



UNAP



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

TESIS

**AISLAMIENTO DE QUERCETINA DE *Allium fistulosum* L. E IDENTIFICACIÓN
MEDIANTE ESPECTROPIA UV-VISIBLE Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR:

SIOMARA GERALDINE GUERRA TRAUCO

ROMEL GUERRA RIVAS

ASESOR:

Ing. CLETO JARA HERRERA, Dr.

IQUITOS, PERÚ

2024



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°011-2024-CGT-FFyB-UNAP

En el caserío de Nina Rumi, distrito de San Juan Bautista, departamento de Loreto, a los 22 días del mes de agosto del 2024, a horas *16:00*, se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulada "AISLAMIENTO DE QUERCETINA DE *Allium fistulosum* L. E IDENTIFICACIÓN MEDIANTE ESPECTROSCOPIA UV –VISIBLE Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA" aprobada con Resolución Decanal N°224-2024-FFyB-UNAP, presentado por los bachilleres **SIOMARA GERALDINE GUERRA TRAUCO y ROMEL GUERRA RIVAS**, para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico que otorga la Universidad de acuerdo con Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N°104-2024-FFyB-UNAP, está integrada por:

ING. REYNA GLADYS CÁRDENAS VDA. DE REÁTEGUI, Dra.	Presidente
Q.F. LILIANA RUIZ VÁSQUEZ, Dra.	Miembro
Blgo. FELIPE RIOS ISERN, Mtro.	Miembro
Ing. CLETO JARA HERRERA, Dr.	Asesor

Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: *adecuadamente*.....

El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:

La sustentación pública de la tesis ha sido *aprobado*..... con la calificación *bueno*.....

Estando los bachilleres aptos para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Siendo las *17:20* se dio por terminado el acto *académico*.....

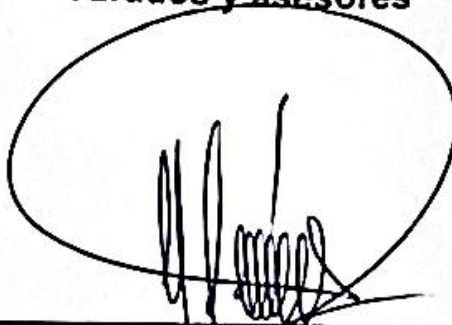
ING. REYNA GLADYS CÁRDENAS VDA. DE REÁTEGUI, Dra.
Presidente

Q.F. LILIANA RUIZ VÁSQUEZ, Dra.
Miembro

Blgo. FELIPE RIOS ISERN, Mtro.
Miembro

Ing. CLETO JARA HERRERA, Dr.
Asesor

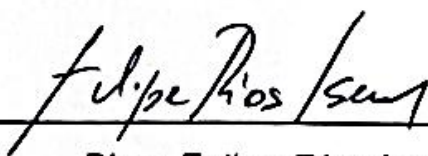
Jurados y asesores



Ing. Reyna Gladys Vda. de Reátegui Cárdenas, Dra.
Presidente de Jurado calificador y dictaminador
CIP: 28912



Q.F. Lijana Ruiz Vásquez, Dra.
Miembro de Jurado calificador y dictaminador
CQFP: 12491



Blgo. Felipe Ríos Isern
Miembro de Jurado calificador y dictaminador
CBP:



Ing. Cleto Jara Herrera, Dr.
Asesor
CIP:63042



UNAP

Vicerrectorado de Investigación

**Dirección de Gestión de
la Investigación (DGI)**

*"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia,
y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"*

**CONSTANCIA DE ANTIPLAGIO
Nº 0697-DGI-VRINV-UNAP-2024**

EL QUE SUSCRIBE, DIRECTOR DE GESTIÓN DE LA INVESTIGACIÓN DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA:

HACE CONSTAR QUE;

La tesis titulada: **"AISLAMIENTO DE QUERCETINA DE *Allium fistulosum* L. E IDENTIFICACIÓN MEDIANTE ESPECTROSCÓPIA UV-VISIBLE Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA"**, presentado por:

Tesista: **SIOMARA GERALDINE GUERRA TRAUCO
ROMEL GUERRA RIVAS**

Asesor: Cleto Jara Herrera

Pertenecientes a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, fue analizado mediante el software Turnitin Originality, donde obtuvo el **12%** de similitud.

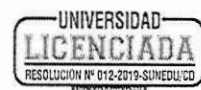
Asimismo, debo indicarle que, antes de la publicación en el Repositorio Institucional Digital (RID), queda bajo responsabilidad funcional del asesor y los tesistas disminuir al mínimo las similitudes detectadas evitando el plagio, a fin de garantizar la originalidad.

Se expide la presente a los interesados, para los fines que se estime conveniente.

Iquitos, 12 de setiembre de 2024.

Atentamente,

CÉSAR ULISES MARÍN ELÉSPURU
Director(e) de Gestión de la Investigación-UNAP



NOMBRE DEL TRABAJO

FFB_TESIS_GUERRA TRAUCO_GUERRA RIVAS.pdf

AUTOR

GUERRA TRAUCO / GUERRA RIVAS

RECUENTO DE PALABRAS

10021 Words

RECUENTO DE CARACTERES

52689 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

39 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

345.7KB

FECHA DE ENTREGA

Sep 8, 2024 10:51 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Sep 8, 2024 10:51 PM GMT-5**● 12% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 11% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 7% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)

AGRADECIMIENTO

A nuestra prestigiosa facultad de Farmacia y Bioquímica-UNAP, a sus autoridades y trabajadores que nos brindaron sus apoyos durante nuestros estudios, a los docentes quienes compartieron sus conocimientos, enseñanzas y consejos para formarnos con calidad y hacer de nosotros excelentes profesionales.

Al Laboratorio de Recursos Naturales, área de Fitoquímica y Recursos Naturales de la UNAP, por permitirnos hacer uso de sus instalaciones.

También, a nuestros maestros y asesores los Ingenieros Julio Arce Hidalgo y Cleto Jara, a quienes expresamos nuestro respeto y más sinceros agradecimientos por el fortalecimiento personal y profesional. Asimismo, a los jurados calificadores: Ing. Reyna Gladys Cárdenas, al Q.F. Liliana Ruiz Vásquez y al Blgo. Felipe Ríos Isern, por sus valiosas sugerencias que nos permitieron mejorar y culminar el trabajo de investigación.

Finalmente, a todos aquellos familiares, amigos y conocidos que de una u otra forma colaboraron para la realización de este trabajo de investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Portada	i
Acta de sustentación	ii
Jurados y asesores	iii
Resultado de reporte de similitud	iv
Agradecimiento	v
Índice de contenido	vi
Índice de tablas	viii
Índice de figuras	ix
Resumen	x
Abstract	xi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	3
1.1. Antecedentes	3
1.2. Bases teóricas	7
1.2.1. Especie materia de estudio	7
1.2.2. Quercetina	9
1.2.3. Biogénesis de la quercetina	10
1.2.4. Métodos de obtención de quercetina	11
1.2.5. Parámetros fisicoquímicos	12
1.2.6. Espectrometría UV/visible	14
1.3. Definición de términos básicos	17
CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES	19
2.1. Formulación de la hipótesis	19
2.2. Variables de estudio y su operacionalización	19
2.2.1. Variable de Estudio	19
2.2.2. Operacionalización de variables	20
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	21
3.1. Diseño metodológico	21
3.2. Diseño muestral	21
3.3. Procedimiento de recolección de datos y análisis de datos	22
3.3.1. Recolección de datos	22

3.3.2. Procedimiento y análisis de datos	25
3.4. Aspectos éticos	29
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	30
4.1. Rendimiento de quercetina	30
4.2. Características fisicoquímicas	30
4.3. Características espectrométricas	30
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	32
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	36
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	37
CAPÍTULO VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
ANEXOS	43
ANEXO Nº 1. Recolección de muestra	43
ANEXO Nº 2. Identificación botánica de la especie	44
ANEXO Nº 3. Espectro de quercetina	45
ANEXO Nº 4. Determinación de los vales R _f de quercetina	46
ANEXO Nº 5. Determinación del peso molecular de quercetina	47
ANEXO Nº 6. Cálculo de rendimiento de quercetina	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de quercetina aislada de <i>A. fistulosum</i> L. y muestra estándar	30
Tabla 2. Espectros de quercetina aislada de <i>A. fistulosum</i> L. y muestra estándar	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Biogénesis de quercetina (39)	10
Figura 2. Eje de simetría de la quercetina	15
Figura 3. Pirano	15
Figura 4. Quercetina y sus grupos oxidrilos en posiciones 3 y 4'	16
Figura 5. Diagrama de bloque de la obtención e identificación de quercetina	22

RESUMEN

Allium fistulosum L. es una especie de cebolla pequeña que crece profusamente en la región Loreto que contiene quercetina de amplio espectro de actividad como antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena, antiartrítico, etc. El objetivo del presente trabajo fue aislar la quercetina y caracterizarlo por medición de sus parámetros fisicoquímicos y espectrométricas. Las muestras fueron recolectadas en el poblado de Zungarococha distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas región de Loreto. El bulbo seco se pulverizó y se desengrasó con éter de petróleo en el equipo Soxhlet, posteriormente se maceró durante 40 horas en etanol de 95° con agitación intermitente, se filtró en embudo buchner sobre papel filtro, se purificó con norita y se obtuvo cristales amarillos en forma de agujas. Las mediciones de sus características fisicoquímicos mostraron los siguientes valores: Punto de fusión 312°C, Rf en Silicagel 27 y en poliamida 8, el peso molecular $338,16 \pm 0,0225$, las reacciones coloridas fueron positivos para fenoles. Los espectros en UV-visible en metanol fue 255, 269 sh, 301 sh, 370nm, en metanol y metóxido de sodio 247 sh, 321nm y en metanol acetato de sodio 257 sh, 274, 329 y 390nm. El rendimiento fue de 0,57%. y que permitiría que *A. fistulosum* L. podría usarse como fuente adicional para extraer quercetina con fines farmacológicos.

Palabras Clave: *Allium fistulosum* L., quercetina, espectroscopia, ultravioleta-visible, caracterización fisicoquímica.

ABSTRACT

Allium fistulosum L. is a species of small onion that grows profusely in the Loreto region and contains quercetin with a broad spectrum of activity as an antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, antiarthritic, etc. The objective of the present work was to isolate quercetin and characterize it by measuring its physicochemical and spectrometric parameters. The samples were collected in the town of Zungarococha, district of San Juan Bautista, province of Maynas, region of Loreto. The dry bulb was pulverized and degreased with petroleum ether in Soxhlet equipment, then macerated for 40 hours in 95° ethanol with intermittent agitation, filtered in a Buchner funnel on filter paper, purified with norite and yellow crystals in the form of needles were obtained. The measurements of its physicochemical characteristics showed the following values: melting point 312°C, Rf in Silicagel 27 and polyamide 8, molecular weight 338.16 ± 0.0225 , and color reactions were positive for phenols. UV-visible spectra in methanol were 255, 269 Sh, 301 Sh, and 370nm, in methanol and sodium methoxide 247 Sh, 321nm, and in methanol sodium acetate 257 Sh, 274, 329, and 390nm. The yield was 0.57% and that would allow *A. fistulosum* L. could be used as an additional source to extract quercetin for pharmacological purposes.

Keywords: *Allium fistulosum* L., quercetin, spectroscopy, ultraviolet-visible, physicochemical characterization.

INTRODUCCIÓN

Los vegetales se usan en todo el mundo para preparar remedios caseros y también como materia prima en la industria farmacéutica (1,2), por sus metabolitos secundarios que cumplen la función de defensa y adaptación al medio donde se desarrollan (3,4).

Allium fistulosum L. (cebolla galesa) es una especie perenne originaria del este de Asia (5), es usado como ingrediente culinario en varios países del este (6), y en los países occidentales también usan como ingrediente para preparar alimentos y en ensaladas (7). Por otra parte, *A. fistulosum* L. es usado como medicina herbolaria para tratar el dolor de cabeza, gripe, resfriados, dolor abdominal, artritis, estreñimiento, disentería, llagas, úlceras, infestaciones parasitarias y enfermedades cardíacas (8). Además, algunos estudios han demostrado que *A. fistulosum* L. tiene propiedades antioxidantes, antiplaquetarias, antifúngicas y antihipertensivas (8-10). A parte de las múltiples propiedades benéficas que tiene

A. fistulosum L. para la salud humana, también, se ha demostrado que contiene muchos componentes, entre ellos se encuentra la quercetina (11), un bioflavonoide que se encuentra en muchas plantas (12).

