

l para las dos especies vegetales estudiadas. Además, Y_{PV} se ajustó al modelo en el caso de *C. officinalis*.

Los resultados de la regresión lineal múltiple del modelo QSAR de 4 intervalos muestran que todos los descriptores (S_1 - S_4) fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$) con un coeficiente de correlación R^2 de 80% y un $R^2(\text{pred})$ de 1.30%. Por otra parte, el modelo de 10 intervalos depende de los descriptores S_1 y S_4 - S_7 , aunque solo S_4 - S_7 fueron significativos, con un R^2 de 93.14% y un $R^2(\text{pred})$ de 72.68%. El hecho de que S_4 - S_7 influyan significativamente en la actividad antioxidante puede explicarse en base al mecanismo de reacción que las moléculas fenólicas consideradas en este trabajo presentan en el método DPPH. Según este mecanismo la actividad antioxidante depende principalmente de dos factores: el nivel de abstracción de H de la molécula en el estado fundamental y la estabilidad del radical libre formado [4]. Es en este último factor donde entran las áreas S_4 - S_7 , regiones neutras de las moléculas que permiten la deslocalización del electrón libre y por tanto su estabilización.

Conclusiones

En este trabajo se ha realizado la secuenciación de dos técnicas supercríticas, SFE y SAF para la concentración de compuestos antioxidantes a partir de *S. officinalis* y *C. officinalis*. Además, se ha realizado la prospección de un modelo QSAR-COSMO-RS, basado en la división de perfiles σ en 4 y 10 áreas, viéndose que el segundo presenta mejores resultados estadísticos. El modelo de 10 áreas podría convertirse en una herramienta útil para preseleccionar moléculas con actividad antioxidante, si bien sería necesaria una ampliación de la base de datos. A la vista de los resultados obtenidos se puede

concluir que tanto las tecnologías de separación avanzadas como el diseño experimental utilizado han sido herramientas eficientes para una concentración sostenible de extractos enriquecidos en antioxidantes de interés.

Agradecimientos

Los autores dan las gracias a EFA188/16/SPAGYRIA (Este proyecto está cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER)) and Gobierno de Aragón: Departamento de Ciencia, Universidad y Sociedad del Conocimiento (Group E39_20R).

REFERENCIAS

- [1]. CARPENA, M., NUNEZ-ESTEVEZ, B., SORIA-LOPEZ, A., GARCIA-OLIVEIRA, P. and PRIETO, M. A. Essential Oils and Their Application on Active Packaging Systems: A Review. *Resources-Basel*. 2021, 10(7), 1-20. Available from: 10.3390/resources10010007.
- [2]. REVERCHON, E. and DE MARCO, I. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2006, 38, 146-166. Available from: 10.1016/j.supflu.2006.03.020.
- [3]. GIACOMETTI, J., BURSAĆ KOVAČEVIĆ, D., PUTNIK, P., GABRIĆ, D., BILUŠIĆ, T., KREŠIĆ, G., STULIĆ, V., BARBA, F. J., CHEMAT, F., BARBOSA-CÁNOVAS, G. and REŽEK J., Anet. Extraction of bioactive compounds and essential oils from mediterranean herbs by conventional and green innovative techniques: A review. *Food Research International*. 2018, 113, 245-262. Available from: 10.1016/j.foodres.2018.06.036.
- [4]. CAO, H., CHENG, W. X., LI, C., PAN, X. L., XIE, X. G. and LI, T. H. DFT study on the antioxidant activity of rosmarinic acid. *Journal of Molecular Structure-Theochem*. 2005, 719, 177-183. Available from: 10.1016/j.theochem.2005.01.029.

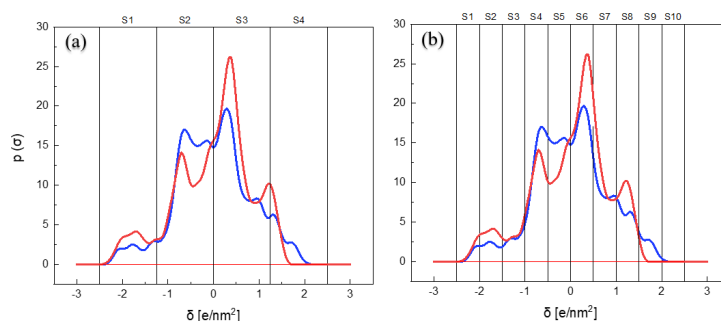


Figura 1. Perfiles σ del ácido rosmarínico (RA, rojo) y del ácido clorogénico (CHA, azul) y su partición en (a) 4 intervalos y (b) 10 intervalos para generar los descriptores moleculares.