

# Evaluación fitoquímica y determinación de flavonoides en hojas de *Ficus benjamina* L.

Andrea Verónica Bravo Sánchez<sup>1</sup>  
& William Daniel Acuña Calle<sup>2</sup>

## RESUMEN

El presente estudio determina los metabolitos secundarios, así como los tipos de flavonoides, presentes en hojas de *Ficus benjamina* L. provenientes del campus de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Para ello, se realizaron ensayos fitoquímicos que dieron “positivo” para cumarinas, fenoles, azúcares reductores, quinonas, antraquinonas, proteínas, saponinas, grupos funcionales (como cetónicos y aldehídos), flavonoides y anillos aromáticos. En la extracción e identificación de los tipos de flavonoides, se utilizó un extracto de las hojas obtenido a partir de una mezcla de agua: acetonitrilo: metanol; aplicando la técnica de cromatografía en capa fina, se utilizó como fase estacionaria una placa de aluminio impregnada de sílicagel 60 F254; y como fase móvil, un solvente BAW (n-butanol: ácido acético: agua) en proporción 4:1:5. La placa resultante se reveló en luz UV, mostrando mejor visibilidad de colores utilizando onda larga (358 nm) y se identificó la presencia de flavanonas y flavonas sin 5-OH libre y flavonoles con un 3-OH libre y con/sin 5-OH libre.

**Palabras clave:** *Ficus benjamina* L., fitoquímica, flavonoles, flavanonas, flavonas.

## ABSTRACT

The present study determines secondary metabolites, as well as types of flavonoids present in leaves of *Ficus benjamina* L. from a sample taken from the campus of Universidad Nacional Agraria La Molina. For this purpose, a phytochemical evaluation were performed and gave positive results for coumarins, phenols, reducing sugar, quinones, anthraquinones, proteins, saponins, functional groups (aldehydes and ketones), flavonoids and aromatic rings. In order to extract and identify flavonoid types, it was needed an extract of the leaves obtained from a mixture of

---

<sup>1</sup> Bachiller de Ciencias Forestales, Universidad Nacional Agraria La Molina; [andreabravo1905@gmail.com](mailto:andreabravo1905@gmail.com)

<sup>2</sup> Estudiante de Ciencias Forestales, Universidad Nacional Agraria La Molina; [daniel\\_acca@hotmail.com](mailto:daniel_acca@hotmail.com)

water:acetonitrile:methanol; applying thin-layer chromatography, an aluminium plate impregnated with silicagel 60 F254 fulfilled the role of an stationary phase; and the mobile phase role was played by a BAW solvent (n-butanol: acetic acid: water) in proportion 4:1:5. The resulting plate was revealed in UV light, showing better visibility of colors using long-wave (358 nm) and identified the presence of flavanones and flavones with free 5-OH and with a free 3-OH and flavonols with/ without free 5-OH.

**Key words:** *Ficus benjamina* L., phytochemistry, flavonols, flavanones, flavones

## INTRODUCCIÓN

El ficus (*Ficus benjamina*) pertenece a la familia Moraceae, es un árbol longevo de 10 a 20 m de altura y hasta 2 m de DAP, además presenta un tronco recto y raíces aéreas. Tiene su origen en la India y Malaya, está adaptada a las regiones tropicales. En la selva peruana existen varias especies nativas de ficus, como los “matapalos” y el “ojé” (Riffle, 1998)

Las plantas de ficus son ampliamente usados en el Perú con fines ornamentales en zonas urbanas y como cercos vivos en huertos y campos frutícolas. Pese a su amplia utilización, son pocas las fuentes bibliográficas que muestran estudios fitoquímicos específicos para esta especie. Por esta razón, como una actividad de investigación del curso de Química Forestal de la Facultad de Ciencias Forestales, se realizó un ensayo para determinar los principales metabolitos secundarios presentes en sus hojas y, a partir de los resultados, fue posible continuar con un aislamiento e identificación de sus flavonoides aplicando cromatografía en capa fina.