La quercetina es un flavonoide de valiosa importancia para la salud humana por su amplio abanico de propiedades como anticancerígena, antiinflamatoria (13), antihipertensiva (14), antibacteriano (15), antiartrítico (16), antiplaquetaria (8), antioxidante, antiobesidad, antiarterioesclerosis, antidiabéticos, antihiperlipidémico, tonificante del corazón, protector del hígado y la mucosa gástrico, contra infecciones de la vejiga y quelante de metales pesado que generan nefrotoxicidad sobre la células del órgano afectado (17).

Esta sustancia presente en varias especies vegetales como *Moras alba*, *Moringa aloifera*, *Hypericum hircinum*, *H perforatum*, *Apium gravolens*, *Brassica oleraceae*, *Coreandrum sativium*, *Allium cepa*, malva doméstica, *Solanum lycopersicum*, *Princes avium*, *Vaccinun oxiccoccus*, pero estas son inexistentes en la amazonia peruana. Mientras que, *A. fistulosum* L. de fácil adaptabilidad a cualquier suelo y

clima crece con profusión como cultivo o como planta semisilvestre en la amazonia peruana (18).

Por otra parte, el conocimiento de las correlaciones fitogenéticas entre el género *Allium* y sus especies *Allium sativa* y *Allium cepa* que contiene quercetina, se ha inferido que la especie *A. fistulosum* L. (19,20) también lo contiene; por estas consideraciones y por la fácil disponibilidad de materia prima en esta región se ha orientado a estudiar a la especie de *A. fistulosum* L. con el propósito de aislar quercetina del bulbo de esta planta y realizar su identificación por medición de sus características fisicoquímicas y por espectrometría ultravioleta visible.

Este estudio permitirá que la especie *A. fistulosum* L. de la amazonia peruana no simplemente sea usada como ingrediente culinario, sino que sea una fuente adicional para obtener quercetina para uso farmacológico.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

En el año 2022, se realizó una revisión de la literatura científica de *Allium fistulosum* L. para obtener la información usaron el buscador Google con términos de cebolla galesa, aditivo en la alimentación de las aves, biofuncionalidad, propiedades inmunomoduladoras, microbiota intestinal, morfología intestinal y la calidad del producto en las aves de corral. Informan que la especie es cultivada como verdura por tener un olor y sabor semejante a *Allium cepa* (cebolla común) e indican que contiene sustancias azufradas biológicas, es antifúngica, antioxidante, antihipertensiva, antiplaquetaria. También, señala que es regulador de la función inmunitaria y tiene efecto contra la obesidad. Añade, que posee compuestos volátiles azufrados ya señalados, ácidos grasos como: linoleico, oleico, ácido palmítico o hexadecanoico y ácido esteárico. Finalmente, señala que *A. fistulosum* L. puede utilizarse como aditivo alimentario en dietas de aves de corral en el futuro (21).

En el año 2022, se realizó un estudio en las que se determinó las condiciones óptimas en la extracción de polifenoles de *A. fistulosum* L. adquiridos en un mercado local de Boyacá, Colombia. Para determinar los parámetros óptimos de extracción usó la extracción asistida por ultrasonido. Además, usó el análisis UHPLC-ESI + orbital-MS para caracterizar los polifenoles totales. Los parámetros óptimos de control encontrados fueron: temperatura 60°C, tiempo de calentamiento 10 minutos y concentración de alcohol 70° G.L. El análisis mostró que los compuestos más abundantes fue la antocianidina, cianidina, seguido de quercetina-3-glicosido; el autor señala que el tratamiento asistido con ultrasonido resultó ser una técnica eficiente para extraer polifenoles de las hojas de esta planta, cuya actividad lo define como un antioxidante natural en aplicación alimentaria (22).

En el año 2020, se aisló un glúcósido de la quercetina, el 3-o-glico-quercetina del látex de las hojas de *Manihot glaziovii* MA (Mandioca), las muestras fueron

obtenidos en el laboratorio de la universidad de Mataram, Indonesia. La extracción fue realizada por maceración durante 5 días en etanol y la purificación por cristalización y recristalización. Lograron obtener un rendimiento de 0,118% e identificaron por comparación de sus parámetros con el de quercetina-3-O-glycosido estándar. Concluyen que la quercetina-3-O-glycosido puede estar asignado en el mundo de la medicina para el tratamiento de la fragilidad capilar, reduciendo la permeabilidad de los vasos sanguíneos (23).

En el año 2020, aislaron quercetina de *Rubus fruticosus* (zarzamora) de la familia Rosaceae usando membrana de nanofiltración (NF) y membrana de ósmosis inversa (RO). Para la extracción cruda del material vegetal usaron metanol, luego fraccionaron en diferentes solventes, estas fracciones fueron sometidos a análisis por HPLC-UV y la fracción de acetato de etilo dio el pico más amplio de quercetina, esta fracción usaron para aislar la quercetina en columna de gel de sílice. Para concentrar el producto usaron membrana NF y membrana RO. La pureza del compuesto lo confirmaron por análisis HPLC y RMN. Con el uso de la membrana RO la recuperación fue del 100% pero con un rechazo del 25%, mientras que con la membrana NF el rechazo fue de 5%. También, encontraron que los parámetros de adsorción más se ajustan al modelo de Langmuir y el modelo de pseudo primer orden se ajustó mejor a los datos cinéticos (24).

En el año 2018, se aisló quercetina y ácido mandélico de la fruta de *Aesculus indica*, también determinaron la actividad antioxidante. La muestra fue recolectada en la aldea de Laram Mountain Ouch, Pakistán. Para extraer los compuestos puros, las frutas secas fueron molidas y macerado en metanol por 72 horas, al extracto sometieron a fraccionamiento con solventes de creciente polaridad y a todas las fracciones procedieron al proceso de aislamiento de los dos antioxidantes. Para determinar la actividad antioxidante usaron la prueba de (DPPH) y (ABTS) y para la identificación de los compuestos usaron el sistema (HPLC). El resultado de los análisis del extracto crudo mostró que el compuesto 2 se identificó como quercetina y el compuesto 6 como ácido mandélico. Los compuestos mostraron actividad antioxidante. Los autores concluyen que *Aesculus indica* tiene la capacidad de captar radicales y que podría usarse para minimizar el estrés oxidativo causado por especies reactivas de oxígeno (25).

En el año 2018, se realizó una revisión de la literatura científica de quercetina, y señala la importancia de la quercetina como flavonol denominado químicamente 3, 3', 4', 5, 7 pentahidroxiflavona por IUPAC o por su sinónimo 3, 3', 4', 5, 7 pentahidroxí-2-fenilcromeno-4-ona. Además, menciona que la quercetina de acuerdo a la información científica está ampliamente distribuida en las plantas y más específicamente en varias fuentes alimenticias como frutas, vegetales verdes, nueces, semillas, menestras y vino. Añade, que tiene varias propiedades biológicas, incluyendo su actividad, antioxidante, antiinflamatoria, antibacterial, antiviral, eliminador de radicales libres gastroprotectivo e inmunomodulador al exhibir un amplio rango de actividad biológica y aplicaciones terapéuticas resulta de interés para las industrias farmacéuticas cosmética y la alimentaria (26).

En el 2017, investigaron las propiedades benéficas de *Allium Cepa* L. Las muestras fueron recolectadas en cinco comunidades: San José de Charaja, Saladil, Tolomosa Grande, El Portillo y Tarija Cancha Sud. Las cebollas fueron molidas y homogenizadas con etanol al 96%, luego fue sometido a extracción por ultrasonido, el extracto fue centrifugado y obtuvieron el sobrenadante. Para identificar la quercetina usó un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC). En cebolla roja de Tolomosa obtuvo 0,54 mg/g, en la blanca 0,48 mg/g y 2,86 mg/g; en cebolla roja del Portillo 1,19 mg/g; en cebolla roja de Taladillo 0,26 mg/g; en cebolla blanca de San José de Charaja 0,53 mg/g y en la roja 0,27 mg/g y en la cebolla de Tarija Cancha Sud 0,29 mg/g. Los autores señalan que, existe una gran variabilidad en el contenido de quercetina entre la variedad de cebolla, pero también mencionan que puede haber influido la profundidad del suelo para la bulbificación y lugar de procedencia (27).

En el año 2017, se realizó un estudio para comprobar el efecto de la reducción de la obesidad en ratas con una dieta elevada en grasas, para lo cual usaron la combinación de quercetina y resveratrol. Para las pruebas usaron ratas Wistar que dividieron en tres grupos: un grupo de dieta normal (ND), un grupo con dieta alta en grasas (HFD) y un grupo con combinación de quercetina y resveratrol (CQR). Al grupo CQR lo trataron con HFD, le administraron la mezcla de quercetina 30 mg/kg de peso corporal por día y resveratrol 15 mg/kg de peso corporal por día mediante sonda oral. Después de 10 semanas de prueba, los

análisis mostraron que la administración combinada de quercetina y resveratrol disminuyó la obesidad de las ratas inducida por una dieta alimenticia con consumo elevado de grasas. Finalmente, señalan que la aplicación de CQR sería potencial en la prevención y el tratamiento de la obesidad (28).

En el 2015, fue realizado un estudio de *Allium sativum* L. Las muestras fueron recolectadas de tres diferentes cultivares: Poomparai, Kodaikanal (G1), Vagudapatti, Theni (G2), y Pannaikadu, Kodaikanal (G3). Para obtener los extractos usó éter de petróleo, cloroformo, metanol y agua, para identificar la quercetina en estos cuatro extractos uso el análisis cromatográfico de capa fina de alto rendimiento y para determinar su actividad antimicrobial con diferentes cepas microbianas usó la prueba de difusión en pozos. La quercetina fue aislada de los cuatro tipos de extractos e identificó en los tres cultivares con un valor Rf de 0,68. Las pruebas de actividad antimicrobiana mostró una alta inhibición contra las bacterias especialmente contra *Staphylococcus aureus*. Finalmente, el autor señala que, no solo lograron extraer quercetina sino otros compuestos, y que *A. sativum* L puede ser una nueva fuente de agente antibacteriano comparable al de los antibióticos actuales (29).

En el 2011, se realizó un estudio en el que determinaron el contenido de quercetina en los diferentes tejidos de *A. fistulosum* L., de nueve cultivares en Jinan y de seis en Qingdao, después de la cosecha midió el contenido de quercetina en hojas, pseudotallos superiores y de los anillos internos y externos de los pseudotallos inferiores de cada cultivar, y encontró que la variación de los niveles de quercetina entre los dos cultivares eran significativamente altas, en el cultivar de Jinan los pseudotallos tenían niveles más altos, mientras que en el cultivar de Qingdao las hojas tenían los niveles más altos. Finalmente, el autor deduce que el resultado del experimento servirá para que los fitomejoradores se interesen en la mejora de esta característica (30).

En el año 1995, se realizó un estudio de la variabilidad del contenido de quercetina en diferentes colores de *Allium Cepa* L, los bulbos de las diferentes cebollas fueron recolectadas en la estación experimental agrícola Weslaco; también en dos localidades Griffin Brand (GB) y McAllen, todas en Texas. El tejido

de los bulbos secos se sometió a extracción con etanol al 80%, después filtraron y concentraron hasta sequedad a 50 °C a presión reducida, posteriormente volvieron a diluir con etanol y filtraron, el filtrado fue sometido a análisis en cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), el mismo procedimiento hicieron con todas las muestras. La máxima absorbancia de quercetina que determinaron fue a 374nm, y el contenido total de quercetina en cebollas amarillas, rosas y rojas varió de 54 a 286 mg/kg, mientras que las cebollas blancas sólo contenían trazas de quercetina total. Finalmente, los autores señalan que, la variación en el contenido de quercetina en las cebollas no solo está relacionado al color de las cebollas sino también por otros factores como las condiciones ambientales (31).

