

CARACTERIZACIÓN DE LOS EXTRACTOS OBTENIDOS A PARTIR DEL FOLLAJE DE *PINUS CARIBAEA* MORELET VAR. *CARIBAEA* BARRET Y GOLFARI, Y *PINUS TROPICALIS* MORELET

LIC. HUMBERTO GARCÍA CORRALES,¹ ING. NOEMI MARTÍNEZ VENTO,² DR. ROLANDO QUERT ÁLVAREZ,³ M. SC. MARÍA A. GUYAT DUPUY,¹ LIC. IDALMIS ACOSTA MOREJÓN,¹ Y T.M. VILMA CAPOTE PÉREZ¹

¹ Instituto de Investigaciones Forestales. Calle 174 no. 1723 e/ 17B y 17C, Rpto. Siboney, Playa, La Habana, humberto@forestales.co.cu

² Estación Experimental Forestal Viñales. Km 20, Carretera a Viñales, Pinar del Río

³ Instituto Superior de Tecnologías y Ciencias Aplicadas (ISTEC). Quinta de los Molinos, Avenida Salvador Allende, Plaza de la Revolución, La Habana

RESUMEN

En este trabajo se presentan los resultados del estudio de la composición química del follaje de Pinus caribaea Morelet var. caribaea Barret y Golfari, y Pinus tropicalis Morelet de la provincia de Pinar del Río, Cuba, a través de la obtención de extractos alcohólicos naturales con el objetivo de conocer sus posibilidades de empleo en la medicina, la producción y confección de nuevos productos forestales no maderables y la alimentación animal.

Se determinó la presencia de un grupo importante de metabolitos secundarios mediante un tamizaje fitoquímico en diferentes meses de un año desde julio de 1998 hasta junio de 1999. Se cuantifica el contenido de celulosa, lignina y extractivos en agua caliente en el follaje de ambas especies, siendo los valores para el Pinus tropicalis Morelet los más altos.

Se hace una cuantificación de los carotenos, clorofilas a y b por espectroscopia UV para ambas especies, y la determinación de vitaminas

ABSTRACT

This work shows the results of the chemical composition study of Pinus caribaea Morelet var. caribaea Barret y Golfari and Pinus tropicalis Morelet foliage from Pinar del Río province, Cuba, through the natural alcohols extracts obtainment with the purpose of the know the possibilities to use these in medicine, production and obtaining of new no wood forests products and also in animal food.

Important secondary metabolites were determined by phytochemical screening in different months of one year, since July 1998 to June 1999. The contents of cellulose, lignin and hot water extractives were quantified in the foliage of both species. The best values were to Pinus tropicalis Morelet.

Carotenes and chlorophyll a & b were quantified by UV spectroscopic to both species, C and E vitamins were determined. D vitamin was qualified by thin layer chromatography.

C y E, así como la determinación cualitativa de vitamina D por cromatografía de placa delgada.

Palabras clave: Pinus, caracterización química, extractivos, follaje, vitaminas.

Key words: Pinus, chemical characterization, extractives, foliage, vitamins.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años la idea de que los bosques valen únicamente como fuentes de madera en un contexto macroeconómico ha cambiado en presencia de pruebas abrumadoras de lo contrario, combinadas con la creciente preocupación de proporcionar utilidades de manera sostenida tanto en el plano local como nacional. Hoy es evidente que los bosques proveen otros beneficios, además de la madera [Montalembert, 1991].

Actualmente del bosque se extraen una serie de productos forestales no maderables (PFNM) de gran importancia económica, industrial y social. Desde tiempos remotos del bosque se extraía una gran cantidad de productos con fines medicamentosos, ornamentales, etc. Se conoce que una tonelada de PFNM genera valores equivalentes a 2,5 t de madera [Becker, 1992]; pero esta utilización se hacía y actualmente se hace en muchos casos sin un conocimiento profundo de la composición química de la parte del bosque utilizada. Para ello es necesario emprender un amplio y largo camino en la caracterización química del bosque que permita poder darle a cada PFNM el uso que verdaderamente tenga en la medicina, la industria, la cosmología, etc.