## METODOLOGÍA

### Materia prima

Se colectaron hojas de la especie *Ficus benjamina* L. provenientes de individuos ubicados dentro del campus de la Universidad Nacional Agraria La

Molina. La colecta se realizó en el mes de abril del 2015.

### Preparación de la materia prima y del extracto

Luego de colectadas las hojas, estas fueron puestas a secar por un periodo de 3 semanas y luego fueron pulverizadas.

Para la evaluación fitoquímica, se requirió de cuatro extractos diferentes, a partir de las hojas secas y pulverizadas: el extracto clorofórmico, el extracto bencénico, el extracto etanólico y el extracto acuoso.

Tanto el extracto clorofórmico como el bencénico, se elaboraron en proporción 2 a 1, respecto a la cantidad de muestra seca. Mediante el empleo del agitador orbital, por 15 minutos para cada caso, se obtuvo el producto requerido. El extracto etanólico se obtuvo aplicando el mismo proceso de agitación por 2 horas, pero utilizando de solvente etanol al 50%. Mientras que el acuoso, se logró de la evaporación del etanol del extracto anterior.

### De la evaluación fitoquímica

La identificación cualitativa de metabolitos secundarios, aplicando la metodología indicada en la Guía de prácticas de Química Forestal (Guzmán, 2013), requirió de los insumos listados en el Cuadro 1, de acuerdo a los objetivos de identificación respectivos.

**Cuadro 1.** Relación de ensayos realizados para determinar la presencia de metabolitos secundarios en hojas de *F. benjamina* L.

Objetivo de identificación	Reacción	Insumos
Alcaloides	Dragendorff	-1 mL de extracto acuoso -1 mL de HCl al 1% (calor) -3 gotas reactivo Dragendorff (en frío)
	Wagner	-1 mL de extracto acuoso -1 mL de HCl al 1% (calor) -3 gotas de reactivo Wagner (en frío)
	Mayer	-1 mL de extracto acuoso -1 mL de HCl al 1% (calor) -1 pizca de NaCl (en frío) -3 gotas reactivo Mayer
	Erdman	-1 mL de extracto acuoso -1 mL de HCl al 1% (calor) -3 gotas de reactivo Erdman (en frío)
	Marquis	-1 mL de extracto acuoso -3 gotas de reactivo Marquis
Cumarinas	-	-1 mL de extracto etanólico -1 mL reactivo Baljet
Fenoles	-	-1 mL de extracto etanólico -3 gotas de gelatina salada
Taninos	-	-1 mL de extracto etanólico -3 gotas de Cloruro férrico
Quinonas	-	-1 mL de extracto clorofórmico -1 mL NaOH al 5%
Antraquinonas	Borntraguer	-1 mL de extracto bencénico -1 mL NaOH al 5%
Esteroides y Terpenos	-	-1 mL de extracto acuoso -1 mL Ácido tricloroacético (calor)
Proteínas	-	-1 mL de extracto acuoso -1 mL reactivo de Millons (calor)
Azúcares reductores	-	-1 mL de extracto acuoso -1 mL Reactivo de Fehling (calor a baño maría)
Saponinas	-	-1 mL de extracto acuoso -10 mL de agua (agitar x 2 min.)
Grupos funcionales	-	-1 mL de extracto acuoso -3 gotas de Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
Flavonoides	Shinoda	-1 mL de extracto acuoso -1 mL HCl concentrado -1 pedacito de cinta de Mg -1 mL de alcohol amílico (agitar y dejar reposar)
Anillos aromáticos	-	-1 mL de extracto clorofórmico -2 mL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -2 gotas de formaldehído
Compuestos grasos	-	-1 mL extracto etanólico -1 mL reactivo de Sudan III (calor hasta evaporar solvente)

### Extracción de falovonoides por TLC o cromatografía de capa fina

Para la identificación de flavonoides presentes en la muestra se preparó un extracto a partir de un g de muestra seca de *F. benjamina* con 25 mL de una mezcla de agua: acetonitrilo: metanol después de haber transcurrido dos horas de agitación, la solución se filtró en papel filtro normal.