1.2. Bases teóricas

1.2.1. Especie materia de estudio

a) Identificación botánica

Se realizó por categorización filogenética, esta planta tiene la siguiente clasificación (20,32):

Reino	: Plantae
Sub reino	: Traqueophyta
Division	: Magnoliophyta
Clase	: Liliopsidae
Orden	: Asperragales
Familia	: Amaryllidaceae
Tribu	: Allicae
Género	: Allium.
Especie	: <i>Allium fistulosum</i> L.
Nombre vulgar	: Cebolla peruana, cebolla amazónica

b) Descripción botánica

La descripción botánica de *A. fistulosum* L. por Xing (19):

“Es una planta monocotiledónea con hojas tubulares verdes. Los pseudotallos se forman mediante el desarrollo metamórfico de las vainas foliares. El tallo es extremadamente acortado. El sistema radicular son raíces fibrosas con una fuerte capacidad regenerativa. Las semillas son negras, en forma de escudo, con el dorso anguloso y elevado y el abdomen semicircular; La plántula es de hojas jóvenes de hoja tubular alargada que son de color verde claro. Los cogollos sin abrir están cubiertos por una membrana; los floretes umbelados apicales están agrupados esféricamente y dispuestos radialmente”.

c) Distribución ecológica

Se encontró en (6) [Citado en (5)] que el origen de la especie se considera el centro y noroeste de China, de allí paso a Europa – Siberia, y se introdujo a Europa occidental hacia el siglo XVI o XVII de allí se difundió a América (33). En el Perú crece con profusión en la Amazonia peruana en clima cálido y húmeda (18).

d) Usos e información etnobotánica

Se usa para condimentar los alimentos en selva baja para mejorar el sabor del caldo de pescado conocido como “timbuchi”.

En la medicina se aplica sobre quemaduras de primer grado, rayando el bulbo y emplastando en la zona afectada. Para apurar el trabajo de parto, para la flatulencia y malestar estomacal (18).

e) Importancia biológica del género

Se ha comprobado que los extractos crudos de *A. fistulosum* L. inhibe la función plaquetaria, mientras que los extractos hervidos activan las plaquetas (8), tiene efecto inhibitor sobre *Phytophthora capsici* conocida como enfermedad de tizón del pimiento (9), es antioxidante y antihipertensivo (10), son repelentes eficaces contra insectos (34), además, en *A. fistulosum* L. se ha encontrado compuestos volátiles azufrados, polifenoles, tiene efectos antifúngicos, antioxidantes,

antihipertensivos, antiagregantes plaquetarios, reguladores de la función inmunitaria y antiobesidad (21). *Allium cepa* L. (cebolla roja) tiene actividad antioxidante (35), *Allium sativum* L. (ajos) tiene actividad inhibitoria contra las células cancerígenas (11). Por otra parte, las especies del género *Allium* contienen muchos constituyentes, principalmente compuestos volátiles, compuestos fenólicos, antocianinas, saponinas, ácidos grasos, moléculas organosulfuradas, flavonoides, esteroides, ácidos orgánicos, nucleósidos, aminoácidos y vitaminas (13).

1.2.2. Quercetina

Es un compuesto polifenólico presente en las plantas, cuyo esqueleto de carbono C6-C3-C6 perteneciente a la clase de los compuestos flavonoidales. La estructura precursora de la que proviene corresponde a una flavona, el anillo A fenólico, terminales con el anillo C, que es un pirano. Se transforma en pirano al combinarse el carbono-4 con el oxígeno formando un grupo ceto, el anillo A y el anillo B fusionados forman el grupo cromano, el anillo C como un sustituyente del grupo cromano en posición C-2 forma una flavona (36,37).

Luego el flavonoide en forma de flavona para tomar su estructura final flavonol es sustituido por 5 grupos OH, e las posiciones 3,3',4', 5, 7 dando lugar al compuesto conocido como 3,3',4', 5,7 pentahidroxiflavona. Conocido también como 2 (3,4 dihidroxifenol), 3, 5,7, (trihidroxi-4H-cromano-4-ona (38,39).

Los glicósidos de la quercetina son: quercetina-3-arabinosido, quercetina-3-xylosido, quercetina-3-glucosido (Isoquercetina), quercetina-3-galactoside, quercetina-3-rhemnosido (quercetina), quercetina-3-glucoronido, quercetina-3-rutinosido(rutina), quercetina-7-D-glucoside (quercimeratina), quercetrina-3-L-rhamnosido (quercetina) que son los glicósidos de la quercetina (40,41).

La quercetina es un pigmento ampliamente distribuido en los vegetales como sastaña de Indias, hojas de uva, lúpulo, te, zumaque; arbustos como rosa roja y té, cebolla *Quereus tintora* en cortezas y túnicas en *Amerilideceae* (39), también está presente en manzanas (42), uvas (43), peras, mangos y brócoli (44).

Propiedades farmacológicas

Es habitual en la dieta humana destacando su elevada actividad antioxidante, se usa para diferentes aplicaciones terapéuticas, en la prevención y tratamiento de la obesidad, enfermedades cerebrovasculares, cáncer, se ha demostrado en un experimento in vitro que quercetina y rasvetrol combinado inhiben la producción de células adiposas (30), además de las propiedades citados presenta actividad analgésica, antiagregante, antiartrítico, antibacterial, antigripal, antiespasmódico, antiulcerosos, hepatoprotector, antidiabético, antiasmático, etc. En tumores cancerosos es importante en el tratamiento de cáncer de seno, piel, ovarios, pulmones y vesícula (45). En cuanto a su toxicidad no debe administrarse en mujeres embarazadas o que están dando de lactar

1.2.3. Biogénesis de la quercetina

Se realiza por la vía de las acetogeninas, el ácido cinamil CoA se involucra con 5 unidades de acetato que luego se ciclan y por acción de la chalcona sintasa, se transforma en chalcona, y por la acción de la chalcona isómera forma un flavanonol (dihidroflavonol) y este por deshidrogenación insatura el grupo pirona en posiciones 2 y 3, y da lugar a un flavonol, que al sustituir las posiciones 3' y 4' del anillo fenílico da lugar a la quercetina según el mecanismo siguiente (38,39):

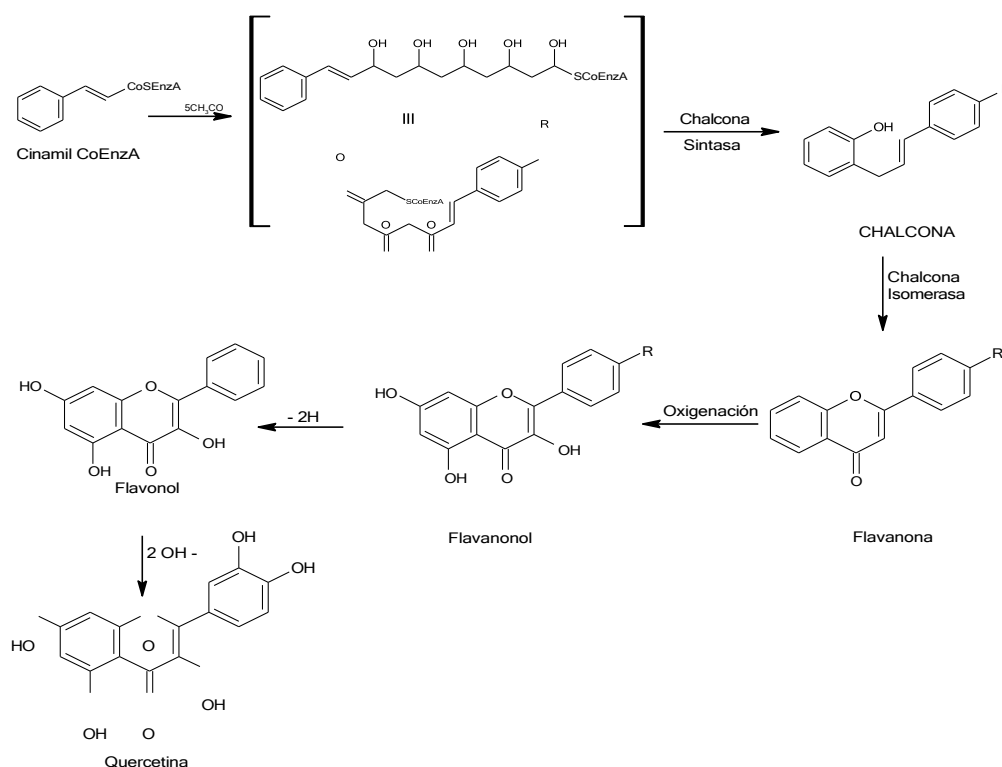


Figura 1. Biogénesis de quercetina (39)

1.2.4. Métodos de obtención de quercetina

Existen diferentes técnicas de extracción de quercetina de material de planta. Se extrae con etanol, si el extracto contiene quercetina y kampherol, se separa con tetraborato de sodio. El procedimiento es como sigue: Al extracto etanólico se concentra en rotavapor, luego se desengrasa con éter de petróleo, se añade solución acuosa etanólica de ácido sulfúrico al 7%, se enfría, la suspensión enfriada se extrae varias veces con éter diétilico, se calienta los extractos y seguidamente se extraen con solución acuosa de tetraborato de sodio (Bórax) al 10% para disolver la quercetina que se recupera cuando se añade ácido clorhídrico o sulfúrico. Se cristaliza con alcohol en forma de agujas de color amarillas (46).

También, la quercetina se separa usando la técnica de cromatografía de papel monodimensional. Los extractos alcohólicos son embebidos a 8cm del extremo inferior de la tira de papel, en una cromatocabina se separa usando dos solventes de resolución, acetato de etilo y fenol saturado en 60% de agua, los valores Rf en acetato de etilo es 0,5 y 0,56 en fenol saturado en agua al 60% (47). Además, la quercetina se aísla por cromatografía de capa fina usando varas fases estacionarias, en Silicagel y como solvente de resolución tolueno-cloroformo-acetona (40+25+35) el valor Rf es 27, en poliamida usando como solventes de resolución benceno-butanona-metanol (60+20+20) el valor Rf es 20 y en celulosa con reactivo de resolución cloroformo - ácido acético - agua (50+45+5) el valor Rf es 8 (48).

Por otra parte, la quercetina se aísla usando membranas de nonofiltración (NF) y láminas de poliamida por ósmosis inversa (RO), la extracción cruda se hace usando metanol, luego se concentra con las membranas correspondientes (24). También, se aísla usando el ultrasonido y se optimiza la extracción mediante la técnica de superficie de respuesta y finalmente se obtiene el producto puro mediante la separación de HPLC (49).

1.2.5. Parámetros fisicoquímicos

La quercetina tiene los siguientes parámetros fisicoquímicos que les son propios, ya que, los distinguen de otras sustancias que tiene valores diferentes y son: punto de fusión, color y forma del cristal de quercetina en estado puro, solubilidad, reacción colorida, Rf en TLC, peso molecular, aspectos que se define a continuación.

A. Punto de fusión

Es el intervalo de temperatura donde una sustancia pura pasa del estado sólido a líquido ya que el proceso se ve acompañado frecuentemente por descomposición, el valor puede ser no considerado como temperatura de equilibrio, sino solo la transición de sólidos a líquidos. En la actualidad para medir el punto de fusión se usa equipos modernos como FISATOM 431D u otras marcas con microscopia y lectura digital con el que se puede visualizar el valor con mayor precisión. El punto de fusión de quercetina hidratada pura es de 312°C (46).

Color y forma de cristal

Los cristales puros de la quercetina son de color amarillo. Como está formado por cristales separados y distintos se debe que son aciculares, es decir cristales finos en forma de agujas con un amplio desarrollo de caras verticales (39).

B. Solubilidad

Es la capacidad de una sustancia de disolverse en una solvente. La quercetina es soluble en soluciones de polaridad menor como etanol, solución alcalina de NaOH, pero no es soluble en agua cuyo momento dipolar es equivalente a 1,85 debye (50).

C. Reacción colorida

La quercetina da una coloración fuertemente amarilla cuando se somete a reacción en ácido sulfúrico concentrado (46).

D. Valores de Rf en cromatografía de capa fina

Quercetina muestra un valor de $R_{f \times 100}$ de 27, cuando es usado una placa cromatografía de silicagel como absorbente y como solvente de corrido tolueno-cloroformo-acetona, y si es usado una placa cromatográfica de poliamida y como solventes de corrido benceno-butanona-metanol el valor es 8 (45,47).

E. Peso molecular

El peso molecular de una sustancia, teóricamente es la suma de los pesos moleculares de sus elementos que lo conforman, en el caso de la quercetina es de 302,23 g/mol, pero si la molécula es di hidratada ($C_{15}H_{10}O_7 \cdot 2H_2O$) es 338,23 g/mol (39). El peso molecular de una sustancia se puede determinar por el método de Rast en el que se utiliza el D-camphor, debido a que esta sustancia tiene una constante crioscópica muy elevada, se trata pues de determinar la suma de las masas atómicas de los elementos que forman la molécula (40,50).

