

ESCALADO DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE CONCENTRADO CLOROFILA-CAROTENO A PARTIR DE *PINUS CARIBAEA* MORELET

DANIEL AMARO GONZÁLEZ,¹ TANIA RAMÍREZ RIVERO,² OSVALDO PINO GARCÍA,¹
HUMBERTO GARCÍA CORRALES² Y ROLANDO QUERT ÁLVAREZ³

¹ Centro de Química Farmacéutica (CQF). Calle 200 esq. 21,
Rpto. Atabey, Playa, La Habana, Cuba.

² Instituto de Investigaciones Forestales (IIF). Calle 174 no. 1723
e/ 17B y 17C, Rpto. Siboney, Playa, La Habana, Cuba,
c.e.: humberto@forestales.co.cu.

³ Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL). Calle 222 y Ave. 25,
Rpto. San Agustín, La Lisa, La Habana, Cuba.

RESUMEN

Se muestran los resultados del estudio del escalado de la tecnología de laboratorio de obtención de concentrado clorofila-caroteno a partir del follaje de Pinus caribaea Morelet (pino macho), y la utilización como solvente de alcohol natural de producción nacional. Se definieron los parámetros fundamentales de la etapa de extracción y se estudiaron de forma preliminar el resto de las operaciones del proceso. Los parámetros de calidad de materias primas y productos intermedio y final fueron establecidos. Se validó el equipo de extracción multipropósito PERSOXH, diseñado y construido en el Centro de Química Farmacéutica (CQF), lo que permitió aumentar los rendimientos del producto y los volúmenes de producción, así como disminuir los costos de fabricación con respecto a la tecnología anterior.

ABSTRACT

This work shows the results of the scaling study of the laboratory technology used for the obtention of concentrated chlorophyll-carotene from the foliage of Pinus caribaea Morelet (male pine) using natural alcohol produced in Cuba as solvent. Fundamental parameters of the extraction stage were defined and the rest of the process operations were preliminarily studied. The parameters of quality of the raw materials as well as the intermediate and final products were studied. It was also validated the multi purpose extracting device PERSOXH designed and built in the CQF. This technology allowed an increase in the yields of the product and the production amounts as well as the reduction of the manufacturing costs in comparison in to former technology.

INTRODUCCIÓN

La utilización de follaje verde como fuente de principios activos de gran valor comenzó a desarrollarse en la

década del cincuenta, y cada día gana mayor importancia, pues estos productos secundarios en mu-

chos casos son más valiosos que la madera y constituyen la base de la conservación y el aprovechamiento integral de los bosques. Además, al utilizarse el follaje que queda en el suelo después de la tala de los árboles se elimina una fuente de proliferación de plagas y enfermedades, y se reduce el riesgo de incendios forestales.

En Rusia, China, Bielorrusia, Letonia, Vietnam y otros países, los residuos de la explotación de los bosques de coníferas se aprovechan en la obtención de aceites esenciales, pasta clorofila-caroteno, clorofilina de sodio, harinas vitamínicas, entre otras, que son materias primas de gran valor para varias industrias y contribuyen al mejor aprovechamiento de sus recursos naturales.

En Cuba se han realizados algunos estudios con estos fines, para lo cual se ha empleado el follaje de *Pinus caribaea* Morelet (pino macho) por ser una de las especies más abundantes en nuestros bosques, principalmente en la región de Pinar del Río, donde se explota con objetivos comerciales y el follaje queda como residuo.

Roig y Mesa (1974) consideran esta especie como una planta medicinal por sus propiedades antifúngicas y antiinflamatorias.

Quert y *et al.* (1994) reportan que el tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico del follaje de pino macho muestra la presencia de clorofilas y carotenos entre otros metabolitos secundarios. Los carotenos constituyen la fuente natural a partir de la cual los organismos vivos sinteti-

zan la vitamina A, compuesto que interviene en el ciclo visual y en la eliminación de las infecciones en el organismo.