El follaje es un recurso forestal de gran valor por su composición quími-

ca. Hoy en algunos países constituye un residuo que queda en el bosque después del aprovechamiento. En Cuba se han realizado trabajos de investigación con vistas al aprovechamiento del follaje de pino en la obtención de aceites esenciales, extractos y harina vitamínica, y se han brindado reportes acerca de la composición, rendimientos y valor comercial de estos productos [Leyva y col., 1989, 1990; Quert y col., 1995], así como resultados relevantes de la acción antimicótica del aceite esencial obtenido a partir del *Pinus caribaea* (Duarte y col., 1992].

Sin embargo, las posibilidades y utilidades del follaje verde de especies forestales de acuerdo con las potencialidades de aprovechamiento de la biomasa de copa de coníferas, según Vidal (1995), han sido poco explotadas. La posibilidad de su empleo como fuente de materia prima para la industria médico-farmacéutica y la alimentación animal adquiere gran interés, teniendo en cuenta los contenidos de carotenos, clorofilas, vitaminas y otros compuestos que pueden estar presentes en él. Es objetivo de esta etapa de investigación caracterizar químicamente los extractos naturales obtenidos a partir del follaje verde de *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* Barret y Golfari, y *Pinus tropicalis* Morelet, y valorar

sus potencialidades como fuente de materia prima para la industria médico-farmacéutica, como suplemento en la dieta animal, en la medicina veterinaria y como fuente de obtención de otros PFNM.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en plantaciones de *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* Barret y Golfari, y *Pinus tropicalis* Morelet, pertenecientes a la Estación Experimental Forestal Viñales, localizadas en la Cordillera de Guaniguanico en la provincia de Pinar del Río, Cuba.

Recolección de la muestra

Las muestras fueron tomadas mediante muestreo aleatorio simple en ambas especies, en árboles mayores de 20 años. El follaje se colectó de la parte media inferior de la longitud total de copa. El experimento se realizó desde julio de 1998 hasta junio de 1999.

Preparación de la muestra de ensayo

El material recolectado se desmenuzó en forma de ramas, y las acículas se separaron de la parte leñosa. Las acículas fueron secadas a 105°C durante cuatro horas en estufa de circulación de aire y molinadas en un molino de martillo con un tamiz de 2-5 mm de diámetro.

Obtención de extractos naturales

Se colocaron 25 g de material vegetal en un equipo Soxhlet con el etanol al 96% en una relación m/V de 1:10. La extracción sólido-líquido en ca-

liente se efectuó durante cuatro horas, al cabo de lo cual se obtuvo un extracto natural.

Tamizaje fitoquímico

Para el tamizaje fitoquímico se utilizó el procedimiento normalizado de operaciones (PNO 2/98) del Laboratorio de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones Forestales de Cuba.

Determinación de caroteno y derivados de clorofilas

Los derivados de clorofila y caroteno fueron determinados a través de la Norma Gost 21802/84.

Determinación de vitamina D

La determinación de vitamina D se realizó por cromatografía de placa delgada (CPD). Se usó como fase estacionaria Silicagel F₂₅₄, y fase móvil una mezcla de ciclohexano-éter dietílico (4:1) según Strohecker (1967).

Determinación de vitaminas C y E

La determinación de las vitaminas E (α -tocoferol) y C (ácido ascórbico) se efectuó a través de las técnicas desarrolladas por Osuna-García *et al.* (1998).

Determinación de celulosa, lignina y extractivos en agua caliente

Celulosa (%): Norma 13496-2-75 [Yagodin, 1981], con mezcla de ácido nítrico-ácido acético (2:9).

Lignina (%): Método Estándar TAPPI T-13m-54 [Timell, 1957].

Extractivos en agua caliente: [Yagodin, 1981].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la *Tabla 1* se muestran los resultados en el tamizaje fitoquímico para las especies *Pinus caribaea* var. *caribaea* y *Pinus tropicalis* durante un año de investigación desde julio de 1998 hasta junio de 1999. Como se puede observar, el follaje de ambas especies es rico en una amplia gama de metabolitos secundarios importantes. Es de destacar que su presencia no depende de la época del año. Existe una fuerte conexión entre los resultados y la industria médico-farmacéutica, ya que la mayoría de los metabolitos presentes constituyen una fuente de materia prima para la obtención de formas medicamentosas con distintos fines terapéuticos, basados en la actividad biológica conocida para cada uno de ellos.

Las quinonas (su ensayo resultó fuertemente positivo) juegan un papel muy importante en los procesos de oxidación-reducción. Dentro de ellas se encuentra la vitamina K. En el follaje de ambas especies se encontró grasas, lo que está en correspondencia con el contenido de aceites esenciales presentes, estudiados, cuantificados y caracterizados en trabajos anteriores.

