

Extracción y cuantificación de clorofila en hojas comestibles del estado de Tabasco

Ruiz Santiago F.L.^{a,*}, Ruiz Velázquez J.A., Hernández Becerra J.A., García Jiménez, R, Valadez Villarreal A.

^a Universidad Tecnológica de Tabasco, División de Procesos Industriales, Carretera Villahermosa-Teapa Km 14.6 S/N Fracc. Parrilla II, Parrilla, Centro, Tabasco, México. C:P 86288. Correo electrónico: francolucioruiz@hotmail.com

RESUMEN:

La clorofila es un pigmento verde de las plantas que absorbe la energía lumínica y la transforma en energía química a través de la fotosíntesis, esto para la síntesis de compuestos orgánicos que necesita la planta. Por sus características y beneficios a la salud se extrae de las plantas y se utiliza en alimentos, farmacia y cosmética. Por su alta concentración se extrae generalmente de las espinacas, berro y acelgas, aunque se hace necesario el estudio de otras variedades con posibilidad de uso. Para este trabajo se determinó a través del método espectrofotométrico la concentración de clorofila a, b y total de diez hierbas comestibles típicas del estado de Tabasco. Se observaron valores altos para el chipilín, momo y chaya, aunque estos son menores que los reportados en la literatura para la espinaca. El oreganón y cebollín fueron las hojas que presentaron valores más bajos, sin embargo, estas presentan una alta intensidad verdosa debido a la presencia de otros pigmentos..

ABSTRACT:

Chlorophyll is a green pigment of plants that absorbs light energy and transforms it into chemical energy through photosynthesis, this for the synthesis of organic compounds needed by the plant. Due to its characteristics and health benefits, it is extracted from plants and used in food, pharmacy and cosmetics. Due to its high concentration it is usually extracted from spinach, watercress and swiss chard, although it is necessary to study other varieties with possibility of use. For this work, the concentration of chlorophyll a, b and total of ten edible herbs typical of the state of Tabasco was determined using the spectrophotometric method. High values were observed for chipilin, momo and chaya although these are lower than those reported in the literature for spinach. The oreganon and chives were the leaves that presented lower values, however, they present a high greenish intensity due to the presence of other pigments..

Palabras clave:

Clorofila, pigmento, fotosíntesis, hierbas comestibles, espectrofotometría.

Key Words:

Chlorophyll, pigment, photosynthesis, edible herbs, spectrophotometry.

Área: Otros

INTRODUCCIÓN

La clorofila es un pigmento verde existente en las plantas, algunas algas y bacterias que permite llevar a cabo el proceso de fotosíntesis que es la conversión de energía luminosa en energía química (Mathews *et al.*, 2013). Proviene del vocablo *chloros* que significa “verde” y *fyton* que significa “hoja”. Fue descubierta en 1817 por Caventou y Pelletier quienes lograron aislarla de las hojas de las plantas. Existen diferentes tipos de clorofila, A que se encuentra presente en la mayoría de los vegetales y es la encargada de absorber la luz durante la fotosíntesis; la B que se encuentra presente en los cloroplastos, se encarga de absorber la luz de otra longitud y transfiere la energía a la clorofila A; la C está presente en los cloroplastos de las algas pardas, las diatomeas y, por último, la D se halla únicamente en las algas rojas (Fernandez, 2010).

El uso de la clorofila es variado y puede ser desde medicinal hasta como ingrediente en la industria de los alimentos, posee propiedades anticancerígenas, antibacterianas, antioxidantes y energizantes, ayuda a oxigenar la sangre y desintoxicar a nuestro organismo así mismo ayuda a desintegrar cálculos y es efectivo desinflamatorio. También se recomienda para reducir los altos niveles de colesterol y triglicéridos (Ondarza, 2006).

Para poder disfrutar de todos los beneficios que proporciona la clorofila se debe consumir la misma, a través de la ingesta de vegetales como: lechuga, espinaca, acelga, berro, entre otros; bebidas verdes lo que se conoce como green drinks y, consumirla como suplemento, en las tiendas naturistas ofrecen clorofila líquida. En la industria de los alimentos la clorofila se utiliza como agente de color y sabor en caramelos, galletas, gomas de mascar entre

otros. En el manejo poscosecha de vegetales el interés por la clorofila se centra en las reacciones poscosecha que degradan a estos pigmentos incluso las que ocurren durante el procesamiento y almacenamiento. (Badui, 2015).