El procedimiento es el siguiente:

En tubos de 8 x 50cm, se coloca 50mg del compuesto de estudio y se pesa, luego se añade 0,5g del D-camphor, se vuelve a pesar, la mezcla se funde con una llama baja del mechero de Bunsen hasta que aparezca un líquido transparente. Después que se ha enfriado el contenido del tubo se saca y deposita en una luna de reloj. Este material se pulveriza y se determina su punto de fusión por el método del capilar (50), actualmente se usa aparatos modernos como el FISATOM 431 D, luego se determina el punto de fusión del D-camphor puro. Con estos datos se calcula el valor de depresión en el punto de fusión del D-camphor que se representa por la expresión ΔT , el valor de la constante molar de descenso de la fusión del D-camphor es $k = 39,7$, con estos datos Rast estableció la fórmula siguiente (50).

$$M = \frac{39,7 \cdot w \cdot 100}{\Delta T \cdot W}$$

Dónde:

w = peso del compuesto en estudio.

W= peso del D-camphor

ΔT = depresión en el punto de fusión.

K= 39,7 constante molar de descenso del punto de fusión del D-camphor

M= peso molecular

1.2.6. Espectrometría UV/visible

Comprende el estudio de la intervención de la radiación electromagnética con la materia. La radiación electromagnética de lugar al espectro electromagnética que en el caso del espectro electromagnético en la región. La absorción de energía se cuantifica cuando da como resultado la elevación de los electrones, desde orbitales que se encuentran en el estado basal (Ground states) a orbitales de mayor energía que lo logran en un estado excitado (51). En la práctica la espectrometría ultravioleta está limitada en gran parte a los sistemas conjugados. Está formado por un gráfico de la longitud de onda en función de la intensidad de absorción (transmitancia o absorbancia) (49). Los datos frecuentemente se muestran en forma de grafica o presentación tabular de la longitud de onda en función de la absorptividad mola o logaritmo de la absorptividad molar. Para moléculas orgánicas, la región ultravioleta del espectro es la que corresponde al ultravioleta del espectro, que corresponde al ultravioleta cercano (cuarzo) que se extiende desde 200nm hasta 360nm (51). La energía absorbida en la región ultravioleta produce cambios en la energía de la molécula como resultado de las transmisiones de los electrones de valencia en la molécula (50)

Espectro UV/visible de la quercetina

La quercetina es un flavonol que de acuerdo con su eje de simetría se divide en un radical benzoil ($C_6H_5CO^-$) y un radical Cinamil si representamos la molécula de quercetina, la estructura es la siguiente:

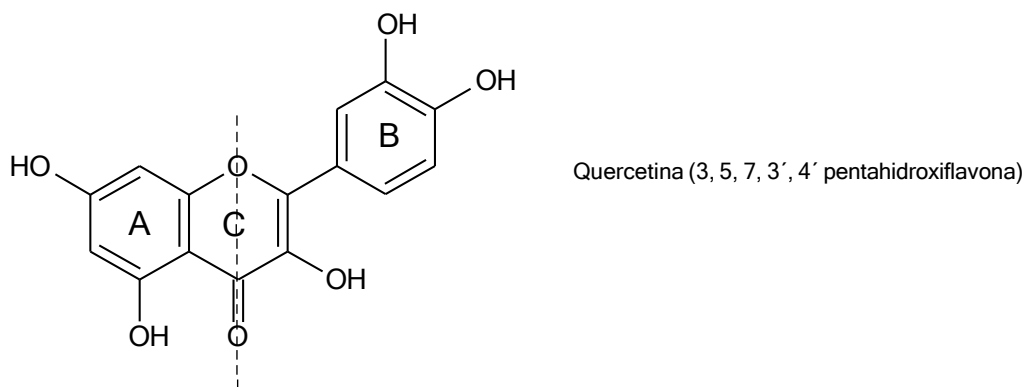


Figura 2. Eje de simetría de la quercetina

Si cortamos la molécula de quercetina por el centro de la pirona anillo C que está asociado al grupo fenilo y benceno con el que forma la benzopirano (52).

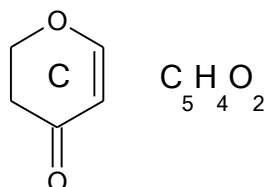


Figura 3. Pirano

Tendremos dos mitades, la mitad AC que da lugar al grupo benzoil (C_6H_5CO-) que en espectroscopia ultravioleta va constituir la banda II y la otra mitad BC que corresponde al grupo cinamoil ($C_6H_5-CH=CH-C=O$), que constituye la banda I (52).

Cuando se usa un reactivo de desplazamiento para medir la absorción de un flavonol como es el caso de quercetina, el espectro UV exhibe dos picos de absorción en la región correspondía entre 240-400nm, estos dos picos están comúnmente referidos a la banda I (grupo cinamoil), generalmente entre 300-380 nm de longitud de onda máxima ($\lambda_{m\acute{a}x}$), y la banda II que corresponde a la otra mitad de la molécula que es el benzoil generalmente entre 240-280nm (52).

La banda I está asociado a la presencia del anillo B del sistema cinamoil y la banda II a la presencia del anillo A del sistema benzoilo (52). La Banda I en el espectro ultravioleta en el metanol de la quercetina da un valor que corresponde a una longitud de onda máxima de 370nm (30).

El efecto producido por los patrones de oxidación en los flavonoides da lugar a dos picos de absorción a un máximo con hombro (sh) sobre el largo del lateral de la longitud de onda entre 250-275nm, mientras que el equivalente de oxigenación en 4' tienen solamente una (52), incrementando la hidroxilación del anillo A en los flavonales que como quercetina en ese anillo tiene dos grupos oxhidrilos que produce un notable desplazamiento batocrómico en la banda II y un pequeño efecto sobre la banda I, la presencia o ausencia de enlace hidrogeno en el grupo oxhidrilo 5, permite que aparezca una corta longitud de onda entre 3 - 10nm en la banda I y 6 - 17nm en la banda II, pero en quercetina no se observa. Cuando se usa como reactivo de desplazamiento el metanol los valores de longitud de onda de la quercetina son: 255, 269 sh, 301 sh, 370nm (52).

El espectro UV de flavonoles como quercetina en presencia de metóxido de sodio (NaOMe), tiene el comportamiento siguiente: el metóxido de sodio es una base fuerte que ioniza en alguna medida a todos los grupos oxhidrilos de los núcleos del flavonoide, por esta razón el déficit correlaciona los desplazamientos espectrales obtenidos cuando se adiciona NaOMe a los flavonoides que poseen patrones de hidroxilación, sin embargo, su uso se debe al efecto del NaOMe sobre el espectro de flavonoles para la detección de grupos oxhidrilos en posiciones 3 y 4' como los posee la quercetina (52,53).

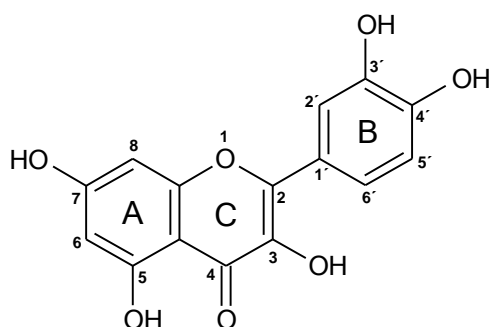


Figura 4. Quercetina y sus grupos oxhidrilos en posiciones 3 y 4'

La adición de NaOMe sobre flavonoles tipo quercetina en metanol produce usualmente un desplazamiento batocrómico en todas las bandas de absorción. Sin embargo, un gran desplazamiento batocrómico de la banda I de cerca de 40 – 65nm sin decremento de su intensidad es un buen diagnóstico de la presencia de un grupo oxhidrilo en posición 4', se observa como del valor de 255nm solo en solvente metanol, la banda en presencia de metanol y NaOMe es de 321nm,

66nm de desplazamiento batocrómico que evidencia la presencia del oxhidrilo en posición 4' del anillo B de la quercetina, decrecimiento de la banda, mientras tanto, el oxhidrilo en la posición 7 el espectro exhibe un desplazamiento batocrómico de 5-20nm que corresponde a la banda II de los grupos AC (benzopirona) y los valores de absorción de longitud de onda máxima son 247 sh, 321nm (dec) (52,53).

Por otro lado, los valores de absorción en el espectro UV con metanol y acetato de sodio (NaOAc), los valores de longitud de onda máxima son: 257 sh, 274, 329, 390nm (dec). La detección del grupo 7-oxhidril en el espectro UV en flavonoles como quercetina también puede ser posible en presencia de acetato de sodio NaOAc por que exhibe un desplazamiento batocrómico entre 5-20 nm, desplazamiento que corresponde a la banda B del benzoilo de 370 que experimenta solo con metanol a 390 con decaimiento de la banda (52,53).

1.3. Definición de términos básicos

Desplazamiento batocrómico: El comportamiento del espectro UV en un reactivo de referencia se altera al añadir reactivos de desplazamiento por la presencia de grupos oxidrilos en las diferentes posiciones de la molécula, permite identificar estas posiciones con el desplazamiento del espectro hacia la región del infrarrojo, que se le denomina desplazamiento batocrómico (53).

Desplazamiento hipsocrómico: El comportamiento del espectro UV en un reactivo de referencia se altera añadiendo reactivos de desplazamiento por la presencia de grupos oxidrilos en las diferentes posiciones de la molécula, permite identificar estas posiciones con el desplazamiento del espectro hacia la región del ultravioleta, que se le denomina desplazamiento hipsocrómico (52).

Los flavonoides: Son un grupo muy amplio de compuestos polifenólicos, son sustancias de bajo peso molecular producidas por casi todas las plantas vasculares, se caracterizan por poseer un anillo heterocíclico conocido como cromano al cual se halla asociado un grupo fenilo en posición 2, y en posición 3 si

es una isoflavona, por eso se le conoce también como 2-fenil-benzo- γ -pirano o fenil-cromeno (41).

Flavonoles. Es un grupo de compuestos dentro de los flavonoides, los flavonoles que están presentes en muchas especies vegetales son la quercetina, kaemferol y rutina, sus estructuras cambia por el número de sustitución de los grupos hidroxilos en el esqueleto benzo- γ -pirano (37). Estos compuestos han estado presentes en la naturaleza durante más de mil millones de años, de manera que han actuado recíprocamente con el desarrollo de muchos organismos (54).

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1. Formulación de la hipótesis

El bulbo de *A. fistulosum* L. contiene quercetina que se puede aislar e identificar por espectroscopía ultravioleta visible y mediante pruebas fisicoquímicas.

2.2. Variables de estudio y su operacionalización

2.2.1. Variable de Estudio

Variable independiente

Presencia de quercetina, compuesto químico aislado de los bulbos de *A. fistulosum* L. (cebolla peruana).

Variable dependiente

Características fisicoquímicas. Son las propiedades que identifican al compuesto puro, aislado luego del proceso de extracción tales como: punto de fusión, color formas del cristal, solubilidad, reacciones coloridas, valores Rf y peso molecular.

Características espectrométricas. Determinada por la longitud de onda máxima de las bandas de absorción del producto químicamente puro, medido en diferentes solventes y que manifiesta efectos batocrómicos e hipsocrómicos cuando se añade soluciones de desplazamiento (51).

2.2.2. Operacionalización de variables

Variable independiente	Definición operacional	Tipo por naturaleza	Indicadores	Escala de medición	categoría	Valores de las categorías	Medios de verificación
Quercetina aislada de <i>A. fistulosum</i> L.	Para aislar la quercetina, el bulbo de <i>A. fistulosum</i> L., se llevó a partículas finas, se sacó y se desengrasó con éter de petróleo, se concentró a sequedad y el extracto seco se maceró en etanol. Se concentró el extracto etanólico y se filtró, se dejó en reposo, hasta obtener los cristales de quercetina que se purificó con alcohol, hasta obtener cristales amarillos en forma de aguja.	Cuantitativa	Masa (g)	Razón	Ninguna	Ninguna	Cristales de quercetina

Variable dependiente	Definición operacional	Tipo por naturaleza	Indicadores	Escala de medición	categoría	Valores de las categorías	Medios de verificación
Características fisicoquímicas	Los cristales aislados se identificaron por estimación del punto de fusión, color y forma de cristales, solubilidad, reacciones coloridas, valores Rf x 100 en TLC y peso molecular.	Cuantitativa	Temperatura (°C) Grado de disolución Color Valor Rf (%) peso molecular (g/mol)	Razón	Ninguna	Ninguna	Registro de temperatura Registro de solubilidad Valores de Rf (anexo 4) Peso molecular (anexo 5)
Características espectroscópicas	Se disolvió en metanol y reactivos de desplazamiento y se registró por espectrometría UV.	Cuantitativa	Nanómetro (nm)	Razón	Ninguna	Ninguna	Espectro de quercetina (anexo 3)

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Diseño metodológico

Es descriptivo, prospectivo de enfoque cuantitativo (55), que permitió primero aislar el principio activo y luego identificar las longitudes de onda máxima de absorción de las moléculas excitadas en el equipo de espectrometría UV-Visible a fin de compararlas con las longitudes de onda de la literatura para la molécula de quercetina. Además, se determinaron sus propiedades fisicoquímicas tales como: punto de fusión, color y forma de cristal, solubilidad, R_f100 en TLC, reacciones coloridas y peso molecular.