Es una característica del follaje de tales especies la fuerte respuesta positiva al ensayo de resinas realizado. Las coníferas contienen un alto contenido de oleorresina o trementina, y parte de estas sustancias se encuentran también en las agujas verdes.

Otros metabolitos secundarios presentes como los flavonoides presentan no solo actividad biológica fuerte

e importante para su uso en la medicina, sino también, al ser compuestos del tipo fenólico, son importantes por presentar ciertas propiedades fungicidas e insecticidas, lo que posibilita la utilización de estos extractos en estudios para la conservación de la madera.

En la *Tabla 2* se muestran los contenidos de celulosa, lignina y extractivos en agua caliente. Las sustancias solubles en agua caliente a + 90°C (vitaminas hidrosolubles, carbohidratos, compuestos fenólicos sencillos, sustancias nitrogenadas) en el follaje de *Pinus caribaea* var. *caribaea* mostraron valores de 20,15%, y para el *Pinus tropicalis* de 24,95%. Estos resultados son superiores para ambas especies que los reportados por Díaz (1998) con solventes de baja polaridad (14,90%) para el *Pinus caribaea* var. *caribaea*, y 20,95% para el *Pinus tropicalis*, lo que demuestra que, al aumentar la polaridad del solvente, aumenta el porcentaje de sustancias extractivas.

Los contenidos de lignina para el caso de *Pinus tropicalis* son mayores 27,03% que para el *Pinus caribaea* var. *caribaea*. En el caso del por ciento de celulosa, son de 25,40% para el *Pinus tropicalis* mayores que el 22,03% del *Pinus caribaea* var. *caribaea*. Estos indicadores pueden incidir en la evaluación del uso del follaje de estas especies para la industria de obtención de PFNM, las diferencias en cuanto al contenido de estas sustancias en ambas especies se puede deber entre otros factores a las diferencias que existen entre sus estructuras anatómicas, según Carreras *et al.* (1993).

TABLA 1

Tamizaje fitoquímico del follaje de *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* y *Pinus tropicalis* Morelet de Pinar del Río (julio de 1998-junio de 1999)

Metabolito secundario	Julio 1998-agosto 1998		Octubre 1998-noviembre 1998		Enero 1999-febrero 1999		Marzo 1999-abril 1999		Mayo 1999-junio 1999	
	<i>Pinus caribaea</i> var. <i>caribaea</i>	<i>Pinus tropicalis</i>	<i>Pinus caribaea</i> var. <i>caribaea</i>	<i>Pinus tropicalis</i>	<i>Pinus caribaea</i> var. <i>caribaea</i>	<i>Pinus tropicalis</i>	<i>Pinus caribaea</i> var. <i>caribaea</i>	<i>Pinus tropicalis</i>	<i>Pinus caribaea</i> var. <i>caribaea</i>	<i>Pinus tropicalis</i>
Alcaloides	+++	+	+	+	+++	+	+	+	+	+
Coumarinas	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Flavonoides	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Triterpenos y/o esteroides	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Grasas	++	+	++	+	++	++	++	++	++	++
Resinas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Comp. reduct.	+	+	+	+	+	+	+	+	++	++
Taninos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saponinas	+	+	+	+	+	+	+	+	++	++
Aminoácidos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Quinonas	+	++	++	++	++	++	+	+	++	++
Antocianidinas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

TABLA 2

Contenidos de extractivos, celulosa y lignina del follaje de *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* y *Pinus tropicalis* Morelet

Indicador	<i>Pinus caribaea</i> var. <i>caribaea</i>	<i>Pinus tropicalis</i>
Extractivos en agua caliente (%)	20,15	24,95
Lignina (%)	23,12	27,03
Celulosa (%)	22,03	25,40