Para la purificación del extracto se volvió a filtrar en un microfiltro de 0,45 µm, una vez obtenido el extracto se procedió a realizar la cromatografía en capa fina; para la cual se usó una placa de aluminio impregnada de sílicagel (de 60 F254), de 3,5 cm x 10 cm y como fase móvil se usó una mezcla de solventes denominada BAW (n-butanol: ácido acético: agua, en una proporción de 4:1:5)

Para el revelado de las fracciones se usó una lámpara de luz UV con dos longitudes de onda.

El extracto obtenido se sembró en la placa sobre una línea de origen trazada a 0,5 cm sobre el borde inferior (5 gotas), luego se colocó en la cuba cromatográfica la cual contenía un volumen de fase móvil y luego se esperó un promedio de 30 minutos para lograr el recorrido hasta el borde superior de la placa, pasado este tiempo se sacó de la cuba y se secó con ayuda de una secadora para finalmente llevarlo a una lámpara “UV”.

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

### Del ensayo fitoquímico

Una vez realizada la marcha fitoquímica, fueron 12 las reacciones que resultaron positivas para la metodología utilizada. A continuación, el Cuadro 2

presentan los resultados obtenidos en la identificación de cada metabolito secundario.

La presencia de cumarinas en la especie atribuye propiedades antibacterianas y antimicrobianas según Ruiz et al. (2010).

Con la prueba de gelatina-sal, el péptido se precipita y enturbia la solución, luego de haber extraído el extracto etanólico. Mientras que, el cloruro férrico unirá el fierro al grupo fenóxido para formar complejos. La coloración verde

Cuadro 2. Resultado del ensayo fitoquímico en hojas de *F. benjamina* L.

Objetivo de identificación	Reacción	Insumos
Alcaloides	Dragendorff	Negativo
	Wagner	Negativo
	Mayer	Negativo
	Erdman	Negativo
	Marquis	Negativo (anfetamina)
Cumarinas	-	Positivo
Fenoles	-	Positivo
Taninos	-	Positivo
Quinonas	-	Positivo
Antraquinonas	Borntraguer	Positivo
Esteroides y Terpenos	-	Negativo
Proteínas	-	Positivo
Azúcares reductores	-	Positivo
Saponinas	-	Positivo
Grupos funcionales	-	Positivo
Flavonoides	Shinoda	Positivo
Anillos aromáticos	-	Positivo
Compuestos grasos	-	Negativo

es respuesta al ataque producido por el ión cloruro al hidrógeno del grupo OH- provocando ruptura del enlace y unión del grupo fenóxido al hierro (Peñaloza y Millares, 2012). Al haber obtenido un resultado positivo con gelatina-sal, se infiere un resultado equivalente para la prueba de proteínas.

Según Vejarano (2010), la presencia de quinonas es común en la mayoría de individuos del género *Ficus*. La particularidad del ensayo confirma la existencia de benzoquinonas, cuya distinción en las hojas, afirma el autor, se torna difícil debido a que son enmascaradas por pigmentos verdes de la clorofila.

Si bien el ensayo de grupos funcionales en laboratorio solo nos permite reafirmar la existencia de los grupos funcionales, no nos brinda información detallada de la composición del extracto pero sí la presencia de dobles y triples enlaces. El resultado era de esperarse por la influencia de los grupos en la formación de los metabolitos primario y secundarios.

Según Méndez y Sánchez (2012), puede ocurrir que durante el proceso de identificación de anillos aromáticos, estos no se logren identificar a pesar de su verdadera existencia, ya que se asocian por nitración o sulfonación a  $\text{NO}_2^-$  o  $\text{SO}_3^{2-}$ , respectivamente. Esto hace necesaria la aplicación de otros ensayos.