El proceso experimental seguido para el aislamiento e identificación de la quercetina es un diseño algoritmo es decir que se planteó una serie de pasos relacionados con operaciones unitarios y procesos siguiendo vías adecuadas que luego del aislamiento del principio activo nos permitan su identificación.

3.2. Diseño muestral

El muestreo fue por conveniencia, porque en todas las hojas está presente la quercetina, por esta razón no se aleatoriza algo “*per se*” presente en todas ellas (55).

Población de estudio

Población de estudio está referido a un sembrío de plantas de *A. fistulosum L.*, que por dinámica de crecimiento y desarrollo forman una comunidad vegetal de hojas tubulares, que se encuentra ubicado en el Caserío de Padre Cocha, Distrito de Punchana, Maynas, Loreto.

Muestra de estudio

Se colectó 4 Kg de bulbo de *A. fistulosum L.* desprovisto de hojas.

Criterio de selección

Criterios de inclusión: se seleccionaron los bulbos de mayor tamaño.

Criterios de exclusión: se descartaron bulbos que tenían túnicas deterioradas

3.3. Procedimiento de recolección de datos y análisis de datos

3.3.1. Recolección de datos

Se optó incluir desde la recolección de la materia prima las operaciones de reducción de partícula, secado, macerado, desengrase, macerado con alcohol, filtración, cristalización, recristalización y pruebas de identificación por espectroscopia UV-visible y caracterización de las propiedades fisicoquímicas del compuesto aislado. Las etapas del procedimiento se muestran en el diagrama de bloques de la siguiente figura (ver figura 5)

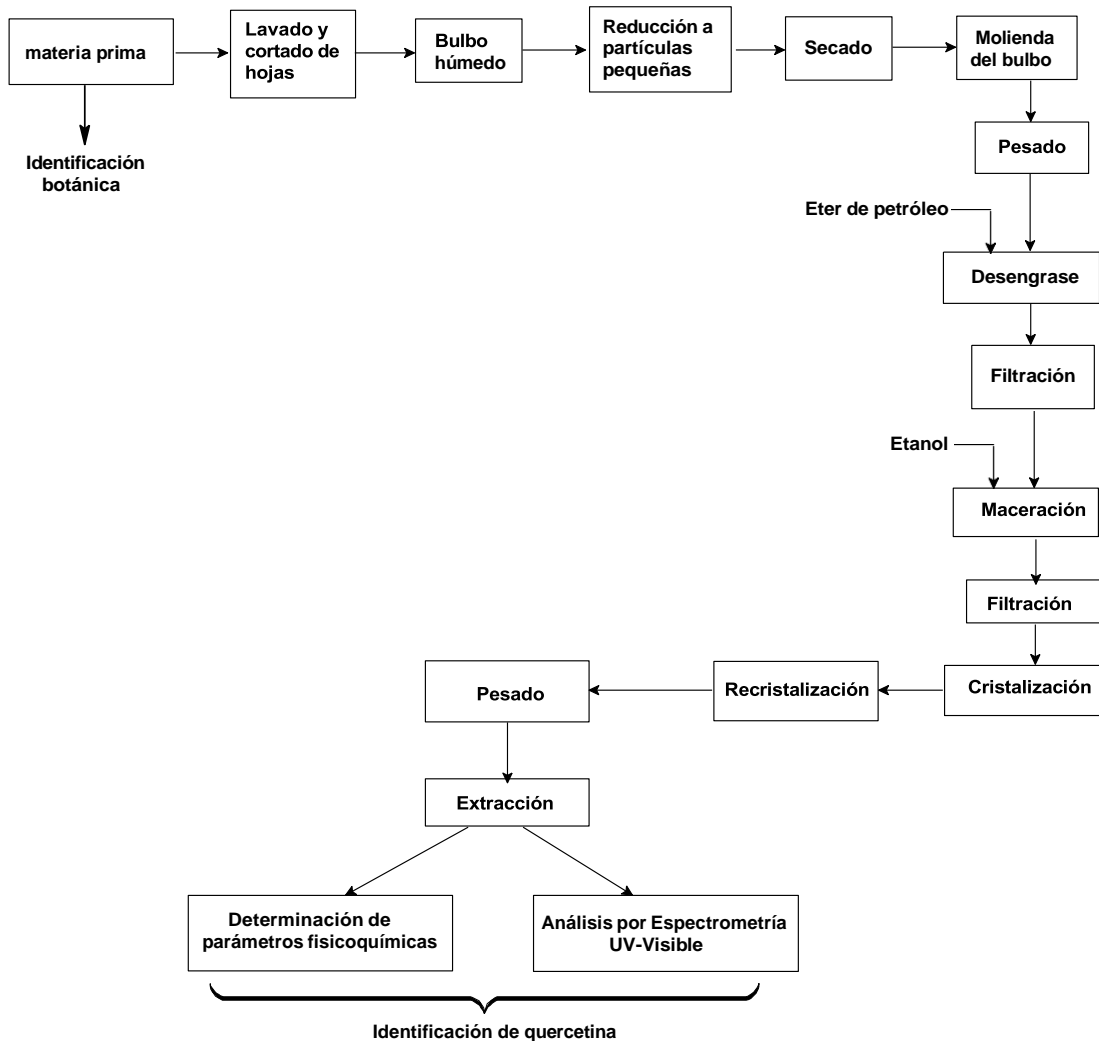


Figura 5. Diagrama de bloque de la obtención e identificación de quercetina

A.1. Recolección de la especie vegetal

A. fistulosum L. fue recolectado en el sembrío del Caserío Padre Cocha, Distrito de Punchana, Maynas, Loreto, ubicado entre las coordenadas georreferenciales de 3° 42' 54" S; 73° 14' 54" O; altitud 105 msnm.

En la recolección de la muestra se tomó fotografías (ver anexo 1), la muestra se llevó al Laboratorio de Fitoquímica y Productos Naturales de la Facultad de Ingeniería Química de la UNAP, se realizó pruebas preliminares para identificar la presencia de flavonoides en el laboratorio. Una muestra de planta se llevó al Herbarium Amazonense CIRNA-UNAP para su identificación correspondiente.

A.2. Prueba preliminar

Primera prueba, consistió en moler un bulbo de *A. fistulosum* L., se filtró y concentró; al concentrado se agregó gotas de ácido sulfúrico y dio lugar a una solución fuertemente amarillo que indica la presencia de flavonoides (46).

Segunda prueba, Se extrajo con etanol el bulbo reducido a partícula fina, se filtró, el filtrado se puso en una placa de toque, se agregó una pequeña tirita de magnesio y gota de HCl concentrado dando una coloración rojiza (Reactivo de Shinoda) (46), que prueba la presencia de flavonoides.

A.3. Certificación de la especie vegetal

Una planta integra con hojas, bulbos y raíces y se llevó al Herbarium Amazonense CIRNA-UNAP, donde el especialista realizó la identificación taxonómica correspondiente y expidió la constancia correspondiente (ver anexo 2).

A.4. Preparación y limpieza

En el laboratorio se separaron las hojas del bulbo (equivalente a 1kg), porque el estudio se centró en el bulbo, se lavó para eliminar *Pectobacterium corotororum* que produce pudrición del bulbo, luego se secó en ambiente de aire acondicionado a 17°C sobre papel filtro, se pesó y se obtuvo 750g.

A.5. Molienda

El bulbo seco se molió en molino de disco reduciendo a partículas finas y se tamizó sobre malla N° 60 ASTM (0,25mm diámetro de malla) para uniformizar el tamaño de las partículas cuyo diámetro promedio de las partículas es de 0,25mm.

A.6. Pesada

La muestra pulverizada se pesó en una balanza analítica *OHAUSS*, cuyo peso fue de 500g. Es la cantidad de muestra con la que se trabajó en la investigación.

A.7. Desengrase

El desengrase se realizó en un aparato de Soxhlet, esta operación se realizó para separar la grasa o sustancias lipofílicas de la muestra. La materia prima pulverizada se puso en cartuchos elaborados de papel Whatman N° 1 se selló con grapas, se cargó el balón usando como solvente de desengrase 800mL de éter de petróleo, el balón se calentó en un calentador de resistencia eléctrica que tiene reóstato para el control de temperatura que no pasa de 80°C, la operación se realizó por 5 horas. Luego se quitó la materia prima de los cartuchos, se extendió sobre papel Whatman N°1, se secó a fin de que se evapore el exceso de éter de petróleo (46).

A.8. Maceración

La materia prima pulverizada libre de éter de petróleo se llevó a maceración con un litro de etanol de 96° G.L por 40 horas con agitación intermitente.

A.9. Filtración

Se realizó en embudo buchner con bomba de vacío acoplado al matraz de kitasato sobre capa de celita, agotado la filtración se agregó 200mL de alcohol etílico para lavar el afrecho y extraer en forma óptima la quercetina.

A.10. Concentración

El filtrado se concentró en rotavapor hasta obtener 120mL de solución, después se trasvasó en un vaso de precipitado de 200mL de capacidad y se dejó en reposo por una hora.

A.11. Cristalización

El concentrado que estuvo en reposo se calienta a 90°C en calentador de control reostático. El propósito del calentamiento fue: primero, reducir el volumen del solvente alcohol etílico, la segunda, eliminar los volátiles que contiene la cebolla como ácido sulfhídrico, dipropildisulfuro y alilpropildisulfuro.

Se agregó una pequeña cantidad de carbón activado (norita) durante el calentamiento, se filtró y se obtuvo 60mL de filtrado, se dejó en reposo, y empezó a formarse una sustancia amarilla que fueron separados en varias cosechas

A.12. Recristalización

Los cristales amorfos de color amarillo se volvieron a disolver en etanol, luego se calentó y se filtró; el filtrado se dejó en reposo, después de dos tres se observó la formación de cristales de color amarillo en forma de agujas.

A.13. Pesado

Los cristales que se obtuvo después de la operación de recristalización se pesaron en balanza analítica OHAUSS, con las que se determinó el rendimiento de quercetina de *A. fistulosum* L.

3.3.2. Procedimiento y análisis de datos

Identificación por espectrometría UV-visible

Se disolvió 20mg de muestra en 10mL de metanol, esta disolución se dividió en alícuotas de 3,33mL.

La primera alícuota de metanol más muestra problema, se vertió sobre una cubeta de cuarzo de 1cm² y se depositó en el área de detección del espectrofotómetro UV-visible ÚNICO, que tiene un rango de longitud de onda entre 190-1100nm, junto a una cubeta que solo contiene metanol se encendió el equipo y se corrió la muestra; y se observa los valores de longitud de onda máxima (52), el espectro se muestra en anexo 3.

A la segunda alícuota se le agregó metilato de sodio, polvo blanco microscópico y explosivo, se tomó una pisco de esta sustancia con cuchara de plástico y se agregó a la alícuota de 3,33mL. Se pasó a una celda de cuarzo limpia y luego al espectrofotómetro, el espectro se muestra en el anexo 3.

Finalmente, a la última alícuota de 3,33mL, se incorporó una pisco de acetato de sodio, sólido higroscópico, se disolvió y esta disolución pasó a la celda de cuarzo y se puso en la cámara de muestras del espectrofotómetro UV-visible y se procede a correr la muestra apareciendo las longitudes de ondas máximas (52), el espectro se muestra en el anexo 3.

Características fisicoquímicas

Punto de fusión

Se empaqueta 2mg de la muestra golpeando suavemente el cubito de cristal, se introduce horizontalmente en la zona de calentamiento el tubito de cristal del equipo FISATOM 431 D 60 Hz rango 50 a 350 ° C, se observa por el ocular con aumento microscópico 4x, la evolución del calentamiento y la temperatura a la cual el sólido pasa al estado líquido (46), esta prueba se realizó tres veces.