En la *Tabla 3* se muestran los resultados en el contenido de carotenos evaluados, que fueron superiores en *Pinus tropicalis* de 115,5 hasta 185,2 mg/100g en base seca que en *Pinus caribaea* var. *caribaea*, que estuvieron entre 100-150 mg/100g en base seca. Los contenidos de clorofila a de 885,13 mg/100g en base seca para el *Pinus caribaea* var. *caribaea*, y 1 059,7 mg/100g en base seca para el *Pinus tropicalis*. El contenido de clorofila b fue de 829,73 mg/100g en base seca para el *Pinus caribaea* var. *caribaea* y 997,5 mg/100g en base seca para el *Pinus tropicalis*, los cuales son altos si los comparamos con los resultados reportados por Yagodin (1981) para especies de Rusia, y están dentro del rango reportado por Quert *et al.* (1995) para el *Pinus caribaea* var. *caribaea*. Esto es muy importante porque potencia aún más el follaje de ambas especies de coníferas de la Cordillera de Guaniguanico como fuerte fuente de materia prima para la obtención de diferentes PFNM. En el follaje de ambas especies se detectó la presencia de vitaminas E y C, y

cualitativamente de vitamina D. En el caso de las vitaminas E y C, constituye el primer reporte para estas especies cuantitativamente, de 2,9 mg/kg de follaje para el *Pinus caribaea*, y 9,6 mg/kg para el *Pinus tropicalis* en cuanto a la vitamina E, en forma de α -tocoferol y de 29,0 mg/kg y 12,0 mg/kg para cada especie respectivamente en la vitamina C (ácido ascórbico). Tales resultados abren una ventana para el estudio de estas especies como fuente importante para extracción de vitaminas.

En la *Tabla 4* aparecen los principales usos reportados para el follaje de especies forestales en otros países y trabajos realizados en Cuba. Estos usos están basados en las características y composición química del follaje de las especies estudiadas, que en esta etapa presentan características similares en composición cualitativa. En algunos casos se ha observado superioridad cuantitativa en ciertos indicadores estudiados.

TABLA 3

Contenidos de vitaminas, caroteno y clorofila en el follaje de *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* y *Pinus tropicalis* Morelet

<i>Sustancia</i>	<i>Pinus caribaea</i> <i>var. caribaea</i>	<i>Pinus tropicalis</i>
<i>Carotenos mg/100g</i>	100-150	115,5-185,2
<i>Vitamina C mg/kg</i>	29,0	12,0
<i>Vitamina D</i>	+	+
<i>Vitamina E mg/kg</i>	2,9	9,6
<i>Clorofila a mg/100 g</i>	885,13	1 059,7
<i>Clorofila b mg/100 g</i>	829,73	997,5

TABLA 4

Usos reportados para el follaje de distintas especies forestales

<i>Especie</i>	<i>País</i>	<i>Principales usos</i>	<i>Mercado</i>	<i>Fuente</i>
<i>Pinus massoniana</i>	China	Medicina, veterinaria, cosmética, alimentación animal	Familiar, regional y nacional	Weinchum, 1992
<i>Picea abies, L.</i>	Rusia	Biopreparados primarios, actividad antibacteriana	Familiar y regional	Yagodin, 1981
<i>Pinus ponderosa</i>	EU	Veterinaria	Regional	Don, 1996
<i>Pinus ssp.</i>	Japón	Medicinal	Familiar y regional	Genechiro, 1995
<i>Pinus sylvestris</i>	Suecia	Medicinal	Regional y nacional	Anderson, 1990
<i>Pinus caribaea</i> Morelet var. <i>caribaea</i>	Cuba	Alimentación animal, cosmetología	–	Leyva, 1990 Alexandrini, 1996 Quert, 1995

CONCLUSIONES

- El follaje de *Pinus caribaea* var. *caribaea* y *Pinus tropicalis* es rico en metabolitos secundarios de gran importancia médico-farmacéutica.
- El follaje de *Pinus caribaea* var. *caribaea* y *Pinus tropicalis* puede ser usado para la obtención de PFNM de acuerdo con los resultados de los indicadores fundamentales de biomasa estudiados.
- La presencia de carotenos, vitaminas y clorofilas en el follaje de *Pinus caribaea* var. *caribaea* y *Pinus tropicalis* indican su posibilidad como suplemento en la alimentación animal y en la medicina humana y veterinaria.