### Del análisis cromatográfico

La Figura 1 muestra el resultado de la cromatografía en capa fina, así como las distintas coloraciones obtenidas con la aplicación de luz UV de 254 nm y 385 nm. Con la utilización de luz UV de onda larga, la identificación de colores y separación de los mismos es mucho más clara, pudiéndose apreciar tonalidades rojas, amarillas y celestes.

Según Martínez (2005), la solubilidad de los flavonoides depende de la forma en que se encuentran y del número y clase de sustituyentes presentes.

Los glicósidos, las antocianidinas y los sulfatos son solubles en agua y alcohol. Las agliconas flavonoides altamente hidroxiladas son solubles en alcohol

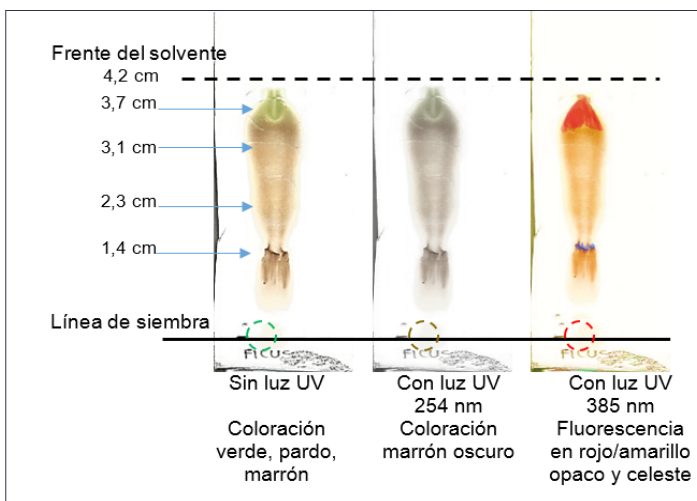


Figura 1. Resultados de cromatografía en capa fina de hojas de ficus.

(etanol, metanol y n-butanol), mientras que las poco hidroxiladas lo son en solventes como éter etílico, acetato de etilo y acetona. Las agliconas flavonoides altamente metoxiladas son solubles en solventes menos polares como el éter de petróleo y el cloroformo. Por su parte, los flavonoides con hidroxilos fenólicos son solubles en soluciones alcalinas, pero algunos altamente hidroxilados se descomponen por acción de las bases fuertes, un hecho que permite reconocerlos y diferenciarlos de otros, y que hace años se utilizó para su elucidación estructural.

En esta prueba, el solvente de extracción elegido (agua: acetonitrilo: metanol) tuvo la finalidad de asegurar la extracción de la mayor cantidad de flavonoides posible. Gracia (2007) sugiere que el proceso de extracción de flavonoides debe iniciarse con el uso del solvente apolar o menos polar para lograr, de esta manera, la separación de clorofilas, gomas y agliconas de los flavonoides altamente metoxilados.

Los flavonoides tienen alta capacidad de absorción en la región UV del espectro, por la presencia de sistemas aromáticos conjugados en su composición (Martínez, 2005).

Según Marcano y Hasewaga (2002), existen múltiples factores que originan variaciones en el desplazamiento durante la separación de compuestos. Teniendo una importante influencia en la variabilidad de resultados de la constante  $R_f$ , los más comunes se enlistan a continuación:

- La temperatura, que siendo menor las sustancias se adsorberán más en la fase estacionaria.
- La existencia de corrientes de aire

que pueda alterar resultados.

- La pureza de los disolventes y la muestra, ya que la presencia de sustancias extrañas limita el proceso normal de desplazamiento.
- El tiempo, es necesario considerar el suficiente como para no detener la separación requerida y lograr la identificación de los componentes.

Para el presente estudio, la influencia de temperatura y corrientes de aire no es significativa sobre los resultados debido a las condiciones de laboratorio. Las variaciones que la presencia de impurezas pudiese generar en el resultado, se minimizaron al aplicar la filtración con microfiltros. En cuanto al tiempo, no fue posible confirmar lo enunciado por Marcano y Hasewaga (2002), debido a que no se realizaron ensayos comparativos en diferentes intervalos de tiempo. Sin embargo, se sugiere otra variabilidad en los resultados en caso de sembrar en la placa de aluminio, muestras a diferentes concentraciones (menos de 5 gotas o más).