Determinación del calor y forma del cristal

Se puso los cristales de la muestra sobre una placa de toque limpio y se tomó una lupa 10x18mm, se acercó al ojo derecho y se observó detenidamente los cristales, estas poseen un calor amarillo y tienen formas largas y puntiagudas semejantes a las agujas, que se conoce como cristales aciculares (39).

Solubilidad

En agua:

En el primer tubo de ensayo se pone 10mg de la sustancia de estudio, se agrega 3mL de agua destilada, se agita vigorosamente y se puso en reposo; se observa que los cristales no se disuelven (39).

En etanol:

En el segundo tubo de ensayo se pone 10mg de la sustancia de estudio y se agregó 3mL de etanol, se agito vigorosamente, se dejó en reposo; se observó una disolución completa de la sustancia de estudio (40).

En solución de hidróxido de sodio

Se preparó una solución de 0,1% de hidróxido de sodio, 0,1g de hidróxido de sodio disuelto en 100mL de agua. En el tercer tubo de ensayo se puso 10mg de la muestra de estudio y se agregó 3mL de la solución 0,1% de hidróxido de sodio preparada anteriormente, se agito vigorosamente y se dejó en reposo, se observó una disolución completa de la muestra de estudio (40).

Reacción colorida

Se tomó 3mg de la sustancia de estudio, se puso en una placa de toque y se agregó 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado, al disolverse la sustancia de estudio se tornó de color amarillo intenso (46).

Con revelador UV 254 nm.

Se preparó una plaquita de cromatografía de capa fina de silicagel, una muestra de aproximadamente 1mg se diluyó en amoniaco y con una micropipeta de Pasteur se aplicó una gota sobre la placa, se deja secar, se enciende el revelador UV 254 nm, se observó la plaquita, el spot aparece de color amarillo frente a la luz ultravioleta (52).

Determinación del valor de Rf en TLC

Se preparó una placa de silicagel de dimensiones 3 x 20cm, a 2cm de la base de la placa se trazó una línea con lápiz de grafito y sobre él se puso un spot, una solución de etanol con la muestra de estudio, se dejó secar. Previamente se preparó una mezcla de los siguientes solventes tolueno-cloroformo-acetona (40+25+35) y se llevó a la cámara cromatografía para saturar el interior de la cámara, luego se depositó la placa y se dejó correr cuando los solventes ascendieron a ½ de la placa, se quitó y dejó secar. Con una regla milimétrica se determinaron las distancias que recorrieron el solvente y el soluto (muestra problema), luego se utilizó la siguiente fórmula para determinar los valores Rf (48), el procedimiento del cálculo (ver anexo 4).

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida por el soluto}}{\text{Distancia recorrida por el solvente}} \times 100$$

Sobre placa de poliamida

Sobre una placa de poliamida de las mismas dimensiones que la de silicagel y bajo el mismo procedimiento, se corrió la muestra de estudio usando como solventes de corrido benceno-butanona-metanol (60+20+20), y con la fórmula señalada anteriormente se calculó el valor Rf (47), el procedimiento del cálculo (ver anexo 4).

Peso molecular por método de Rast

Para determinar el peso molecular se usó el método de Rast, porque la quercetina tiene una constantes crioscópica muy elevada y se emplea D-camphor, se trata pues de determinar la suma de las masas atómicas de los elementos que forman la molécula. Se tomó 50mg de la muestra de estudio, se añadió 0,5g de D- Camphor, se fundió la mezcla hasta que las dos sustancias se transformaron en un líquido transparente, para realizar esta operación se usó como fuente de calor mechero de Bunsen, se dejó enfriar para que se solidifique, este sólido se molió en un mortero hasta obtener partículas finas, se determinó su punto de fusión; también, se determinó el punto de fusión del D-camphor. Luego, con esos dos valores se determinó el punto de depresión del D-camphor (ΔT), que es la diferencia entre punto de fusión del D-camphor menos el punto de fusión de la

mezcla D-camphor y muestra de estudio, y el peso molecular de la sustancia se calcula con la siguiente formula (50).

$$M = \frac{39.7 \cdot w \cdot 100}{\Delta T \cdot W}$$

Dónde:

w = peso del compuesto en estudio.

W= peso del D-camphor

ΔT = depresión en el punto de fusión.

K= 39,7 constante molar de descenso del punto de fusión del D-camphor

M= peso molecular

El procedimiento del cálculo del peso molecular (ver anexo 5)

3.4. Aspectos éticos

La recolección de la muestra se hizo en tiempo de su cosecha a 4 meses de su siembra, tiempo en que los rizomas se hallan bien desarrollados, no se amenaza con su dinámica de propagación y desarrollo, porque una parte de la cosecha se queda como semilla vegetativa para que la producción esté asegurada permanentemente. No se realizó pruebas biológicas en animales y tampoco en seres humanos.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Rendimiento de quercetina

De 500g de bulbo pulverizado de *A. fistulosum* L. se obtuvo 2,4g de cristales en forma de agujas de color amarillo de quercetina, que expresado en forma porcentual es 0,48% (ver anexo 6).

4.2. Características fisicoquímicas

Los valores de los parámetros fisicoquímicos de quercetina aislada de *A. fistulosum* L. y de la muestra estándar, se muestra en la tabla 1

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de quercetina aislada de *A. fistulosum* L. y muestra estándar

Propiedades fisicoquímicas	Quercetina aislada de <i>A. fistulosum</i> L.	Quercetina estándar
Punto de fusión	312°C.	312°C (46)
Color y forma	Amarillo y monocíclico (agujas)	Amarrillo y monocíclico (agujas) (39)
Solubilidad	Etanol, solución de hidróxido de sodio.	Etanol, solución de hidróxido de sodio (40)
Reacción colorida en: Ácido sulfúrico	Amarillo	Amarrillo (46)
Revelador UV 254 nm (amoniac)	Amarillo	Amarillo (52)
Valor Rf en silicagel: [Tolueno-cloroformo-acetona]	0,27	0,27 (47)
Valor Rf en poliamida: [Benceno-butanona-metanol]	0,08	0,08 (45)
Peso molecular (método RAST)	338,160 g/mol	339,236 g/mol (50)

4.3. Características espectrométricas

Las de longitudes de onda de absorción máxima de la quercetina aislada de *A. fistulosum* L. y de muestra auténtica en diversos solventes se muestra en la

siguiente tabla.

Tabla 2. Espectros de quercetina aislada de *A. fistulosum* L. y muestra estándar

Espectro en UV/visible	Quercetina aislada ($\lambda_{m\acute{a}x}$)	Quercetina estándar ($\lambda_{m\acute{a}x}$)
MeOH	255, 269 sh, 301 sh, 370nm	255, 260 Sh 301 Sh, 370nm
MeOH: NaOCH ₃	247 sh, 321nm	(52)
MeOH: NaOAc	257 sh, 274, 329, 390nm	247 sh, 321nm (52,53) 257 sh, 274, 329, 390nm (52,53)

sh=hombro; MeOH= metanol; NaOAc= acetato de sodio (CH₃COONa); NaOCH₃= metilato de sodio

En el barrido de las longitudes de onda de la muestra disuelta en metanol, mostró las siguientes longitudes de onda: 255, 269 sh, 301 sh, 370nm, pero en MeOH más metilato de sodio se desplazó hacia la izquierda, efecto hipsocrómico, mientras que MeOH más acetato de sodio se desplazó a la derecha produciéndose un efecto batocrómico.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

La quercetina se extrajo del bulbo de *A. fistulosum* L. por método convencional, se usó solventes como etanol, éter de petróleo y sustancias de absorción como la calcita (diatomeras) y carbón activado (norita). Además, la quercetina es más fácil de extraer del bulbo de *A. fistulosum* L. que del bulbo de *Allium cepa* por contener antocianinas (27,56). También, la quercetina fue aislada usando una solución de etanol en ácido sulfúrico, éter de petróleo, solución de tetraborato de sodio y solución ácida (46). La diferencia que existe entre estos dos métodos usados para extraer la quercetina, es el uso de solventes para la extracción y compuestos de absorción, en nuestro estudio se usó solamente etanol para la maceración, calcita y carbón activado para separar compuestos como el ácido sulfhídrico, dipropildisulfuro y alilpropildisulfuro, mientras que (46) usó solución de etanol más ácido sulfúrico para la maceración, solución ácida y tetraborato de sodio en las que está involucrado procesos físicos y químicos, esto aumenta etapas y tiempo para la extracción del producto, aumentando el costo de producto final. Entre tanto, el método que se usó en nuestro estudio, las etapas y tiempo de extracción del compuesto es menor, comparativamente es más adecuado para extraer quercetina de *A. fistulosum* L.

Por otra parte, quercetina fue aislada usando otros métodos como nanofiltración y ósmosis inversa (24), extracción asistida por ultrasonido (22,49), por adsorción selectiva por el polímero impreso molecularmente en la superficie sol-gel (57). También, quercetina se puede extraer por cromatografía de papel (47) y por cromatografía de capa fina (TLC) (47). Estos métodos solo son viables a nivel de laboratorio con fines analíticos de identificación, pero es viable para ser extrapolado y extraer la quercetina a nivel industrial.

La quercetina fue aislada de otras especies de plantas como *Rubus fruticosus* (24); de *Dendrobium officinal* (49); de los frutos de *Aesculus indica* (25); de semilla de *Pisum sativum* (guisante), de la raíz de *Daucus carota* (zanahoria), del brote de *Brassica oleracea* (repollo), de la flor de *Brassica oleracea* (coliflor), de hojas de *Spinacia oleracea* (espinaca), de la raíz de *Brassica rapa* (nabo), del

bulbo de *Allium cepa* (cebolla), de los dientes de *Allium sativum* (ajo), de la rizoma de *Zingiber cassumunar* (jengibre), manzana, ciruela, albaricoque, fresa, mora, corteza de *Eugenia jambolana* Lam, corteza de Acacia nilótica, corteza de *Azadirachta indica*, corteza de *Terminalia arjuna*, hojas y raíz de *Moringa oleífera*, frutos de *Ficus religiosa* y hojas de *Aloe barbadensis* (12).

Respecto al porcentaje, en *A. fistulosum* L. de Loreto se ha encontrado un rendimiento de 0,48%, mientras que, en diferentes zonas de China se encontró que el contenido de quercetina varía desde 186mg a 305mg por kilogramo de muestra (30). Además, por extracción ultrasónica de *A. fistulosum* L. se ha encontrado que la concentración de quercetina fue de 0,55 mg/kg, pero como quercetina-3-glucósido fue de 4,4 mg/kg (22). Se observa que, el contenido de quercetina en *A. fistulosum* L. varía de acuerdo a la zona donde se desarrolla como señala (30), las especies que crecen en china tiene menor contenido de quercetina que la especie que crece en la amazonia. Por otra parte, de *Allium cepa* (cebolla roja) se extrajo 127,54mg/g de flavonoides totales expresados en quercetina (58), pero también, se ha aislado 206,1617ppm de quercetina con el uso de ultrasonido, vortex y centrifuga (56); se observa que (58) solo realizó una extracción alcohólica- acuosa de la cebolla roja y es fácil deducir que extrajo todo los flavonoides que pudieron acompañar a quercetina tales como kamphoral e isoramnatina incluyendo la presencia de antocianinas que contiene la cebolla roja (52), luego determinó por espectrometría UV-visible los flavonoides expresados en quercetina; pero nuestro estudio cualitativamente es más completo porque ha cuantificado gravimétricamente la quercetina pura que fue aislada y purificada y luego identificado por espectroscopia UV-visible y por caracterización fisicoquímica midiendo los parámetros que le dan las cualidad propias y su singularidad a esta molécula.

De otro lado, se aisló quercetina de otras especies, por ejemplo, de tres variedades de manzanas, la concentración fluctúa entre 0,9 a 1,5 mg/g (42), pero también, se ha extraído quercetina de *Dendrobium officinale*, la cantidad extraída fue de 2,506-2,594 µg/g (49). En lo que respecta a las cantidades de quercetina

que tiene las manzanas y *A. fistulosum* L. son casi similares, mientras que *D. officinale* tiene menor cantidad de quercetina que estas dos especies.

En lo referente a las propiedades físicas generales, la quercetina aislada de *A. fistulosum* L. tiene forma monocíclica (agujas) y de color amarillo, asimismo, Nathiya señala las mismas características como cristales amarillos (59). Además, la literatura señala que la quercetina son cristales amarillos y monocíclicos (39). Por otra parte, el análisis cualitativo, en luz ultravioleta en vapor de amoniaco muestra coloración amarilla (52,60). Las propiedades físicas observadas en este estudio son coincidentes con la información que señala la literatura.