BIBLIOGRAFÍA

- ALEXANDRINI, M.; S. DÍAZ; E. ÁLVAREZ: «El recurso forestal y la alimentación animal. Antecedentes y perspectivas», Boletín *Universidad-Yacambú*, Venezuela, 1996, p. 8.
- BECKER, M.: «Economic Value of Non-Wood Products from Tropical Forest», presented at IUFRO centennial meeting, Berlín, 1992.
- CARRERAS, R.; A. VIDAL; J. RODRÍGUEZ: «Estructura anatómica del follaje, madera y corteza de *Pinus caribaea* Morelet y *Pinus tropicalis* Morelet en investigaciones biológicas y tecnológicas», *Revista Baracoa*, 3(3):4-5, 1993.
- COMITÉ ESTATAL DE LA URSS PARA LOS ESTÁNDARES: «Norma Estatal de la URSS Gost 21802/84 para el análisis de pasta clorofila-caroteno obtenida a partir de coníferas», Moscú, 1984.
- DÍAZ, S.: «Comportamiento del follaje de *Pinus caribaea* var. *caribaea* y *Pinus tropicalis* en el desarrollo de una metodología para la obtención de cera de coníferas, pasta clorofila-caroteno y residuo forrajero a escala de banco». Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Forestales, Universidad de Pinar del Río, Cuba, 1998.
- DON, C. ADAMS; JAMES A. PFISTER; ROBERT E. SHORT: «Pine Needle Effects on in Vivo and in Vitro Digestibility of Crested Wheat Grass», *Journal of Range Management*, 45 (3):249-253, 1992.
- DUARTE, A.; U. RODRÍGUEZ; R. QUERT: «Resultados relevantes de la acción antimicrobica de aceites esenciales de *Eucalyptus pellita* Muell y *Pinus caribaea* Morelet frente a hongos patógenos», *Revista Forestal Baracoa*, 22 (2):16-23, 1992.
- GENECHIRO, S.; Y. ATSISSH: «Pharmaceutical Containing Lippolysaccharides for Treatment of Rheumatism», *Medicinal Aromatic Plants Abstracts* 17(3), 1995.
- LEYVA, B.; J. MARTÍNEZ: «Alimentación de gallinas ponedoras con harina vitamínica obtenida a partir del follaje verde de *Pinus caribaea*», *Boletín Técnico Forestal* no. 1, 1989.
- LEYVA, B.; R. QUERT; F. GELABERT; O. SOCARRÁS; L. M. JIMÉNEZ: «Obtención de harina vitamínica para alimento animal a partir del follaje verde de *Pinus caribaea* y *Pinus tropicalis*», *Revista Baracoa*, 1(20):21-32, 1990.
- : «Determinación de las condiciones y tiempo de almacenamiento del follaje de *Pinus caribaea* y *Pinus tropicalis* para la destilación de aceites esenciales y la obtención de harina vitamínica», Instituto de Investigaciones Forestales, La Habana, 1990.
- MONTALEMBERT, M. R.: «Productos forestales», *Rev. Internacional de Silvicultura e Industria Forestal*, *Unasylya* 165; Ed. FAO, 42(2), 1991, p. 2.
- OSUNA-GARCÍA, J. A.; M. M. WALL; C. A. WADDELL: «Endogenous Levels of Tocopherols and Ascorbic Acid During Fruit Ripening of New Mexican-Type Chile (*Capsicum annum* L.) Cultivars», *J. Agric. Food Chem.*, 46(12):5093-5096, 1998.
- : PNO 2/98. «Metodología para el análisis fitoquímico de especies forestales», Laboratorio de Productos Naturales, Instituto de Investigaciones Forestales, La Habana, 1998.
- QUERT, R.; H. GARCÍA; T. RAMÍREZ; A. DUARTE; F. GELABERT: «Perfeccionamiento del aprovechamiento integral de algunas formaciones boscosas de las montañas del país», Informe final, Instituto de Investigaciones Forestales, Resultado 004-35-07, 1995.
- STROHECKER, ROLF: *Análisis de vitaminas, métodos comprobados*, Ed. Paz Montalvo, 1967.

TIMELL, T. E.: Normas Tappi 40, 1957, pp. 30-33.

VIDAL, CORONA, A.: «Estudio de las posibilidades de aprovechamiento de la biomasa de copa de coníferas de Pinar del Río». Tesis presentada en opción a grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Universidad de Pinar del Río, Cuba, 1995.

WEICHUM, Z.; SONG JINBIAO; HU YONGGANG: «Pilot Scale Extraction of Lipid from Poplar Bark»; *Chemistry and Industry of Forest Products*, China, 12 (1), 1992.

YAGODIN, V. I.: *Fundamentos de química y tecnología para el tratamiento del follaje*, Ed. Universidad de Leningrado, 1981.