Considerando la alta polaridad de la fase estacionaria utilizada (silicagel), se sugiere que el color con mayor recorrido (3,7 cm) corresponde a un compuesto de baja polaridad dentro de la composición total de flavonoides de la muestra.

En función a los resultados obtenidos, la literatura (Flores de Macedo, 2013) atribuye la coloración, bajo las condiciones del ensayo, a la existencia de posibles flavanonas y flavonas sin 5-OH libre, responsables de los tonos celestes y azul fluorescentes; mientras que la presencia de flavonoles con un 3-OH libre y con/sin 5-OH libre representarían la coloración roja fluorescente y amarillo opaca.

## CONCLUSIONES

La especie *Ficus benjamina* presenta resultados positivos para los ensayos de cumarinas, fenoles, azúcares reductores, quinonas, antraquinonas, proteínas, saponinas, grupos funcionales, flavonoides y anillos aromáticos.

Se descarta la presencia de chalconas, dihidrochalconas, catequinas e isoflavonas con la prueba de Shinoda. Se identificó la posible presencia de: flavanonas y flavonas sin 5-OH libre y flavonoles con un 3-OH libre y con/sin 5-OH libre, responsables de atribuir la coloración observada.

Es posible que las propiedades antibacterianas y antimicrobianas de las hojas se deban a la presencia de cumarinas.

La especie presenta en sus hojas gran concentración de taninos, en especial el condensado o pirocatecólicos, quienes se atribuyen a propiedades antisépticas, cicatrizantes, antiinflamatorias y antiespasmódicas.

Los anillos aromáticos presentes en las hojas de ficus no poseen grupos  $\text{NO}_2^-$  o  $\text{SO}_3^{-2}$  que prohíban su correcta identificación con la prueba aplicada.

## LITERATURA CITADA

Gracia, MA. 2007. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Universidad Autónoma de Querétaro. Memorias del Programa Verano de la Ciencia 2007. 4p

Guzmán, D. 2013. Guía de prácticas de Química Forestal. Universidad Nacional Agraria La Molina. Facultad de Ciencias Forestales. Dpto. Industrias Forestales. La Molina, Perú. P: 26 - 30

Marcano, D. y Hasewaga, M. 2002. Fitoquímica orgánica. Universidad

Central de Venezuela. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Ed. Torino. Caracas, Venezuela. 520 p.

Martínez, A. 2005. Flavonoides. Universidad de Antioquía; Ed: MEDELLIN; p: 7- 21.

Méndez, JT. y Sánchez, ML. 2012. Hidrocarburos aromáticos. Guía teórica de curso. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. España. 82 p.

Flores de Macedo, B. 2013. Colorantes Naturales / Olga Lock Sing De Ugaz. Lima: PUCP. Fondo Editorial, 1997. Revista de Química. 274 P.

Peñaloza, D y Millares, J. 2012. Test de reconocimiento de fenoles. Laboratorio de química orgánica III. Facultad de Ciencias Naturales - Universidad Tecnológica Metropolitana. Chile. 9 p.

Riffle, RL. 1998. The tropical look - an encyclopaedia of landscape plants for worldwide use. Timber Press, Thames and Hudson Ltd., London. 428 p

Ruíz, SG.; Venegas, EA.; Chávez, MH.; Eustaquio, CL. 2010. Identificación preliminar de los metabolitos secundarios de los extractos acuosos y etanólicos del fruto y hojas de *Morinda citrifolia* L. "noni" y cuantificación espectrofotométrica de los flavonoides totales. UCV - Scientia, 2010, vol.2, no.2, p.11-22. ISSN 2077-172X.

Vejarano, P. 2010. Fraccionamiento fitoquímico del contenido de metabolitos secundarios en hojas de *Ficus*. Universidad Nacional Agraria Tingo María. Perú 16 p.