Davies (1954) ha encontrado estos compuestos de color amarillo enmascarados por el color verde de las clorofilas. Afirmar que el β -caroteno es el más abundante, del cual se dice que tiene una función antioxidante en el organismo.

Debido a la importancia de los carotenos, el hombre se ha dedicado a buscar fuentes naturales de obtención de estos compuestos para utilizarlos como suplemento dietético y con fines terapéuticos.

Polis (1986) informa que en varios países de la desintegrada Unión Soviética se produce industrialmente la pasta clorofila-caroteno obtenida a partir del extracto lipídico del follaje de coníferas. Esta pasta se utiliza en el tratamiento de la úlcera de estómago, en la prevención de la paradontosis, en la cura de enfermedades microbianas y en la cicatrización de heridas causadas por quemaduras. Se ha demostrado que adicionada en la dieta de los animales aumenta el celo y el peso corporal de las vacas, y también la producción de huevos en las aves. Es utilizada además como fuente de principios activos en la elaboración de jabones y champúes medicinales, cremas antisolares, pastas dentales, etc.

Quert *et al.* (1994) desarrollaron un procedimiento de laboratorio para la obtención del concentrado clorofila-caroteno a partir del follaje de pino

macho, con la utilización como solvente de alcohol etílico de producción nacional. Esta pasta ha sido empleada por González Quevedo [com. pers., 1994] en la elaboración de una crema a 5%, la cual de forma experimental ha mostrado una buena efectividad en la cura de quemaduras.

Debido a que existe la posibilidad de aprovechar de forma más racional numerosos recursos forestales, así como que igualmente se puede convertir el follaje residual de la tala en una materia prima de importancia en la elaboración de un producto de alta actividad biológica, es que se realizó el escalado de la tecnología de obtención de concentrado clorofila-caroteno para conocer los parámetros fundamentales necesarios que han de tenerse en cuenta en el montaje de una planta industrial, y a la vez poder validar el equipo de extracción PERSOXH en su operación Soxhlet diseñado en el Centro de Química Farmacéutica.

MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de la tecnología de laboratorio de obtención del concentrado clorofila-caroteno descrita por Quert en 1994, se definió el flujo tecnológico del proceso como primer paso de la ingenierización (*Fig. 1*).

Como materia vegetal se empleó follaje seco y molido de pino macho de árboles con veinticinco años de edad y procedentes de las plantaciones de Viñales, y como solvente de extracción alcohol clase A de producción nacional.

Para tener una información preliminar del comportamiento de la etapa de extracción a una escala mayor se realizaron experimentos a nivel de banco en una instalación de laboratorio, lo que simula el funcionamiento del equipo de extracción PERSOXH y que además se ajusta a la tecnología de laboratorio, aunque no fue posible realizar la extracción a 78°C. Por ello se trabajó a 55°C, temperatura máxima alcanzada en la instalación. La relación material vegetal-solvente fue variada a 1:10 por requerimientos del sistema. La instalación de banco tiene una capacidad de 1 000 mL de solvente y un percolador.

Con el objetivo de determinar los parámetros de extracción se realizó un diseño de experimentos ²², en el cual la temperatura de extracción y el flujo de solvente de extracción son las variables por estudiar, y la concentración de β -caroteno en el extracto la variable respuesta. La extracción se realizó hasta el agotamiento de la materia vegetal. La información se procesó con ayuda del paquete estadístico Statgraphic V 5.0. Se efectuaron seis experimentos. Dos de ellos constituyen réplicas en el punto de condiciones más críticas.

La preparación de la materia vegetal está muy relacionada con la eficiencia de la extracción, por lo que se estudió la forma más conveniente de prepararla. La primera materia vegetal (MV-1) se preparó moliendo el follaje verde y secando en estufa a 105°C durante 24 h. La segunda materia vegetal (MV-2) se dispuso secando el follaje verde en

estufa a 105°C y moliendo posteriormente. Estos experimentos se montaron con los mejores parámetros obtenidos en el diseño de experi-

mentos, con tres réplicas para cada materia vegetal. La concentración de β -caroteno en los extractos fue determinada por HPLC.