La solubilidad evaluada de quercetina aislada de *A. fistulosum* L. es similar con lo que señala la información científica (40), además, esta propiedad fue evaluada por Nathiya y señala que es ligeramente soluble en éter dietílico, en etanol acetona (59). Por otra parte, como la quercetina tiene múltiples propiedades benéficas para la salud (59), la investigación está enfocada en buscar que la molécula de quercetina sea más soluble, porque es insoluble en agua, para lo cual se está realizando la fabricación de nano cristales por homogenización a presiones altas (59,61), estas nano partículas serán usados para preparar fármacos que serán más solubles que los cristales naturales.

En cuanto a la identificación en cromatografía TLC, los valores Rf que se determinó de la quercetina aislada de *A. fistulosum* L. en Silicagel y como solvente, la mezcla de tolueno: cloroformo: acetona fue similar al de la quercetina pura (47), asimismo, en poliamida como solvente, la mezcla de benceno: butanona: metanol fue similar a la muestra pura de quercetina (45). Por otra parte, Selvaraj et al. encontró el valor de Rf de quercetina aislada de *Azolla microphylla* de 0,45 en acetato de etilo: n-butanol: agua; 0,84 en acetato de etilo: ácido acético: agua y 0,53 en benceno: ácido acético: agua (60). Estos valores difieren al de nuestro estudio porque los reactivos usados son diferentes, esto implica que el tipo de solvente usado como fase móvil influye en el desplazamiento del soluto sobre una fase estacionaria.

Los espectros de absorción de quercetina aislada de *A. fistulosum* L. en UV/visible en solución de metanol mostró longitudes de onda entre 255 a 370nm similar al reportado por la literatura para una muestra estándar (52), en solución de metanol: metilato de sodio en 247 y 321nm y en solución de metanol: acetato de sodio entre 257 a 390nm de longitud de onda, también estos valores son coincidentes con el valor de la quercetina pura (52,53). Además, la quercetina aislada de frutos de *Aesculus indica* mediante análisis HPLC mostró un pico de absorción máxima en 10,062 minutos (25) y 3,4 minutos de la quercetina aislada de *Azolla microphylla* (60). Los tiempos indicados en la identificación de quercetina de ambos estudios difieren uno del otro, estas diferencias pueden estar relacionadas con el uso de solvente usado para la identificación y la sensibilidad del equipo usado respectivamente.

En lo referente al peso molecular, la quercetina aislada de *A. fistulosum* L. con el uso del método de Rast fue similar al reportado en la literatura (50) con un error de 0,022%, por otra parte, usando análisis más sofisticado como el NRM-H (25,60) determinaron el peso molecular y la estructura molecular con mayor precisión, pero también, fue determinado por RMN 1D y 2D de alto campo y ESI-MS (62). Estos métodos de identificación de la estructura molecular son mucho más precisos para identificar el compuesto, mientras que, el método que se usó nos sirve para identificar el componente por comparación de la muestra estándar reportado en la bibliografía.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

El principio activo aislado por el método diseñado en el curso de nuestro estudio fue de color amarillo y estructura cristalina en forma de agujas, los análisis realizados por espectroscopia UV-visible, así como por su caracterización fisicoquímica son concordantes con lo que señala la literatura.

En cuanto al rendimiento de quercetina de *A. fistulosum* L. que se encontró de la especie en la región Loreto, es similar reportado para esta especie en otros países del mundo, pero existe una pequeña diferencia del contenido de quercetina de acuerdo a la zona donde se desarrollan.

El método que se usó para aislar y purificar la quercetina de *A. fistulosum* L. es viable para procesar la materia prima en cantidades mucho mayores y puede ser fácilmente extrapolable, si se pretende diseñar una planta piloto, así como sobredimensionarlo en el diseño de una planta para procesamiento industrial de quercetina.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

Incentivar el cultivo intensivo de *A. fistulosum* L., como cultivo alternativo a la cebolla (*Allium Cepa* L.) que no crece en el amazonia baja y por esta razón toda la cebolla que se consume en la selva proviene de los departamentos de Arequipa, Cuzco, Lambayeque, Junín y Piura.

A. fistulosum L. por ser la única especie de cebolla adaptables a las condiciones climáticas como de la región Loreto, introducir esta planta en el jardín botánico de la facultad de Farmacia y Bioquímica e incentivar a la Facultad de Agronomía que promueva su sembrío en las zonas aluviales del Amazonas y de los demás ríos de la región Loreto.

CAPÍTULO VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wang S, Dong G, Sheng C. Structural Simplification of Natural Products. *Chem Rev.* 2019;119(6):4180-220.
2. Anand David AV, Arulmoli R, Parasuraman S. Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. *Pharmacogn Rev.* 2016;10(20):84-9.
3. Lustre Sánchez H. Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. *Rev Digit Univ.* 2022;23(2).
4. Sepúlveda Jiménez G, Porta Ducoing H, Rocha Sosa M. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Rev Mex Fitopatol [Internet].* 2003;21(3):355-63. Available from: <http://redalyc.uaemex.mx>
5. Dong Y, Cheng Z, Meng H, Liu H, Wu C, Khan AR. The effect of cultivar, sowing date and transplant location in field on bolting of Welsh onion (*Allium fistulosum* L.). *BMC Plant Biol.* 2013;13(1):1-12.
6. Ford-Lloyd B V., Armstrong SJ. Welsh onion. In: *Genetic Improvement of Vegetable Crops [Internet].* Pergamon Press Ltd; 1993. p. 51-8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-040826-2.50009-6>
7. Fritsch RM, Friesen N. Evolution, domestication and taxonomy. *Allium Crop Sci Recent Adv.* 2002;5-30.
8. Chen JH, Chen H ing, Wang JS, Tsai SJ, Jen CJ. Effects of welsh onion extracts on human platelet function in vitro. *Life Sci.* 2000;66(17):1571-9.
9. Sang S, Lao A, Wang Y, Chin CK, Rosen RT, Ho CT. Antifungal constituents from the seeds of *Allium fistulosum* L. *J Agric Food Chem.* 2002;50(22):6318-21.
10. Yamamoto Y, Aoyama S, Hamaguchi N, Rhi GS. Antioxidative and antihypertensive effects of Welsh onion on rats fed with a high-fat high-sucrose diet. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2005;69(7):1311-7.
11. Bogdan AT, Silviu Moldovan C, Toma VA, Daniela Farcas A, Cătălin Mot A, Fischer-Fodor E, et al. Phytochemical analysis and in vitro effects of allium fistulosum L. And allium sativum L. extracts on human normal and tumor cell lines: A comparative study. *Molecules.* 2021;26(3):1-19.
12. Sultana B, Anwar F. Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. *Food Chem.* 2008;108(3):879-84.
13. Alam A, Al Arif Jahan A, Bari MS, Khandokar L, Mahmud MH, Junaid M, et al. Allium vegetables: Traditional uses, phytoconstituents, and beneficial effects in inflammation and cancer. *Crit Rev Food Sci Nutr [Internet].* 2022;0(0):1-35. Available from: <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2036094>

14. Deng S, Palu AK, West BJ, Su CX, Zhou BN, Jensen JC. Lipoxygenase inhibitory constituents of the fruits of noni (*Morinda citrifolia*) collected in Tahiti. *J Nat Prod.* 2007;70(5):859-62.
15. Prasad VGNV, krishna BV, Swamy PL, Rao TS, Rao GS. Antibacterial synergy between quercetin and polyphenolic acids against bacterial pathogens of fish. *Asian Pacific J Trop Dis.* 2014;4(S1):326-9.
16. Formica J V., Regelson W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem Toxicol.* 1995;33(12):1061-80.
17. Morales Martín AI, Vicente-Sánchez C, Santiago Sandoval JM, Fernández Tagarro M, López-Novoa JM, Pérez-Barriocanal F. Efecto de la quercetina sobre la nefrotoxicidad producida por cadmio. *Rev Toxicol.* 2004;21(1):23- 30.
18. Duke AJ, Vásquez R. *Amazonian ethnobotanical dictionary.* Raton B, editor. USA; 1994.
19. Xing J, Zhu M, Wang Y, Liu H. The complete mitochondrial genome of *Allium fistulosum* L. (Amaryllidaceae). *Mitochondrial DNA Part B Resour [Internet].* 2023;8(8):890-4. Available from: <https://doi.org/10.1080/23802359.2023.2248684>
20. Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF, Donoghue MJ. *Plant Systematics: A Phylogenetic Approach Hardcover.* Segunda. 2002.
21. Mandey JS, Sompie M, Pontoh CJ, Rarumangkay J, Wolayan FR. Nutrient and phytochemicals of welsh onion (*Allium fistulosum* L .) and their importance in nutrition of poultry in the future – A review. *Anim Sci.* 2022;65(1):170-9.
22. Medina-Jaramillo C, Gomez-Delgado E, López-Córdoba A. Improvement of the ultrasound-assisted extraction of polyphenols from welsh onion (*Allium fistulosum*) leaves using response surface methodology. *Foods.* 2022;11(16).
23. Hakim A, Jamaludidin, Loka IN, Hajar S, Junaidi E. Isolation and confirmation of quercetin-3-O-glycosides from Rubber cassava leaves. *Nat Resour.* 2020;11(1):420-5.
24. Zahoor M, Shah AB, Naz S, Ullah R, Bari A, Mahmood HM. Isolation of quercetin from *rubus fruticosus*, their concentration through NF/RO membranes, and recovery through carbon nanocomposite. A pilot plant study. *Biomed Res Int.* 2020;2020:1-7.
25. Zahoor M, Shafiq S, Ullah H, Sadiq A, Ullah F. Isolation of quercetin and mandelic acid from *Aesculus indica* fruit and their biological activities. *BMC Biochem.* 2018;19(1):1-14.
26. Jae Kwang Kim, Sang Un Park. Quercetin and its role in biologicla functions: An updated review. *EXCLI J.* 2018;17:856-63.
27. Jerez-Vilte AA, Díaz- de Oropeza Matínez R, Vargas-Mendoza M, Ramírez-

- Villa NS. Estudio de las propiedades benéficas en la cebolla (*Allium Cepa* L.) en el departamento de Tarija. *Vent Cient.* 2017;8(13):7-12.
28. Zhao L, Zhang Q, Ma W, Tian F, Shen H, Zhou M. A combination of quercetin and resveratrol reduces obesity in high-fat diet-fed rats by modulation of gut microbiota. *Food Funct.* 2017;8(12):4644-56.
 29. Packia Lekshmi N, Viveka S, Viswanathan MB, Mini Shobi T, Jeeva S, Raja Brindha J. High performance thin layer chromatography profile of quercetin in three cultivars of *Allium cepa* and its antimicrobial activity against bacterial cultures. *Asian J Pharm Clin Res.* 2015;8(3):213-8.
 30. Feng X, Liu W. Variation of quercetin content in different tissues of welsh onion (*Allium fistulosum* L.). *African J Agric Res.* 2011;6(26):5675-9.
 31. Patil BS, Pike LM, Yoo KS. Variation in the quercetin content in different colored onions (*Allium cepa* L.). *J Am Soc Hortic Sci.* 1995;120(6):909-13.
 32. Cronquist AJ. *The Evolution and Classification of Flowering Plants.* New York: Garden TNYBU; 1988.
 33. Rabinowitch HD, Brewster JL. *Onions and Allied Crops: Volumen III.* primera ed. Routledge; 1990.
 34. Salifu B, Atongi AA, Yeboah S. Efficacy of spring onion (*Allium fistulosum*) leaf extract for controlling major field insect pests of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) in the guinea savannah Agroecological zone of Ghana. *J Entomol Zool Stud.* 2019;7(1):730-3.
 35. Meyer Torres G, Gil D, Cano ÁL, Sosa Benavides Y. Evaluación de la capacidad antioxidante de la quercetina a partir del extracto natural de cebolla roja ocañera (*Allilium cepa* l) y manzana roja (*Pyrus malus* l var. red delicious) en aceite de palma refinado tipo industrial en condiciones de calentamiento. *Publicaciones e Investig.* 2010;4(1):13.
 36. Lunte SM. Structural classification of flavonoids in beverages by liquid chromatography with ultraviolet-visible and electrochemical detection. *J Chromatogr A.* 1987;384(C):371-82.
 37. Cartaya O, Reynaldo I. Reseña bibliográfica flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultiv Trop.* 2001;22(2):5-14.
 38. Dey PM, Harborne JB. *Plant biochemistry.* Dey PM, Harborne JB, editors. Elsevier; 1997.
 39. Alberto Marco J. *Química de los productos naturales.* S.A S, editor. Madrid - España; 2006. 288 p.
 40. Stecher PG. *The Merck Index.* Sixth prin. Merck, editor. New York: Merck y CO, Inc, Rahway N.Y USA; 1975.
 41. Harborne JB. *Phytochemical methods.* Chapman AH, editor. London; 1973.
 42. Navarro Cruz AR, Vera López O, Muñoz Bedolla R, Melgoza Palma N,