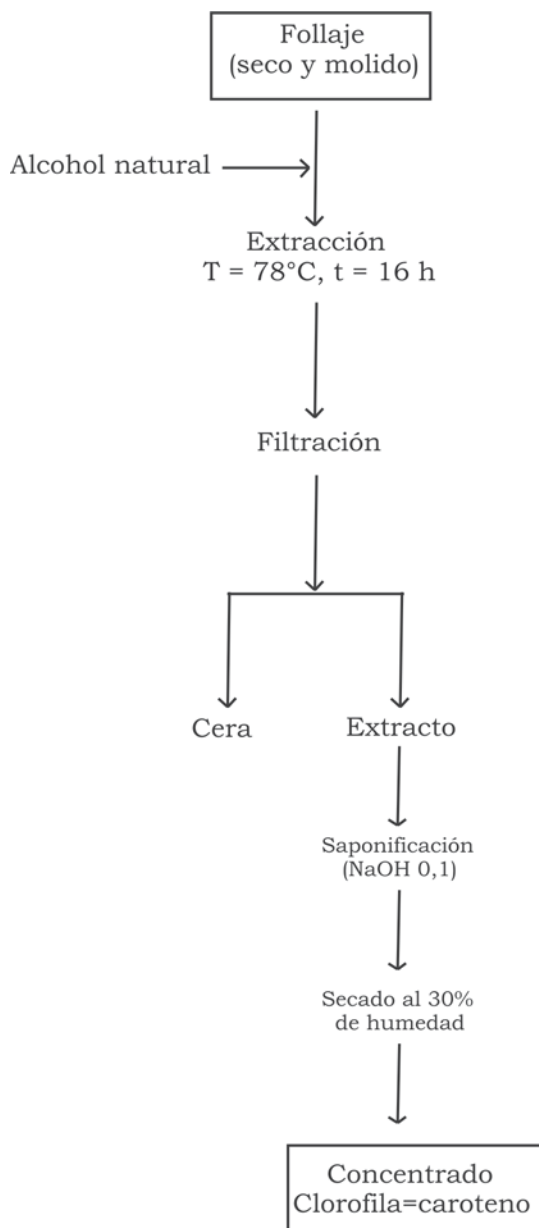


Fig. 1. Diagrama del flujo tecnológico del proceso de obtención de concentrado clorofila-caroteno

Los experimentos a nivel piloto se realizaron en el equipo de extracción PERSOXH, para lo cual se mantuvo la misma relación geométrica entre este y el equipo de banco. El criterio de escalado escogido fue mantener constante la velocidad lineal del solvente a través de la cama vegetal. Este equipo cuenta con dos percoladores que poseen una capacidad de 60 L de solvente y 6 kg de materia vegetal. También se realizaron cuatro experimentos en los que se definieron los parámetros de la extracción, a partir de lo obtenido en la escala de banco ajustados por la ecuación de escalado, y se estudiaron de forma preliminar las operaciones de filtración, saponificación y secado que no se estudiaron en la escala anterior. Conjuntamente se realizó la validación del equipo PERSOXH en su operación Soxhlet, al ajustarse las condiciones de flujo del solvente y temperatura de extrac-

ción obtenidas a escala de banco, según la ecuación de escalado.

Los carotenos fueron determinados por espectrometría, según la norma rusa Gost 13496-81. Los parámetros de control de la calidad de las materias primas, y de los productos intermedio y final se establecieron según la tecnología de laboratorio y las normas cubanas NC-26/63 y NC-90/13/13.

Los estudios de la etapa de saponificación permitieron definir que es necesario realizar esta etapa en un tanque con agitación y una abertura de descarga no menor de 30 cm, ya que se forman sólidos en la reacción. Al no disponerse de un equipo adecuado para realizar la operación, como condiciones de operación (*Tabla 1*) solamente se propone un pH final entre 8-10, y un tiempo no mayor de 1 h, tal como se reporta en la literatura.

TABLA 1
Condiciones de extracción propuestas

Condiciones de operación	Indicadores
Relación masa vegetal-solvente (kg/L)	1:10
Temperatura de extracción (°C)	40-60
Flujo de solvente (mL/min)	100
Tiempo de trabajo (h)	5

La etapa de secado fue necesario realizarla en dos fases: una en un rotoevaporador para concentrar el extracto hasta un punto en que sea posible sacarlo del equipo sin grandes pérdidas, y otra en la estufa al vacío hasta llevarla a la humedad deseada.

Lo anterior fue necesario porque no se contaba con el equipo adecuado para llevar a efecto esta operación, pues el producto es susceptible de descomponerse a altas temperaturas. Por ello se definió como parámetro de operación solo una humedad final de la pasta entre 30 y

40%, valores establecidos para productos destinados a la fabricación de cremas y para evitar la proliferación de hongos patógenos.

En la *Tabla 2* aparece la comparación de los resultados a nivel de laboratorio en Soxhlet y a nivel de banco, y a escala piloto en el PERSOXH.

TABLA 2
Comparación de los resultados de las tres escalas

Extracto	Laboratorio	Banco	Piloto
pH	4,6	4,89	5,19
Densidad relativa	0,8778	0,8200	0,8590
Índice de refracción	1,3709	1,3687	1,3700
β-caroteno (mg/100 g)	12,50	27,13	24,73
Sólidos totales (g/ 100 g)	4,2	2,5	2,8
Producto (mL)	100	1 000	1 500
Concentrado			
Humedad (%)	30	–	39
pH	8-10	–	8,6
β-carotenos (mg/ 100 g)	2,8	–	18,5
Producto (g)	3	–	1 700

RESULTADOS

El diseño del experimento reportó que las variables independientes son significativas en los niveles estudiados, y los valores más adecuados estarían por encima de lo alcanzado. Se definen como condiciones de operación más favorables un flujo de solvente de 15 mL/min y una temperatura de extracción de 55°C.

El estudio de la influencia de la preparación de la materia vegetal mostró que se extraen tres veces y medio más carotenos cuando se utiliza la MV-2, aunque la caída de presión aumentó debido a un tamaño de partícula menor, pero esto no fue un factor limitante para la operación. Los experimentos a nivel piloto demostraron que el PERSOXH es eficaz en su operación Soxhlet, pues

logra trabajar en las condiciones de operación establecidas en el diseño de banco. La *Tabla 1* refleja las condiciones de extracción definidas en los experimentos realizados.

Debido a que el PERSOXH cuenta con dos percoladores, el tiempo de extracción disminuyó al existir mayor superficie de contacto entre el solvente y la materia vegetal. La etapa de filtración se eliminó, ya que no se observó la presencia de sólidos en el extracto, lo cual se debe a que la extracción se realizó a más baja temperatura (55°C) que en la tecnología de laboratorio (78°C); por tanto las ceras presentes en el follaje y poco solubles en el alcohol a temperaturas bajas no fueron de él extraídas.

En la *Tabla 2* aparece la comparación de los resultados por Quert (1994) a escala de laboratorio, y los de banco y piloto obtenidos en el escalado.

Estos resultados mostraron que el cambio de escala afecta los sólidos totales, que disminuyen debido a que el extracto se encuentra más diluido al aumentar la relación materia vegetal-solvente de 1:8 a 1:10. Los carotenos aumentaron 1,9 veces a nivel de banco, y 1,72 a nivel piloto en el extracto. En el concentrado se obtuvo un aumento de 6,63 en la escala piloto, por lo que se obtiene un producto de mayor calidad. El resto de los parámetros se mantuvo dentro de lo establecido en la tecnología de laboratorio. El equipo PERSOXH demostró que puede trabajar en las condiciones de operación estudiadas (Soxhlet). En la *Tabla 3* aparecen los parámetros de calidad definidos en el escalado, según lo establecido en la tecnología de laboratorio. Los rangos de aceptación del concentrado deben ser confirmados a partir del estudio de formulación del medicamento por producir.