- Lazcano Hernández M, Gómez Crisóstomos MR, et al. Estudio de la concentración de quercetina en las variedades de manzana (*Malus domestica*) fuji , red delicious y delicia. In: XII Congreso nacional de ciencia y tecnología de alimentos. Guanajuato México: Universidad de Guanajuato; 2010. p. 1151-7.
43. Fitzpatrick DF, Hirschfield SL, Coffey RG. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol.* 1993;265(2 34-2):H774-8.
 44. Herrmann K. Flavones and flavonols in food plantas: a review. *Journal Food Sci Technol.* 1976;11(5):433-348.
 45. Yang JY, Della-Fera MA, Rayalam S, Ambati S, Hartzell DL, Park HJ, et al. Enhanced inhibition of adipogenesis and induction of apoptosis in 3T3-L1 adipocytes with combinations of resveratrol and quercetin. *Life Sci.* 2008;82(19-20):1032-9.
 46. Dominguez Sepúlveda XA. Métodos de investigación fitoquímica. Primera Ed. Mexico: Limusa; 1979. 281 p.
 47. Ikan R. Natural Products A Laboratory Guide. Segunda Ed. Academic Press; 1991. 360 p.
 48. Stahl E. Thin layer chromatography: A laboratory handbook. Segunda Ed. Verlag S, editor. Berlin: Heidelberg. New York; 1969.
 49. Zhu Y, Yu J, Jiao C, Tong J, Zhang L, Chang Y, et al. Optimization of quercetin extraction method in *Dendrobium officinale* by response surface methodology. *Heliyon* [Internet]. 2019;5(9):1-8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02374>
 50. Shriner RL, Fuson R c., Curtin DY. Identificación sistemática de compuestos orgánicos [Internet]. Tercera Ed. Mexico: Editorial Limusa; 1977. 440 p. Available from: [https://books.google.com/books/about/Identificación_sistemática_de_compu est.html?hl=es&id=fwoEPQAACAAJ](https://books.google.com/books/about/Identificación_sistemática_de_compu_est.html?hl=es&id=fwoEPQAACAAJ)
 51. Silverstain RM, Bessler GC, Morril TC. Identificación espectrométrica de compuestos orgánicos. Primera Ed. México: Editorial Diana; 1980.
 52. Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. The systematic identification of flavonoids. Primera ed. Spring-Verlag. New York: primg-Verlag; 1970. 320 p.
 53. Martínez AM. Flavonoides. Doctor. Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia; 2005. p. 76.
 54. Estrada-Reyes R, Ubaldo-Suárez D, Araujo-Escalona AG. Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central. *Salud Ment.* 2012;35(5):375-84.
 55. Hernandez Sampieri R, Fernandez Collado C, Baptista Lucio M del P. Metodología de la investigación. Quinta Edi. Interamericana Editores SADC., editor. México: McGraw Hill; 2010. 656 p.

56. Fajardo-romero A, Arroyo-rivera Á, Ramírez-navas JS. Extracción de flavonoides totales de la envoltura externa de cebolla roja (*Allium cepa*). Rev UGCiencia. 2016;22:119-26.
57. Zhi K, Li Z, Luo H, Ding Y, Chen F, Tan Y, et al. Selective adsorption of quercetin by the sol-gel surface molecularly imprinted polymer. *Polymers (Basel)*. 2023;15(4).
58. Terrones Rodríguez EA. Extracción de flavonoides de la cebolla roja (*Allium cepa*) en un equipo soxhlet con mezcla de solventes etanol-agua [Internet]. Universidad Nacional del Callao. Universidad Nacional del Callao; 2018. Available from: https://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/3881/TERRONES_RODRIGUEZ_PREGRADO_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y
59. Nathiya S, Durga M, Devasena T. Quercetin, encapsulated quercetin and its application- A review. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2014;6(10):20-6.
60. Selvaraj K, Chowdhury R, Bhattacharjee C. Isolation and structural elucidation of flavonoids from aquatic fern *Azolla microphylla* and evaluation of free radical scavenging activity. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2013;5(SUPPL 3):743-9.
61. Sahoo NG, Kakran M, Shaal LA, Müller RH, Pal M, Tan LP. Preparation and characterization of quercetin nanocrystals. *J Pharm Sci*. 2012;100(6):2379-90.
62. Güvenalpl Z, Demirezer ÖL. Flavonol Glycosides from *Asperula arvensis* L. *Turkish J Chem* [Internet]. 2005;29(2):163-9. Available from: <https://journals.tubitak.gov.tr/chem/ vol29/iss2/7%0AThis>

ANEXO N° 1. Recolección de muestra



ANEXO N° 2. Identificación botánica de la especie



UNAP

Centro de Investigación de
Recursos Naturales
Herbarium Amazonense — AMAZ

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO
CÓDIGO DE AUTORIZACIÓN AUT-ICND-2017-005

CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN BOTÁNICA n.º 055-2023 AMAZ-UNAP

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del Centro de Investigación de Recursos Naturales (CIRNA), de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.

HACE CONSTAR:

Que, la muestra botánica presentada por SIOMARA GERALDINE GUERRA TRAUCO Y ROMEL GUERRA RIVAS, bachilleres de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana pertenece al proyecto de tesis de pre grado titulado "AISLAMIENTO DE QUERCETINA DE *Allium fistulosum* E IDENTIFICACIÓN MEDIANTE ESPECTROSCOPIA UV-VISIBLE Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA"; ha sido DETERMINADA en este centro de investigación y enseñanza Herbarium Amazonense-AMAZ-CIRNA-UNAP, como se indica a continuación:

N°	FAMILIA	ESPECIE	AUTOR	NOMBRE COMÚN
01	AMARYLLIDACEAE	<i>Allium fistulosum</i>	L.	"cebolla china"

Determinador: Ing. Juan Celidonio Ruiz Macedo

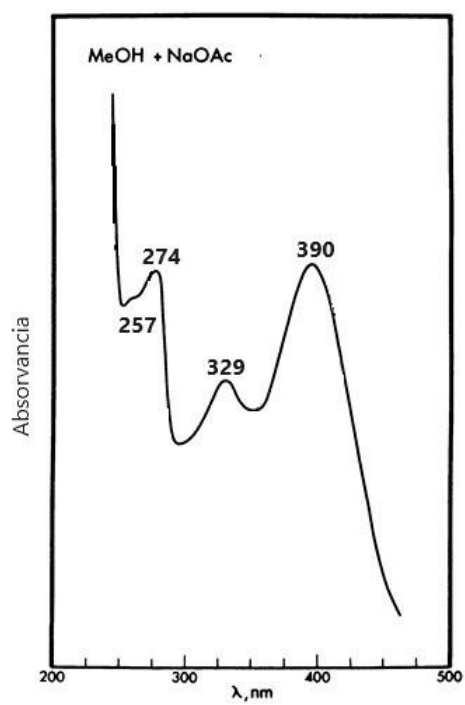
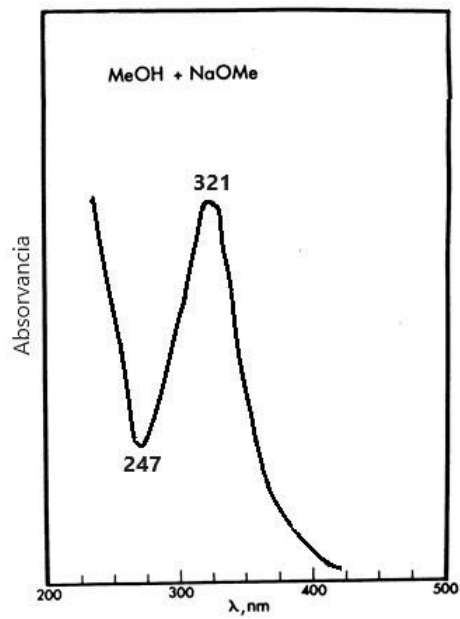
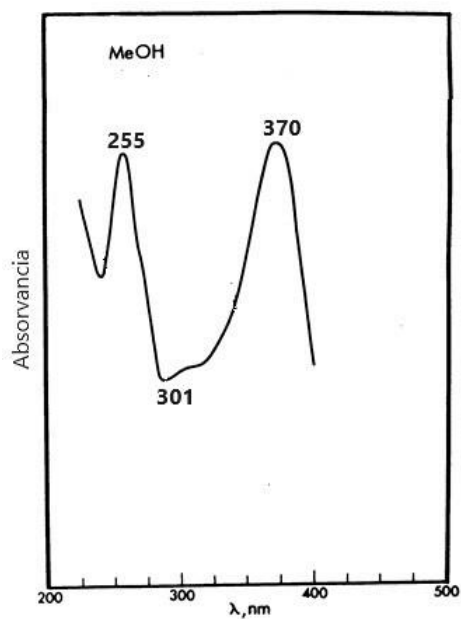
A los cinco días del mes de octubre del año dos mil veintitrés, se expide la presente constancia a los interesados para los fines que se estime conveniente.

Atentamente,


Richard J. Huaranga Acostupa
Coordinador Herbarium Amazonense
CIRNA - UNAP



ANEXO Nº 3. Espectro de quercetina



ANEXO Nº 4. Determinación de los vales Rf de quercetina

Cromatografía en TCL

- A. Sobre el absorbente silicagel, se usó una mezcla de solventes de desplazamiento y resolución [tolueno: cloroformo: acetona] (40+25+35). Los valores de las distancias corridas por el soluto y solvente fueron las siguientes:

Distancia de recorrido del soluto 4,725cm

Distancia de recorrido del solvente 17,50cm

$$R_f = \frac{\text{Distancia de corrida del soluto}}{\text{Distancia de corrida del solvente}} \cdot 100$$

$$R_f = \frac{4,725}{17,50} \cdot 100 = 27$$

- B. Sobre absorbente poliamida, como solvente de resolución se usó una mezcla de solventes [benceno: butanona: metanol] (60+20+20). Los valores de las distancias corridas por el soluto y solvente fueron las siguientes:

Distancia de corrido del soluto 1,40cm

Distancia de corrido del solvente 17,50cm

$$R_f = \frac{\text{Distancia de corrida del soluto}}{\text{Distancia de corrida del solvente}} \cdot 100$$

$$R_f = \frac{1,40}{17,50} \cdot 100 = 8$$

ANEXO N° 5. Determinación del peso molecular de quercetina

Punto de fusión de la mezcla D-camphor y muestra de estudio: 169,26°C

Punto de fusión del D-camphor: 181,00°C

Se halla la diferencia del punto de fusión

$$\Delta T = 181,00 - 169,26 = 11,74$$

Aplicando la formula

$$M = \frac{k \cdot p \cdot 1000}{\Delta T \cdot P}$$

Sabiendo que

K= Depresión molar del D-camphor 39,7

w= peso de la muestra 50mg= 0,05g

W= peso del D-camphor 0,5g

$$\Delta T = 11,74$$

$$M = \frac{39,7 \cdot 0,05 \cdot 1000}{11,74 \cdot 0,5} = \frac{1985}{6,983} = 338,160$$

$$M = 338,160 \text{ g/mol}$$

El porcentaje de error es la relación entre el peso molecular de quercetina experimental 338,160 g/mol menos el peso molecular IUPAC 338,236 g/mol

$$\%Error = \left(\frac{\text{Peso molecular IUPAC} - \text{Peso molecular experimental}}{\text{Peso molecular IUPAC}} \right) \cdot 100$$

$$\%Error = \frac{338,236 - 338,160}{338,236} \times 100 = \frac{7,60}{338,236} = 0,022$$

El margen de error es de $\pm 0,022$ un margen de error relativamente bajo.

ANEXO Nº 6. Cálculo de rendimiento de quercetina

Se calcula estableciendo una relación porcentual entre el peso de quercetina obtenida sobre el peso de la materia prima usado.

Peso quercetina: 2,84g

Peso de materia prima: 500g

$$\text{rendimiento} = \frac{\text{Peso de quercetina obtenida}}{\text{Peso de la materia prima}} \cdot 100$$

:

$$\text{rendimiento} = \frac{2,84 \text{ g}}{500 \text{ g}} \cdot 100 = 0,57\%$$