TABLA 3
Rangos de aceptación de materias primas, productos intermedio y final

Insumo	Propiedad fisico-química	Rango
Materia prima		
Follaje	Humedad (%)	10-15
	Granulometría (nm)	0-250
Alcohol	Densidad relativa	0,7968-0,8194
	Contenido alcohólico (%)	90-99
	Pureza (%)	95-99

TABLA 3 (cont.)

Producto intermedio		
Extracto	pH (T = 25°C)	4,5-5,2
	Índice de refracción	1,366-1,380
	Densidad relativa	0,850-0,890
	β-carotenos (mg/100 g)	> 20
Producto final		
Concentrado	Humedad (%)	30-40
	pH (T = 25°C)	8-10
	β-carotenos (mg/100 g)	> 10

El concentrado clorofila-caroteno tiene múltiples usos en la medicina alternativa, la veterinaria, la industria de jabonería y perfumería, y en la elaboración de alimento animal. El estudio de escalado estuvo encaminado a valorar la posibilidad de satisfacer la demanda de una formulación de una crema cicatrizante contra quemaduras, la cual ha dado buenos resultados en las pruebas preliminares y actualmente se encuentra en la fase de pruebas clínicas. Por cada lote producido a escala piloto se pueden elaborar 11 000 frascos de la crema cicatrizante. Actualmente no se conoce la demanda de este producto en el país. El follaje utilizado es un residuo de la tala del pino macho, el cual se explota con fines comerciales en las plantaciones de Pinar del Río y el solvente es de producción nacional. Estos son los factores que justifican la producción del concentrado a escala mayor.

CONCLUSIONES

- Los estudios de escalado permitieron conocer los parámetros tecnológicos del procedimiento de obtención del concentrado clorofila-caroteno y los índices de calidad.
- El equipo de extracción PERSOXH puede trabajar de forma satisfactoria en la operación Soxhlet.
- La extracción de carotenos con alcohol se favorece con el aumento de la temperatura y el flujo.
- La materia vegetal más adecuada es la MV-2.
- El escalado de la tecnología produce un aumento del contenido de caroteno 6,63 veces.

BIBLIOGRAFÍA

AMARO, D. ET AL.: *Escalado del proceso de obtención de la pasta clorofila-caroteno a partir de Pinus caribaea Morelet*, documentación interna, CQF-III, 1995.

- DAVIES, B. H.: *Carotenoides in Chemistry and Biochemistry of Plant Pigment*, vol. II, Academic Press, Londres, New York, 1954.
- NORMA CUBANA (NC-26/63): *Métodos de control. Determinación de la densidad relativa*.
- NORMA CUBANA (NC-90/13/13): *Métodos de control. Determinación de pH*.
- NORMA GOST 1349681: *Metodología para la determinación del contenido de carotenos del material vegetativo*.
- POLIS, O: *Uso del follaje verde en la URSS*. Informe final de asesoría extranjera, IIF, La Habana, 1986.
- QUERT, R.; H. GARCÍA: *Procedimiento para la obtención y la caracterización del extracto alcohólico y la pasta clorofila-caroteno de Pinus caribaea Morelet*. Escala de Laboratorio, IIF, 1994.
- ROIG Y MESA, J.: *Plantas medicinales, aromáticas y venenosas de Cuba*, Ed. Ciencia y Técnica, 1974.
- WEICHUN, J.: *Utilization of Pine Needles and Twigs in China*, Research Institute of Chemical and Utilization of Forest Products, Chinese Academy of Forestry, 1989.