Para su extracción y cuantificación existen tres métodos el Espectrofotométrico, fluorométrico y por cromatografía líquida. Para la extracción industrial de la clorofila se utilizan hojas de color verde intenso como lo son las espinacas y el berro (Val *et al.*, 1985).

En el estado de Tabasco existen una gran cantidad de hojas comestibles y que son parte de la gastronomía Tabasqueña, entre ellos destacan el chipilin (*Crotolaria longirostrata*), el momo (*Piper auritum*), oregano (*Lippia graveolens*), chaya (*Cnidoscolus chayamansa*), hierba buena (*Mentha piperita*), epazote (*Chenopodium ambrosioides*), entre otros más. Muchas de ellas aparte de proporcionar sabor y olor, por su tonalidad intensa, proporcionan además un color característico a dicho platillo y que lo hace atractivo al consumidor (Gomez *et al.*, 2004).

Aunque el uso de colorantes sintéticos está más extendido que los colorantes naturales por muchas razones, por cuestiones de inocuidad por el hecho de ser naturales y porque algunos de ellos aportan ciertas características a los alimentos donde se incorporan, en la actualidad se están estudiando a los colorantes naturales, sus fuentes, características, composición química tal es el caso de la clorofila presente en hojas de los vegetales. Considerando que el uso de las hojas comestibles que se cultivan en Tabasco son gastronómicas y de salud, que su cultivo se realiza casi para autoconsumo, para este trabajo se pretende extraer, cuantificar y comparar la concentración de clorofila presente en dichas hojas ya que no existe información respecto a ello y porque se hace necesario el estudio de otras variedades con posibilidad de uso industrial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de muestras

Consistió en la búsqueda de cuáles son las 10 hierbas comestibles más conocidas y reconocidas por su coloración verde intenso típicas del estado de Tabasco, a través de entrevistas y referencias bibliográficas.

Preparación de las muestras

Las hierbas seleccionadas se adquirieron en diversos mercados de la ciudad de Villahermosa, Tabasco. Se adquirieron paquetes de 25 gramos y se eligieron aquellos que presentaron una coloración verde intensa sin golpes, magulladuras, rupturas, coloración extraña o incompleta. Las muestras fueron transportadas al laboratorio a temperatura ambiente y almacenadas a $6 \pm 2^\circ\text{C}$ previo a su procesamiento.

Determinación de la clorofila:

Para la determinación de la clorofila se utilizó el método espectrofotométrico descrito por Hiscox e Israelstam (1979) consistente en cortar finamente la muestra (hoja) en tiras de 0.5 cm^2 , pesar 0.5 g de muestra para macerarlo en un mortero adicionando 5 ml de solución de acetona al 80%, hasta extraer todo el colorante de la muestra, posteriormente colocar la muestra en un tubo para centrifuga y centrifugar a 2000 rpm por 10 minutos, separar el sobrenadante que contiene los pigmentos, ajustar cada tubo a 6ml con acetona al 80%, se toman 0.5 ml del sobrenadante de cada uno de los extractos y se diluye hasta 5 ml con acetona al 80%. Se mide en un espectrofotómetro a longitudes de onda de 645 y 663 nm utilizando una muestra de acetona al 80% como blanco. Los análisis fueron realizados por duplicado, la metodología se muestra en la figura 1.



Figura 1: Metodología para extracción y cuantificación de la clorofila

Equipamiento utilizado

Las determinaciones espectrofotométricas se realizaron en un espectrofotómetro de haz simple SP600 Orbeco-Hellige de 300 a 900 nm de longitud de onda.

Análisis de resultados

Para la determinación de clorofila a, b y total se utilizaron las ecuaciones descritas por Arnon (1949), usando los coeficientes de absorción específicos dados por Mackinney estas fueron:

$$\text{Clorofila A} = (12.7 \times \text{Abs } 663) - (2.69 \times \text{Abs } 645)$$

$$\text{Clorofila B} = (22.9 \times \text{Abs } 645) - (4.68 \times \text{Abs } 663)$$

$$\text{Clorofila Total} = (20.2 \times \text{Abs } 645) + (8.02 \times \text{Abs } 663)$$

De acuerdo a los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza y comparación de medias a través de la prueba de Tukey para determinar diferencias entre las muestras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Selección de las hojas comestibles a utilizar:

A través de entrevistas y búsqueda de información bibliográfica se determinó utilizar las hojas mostradas en la Tabla 1.

Tabla 1: Hojas utilizadas para extracción y cuantificación de clorofila

Nombre	Nombre científico
Momo	<i>Piper auritum</i>
Oreganón	<i>Lippia graveolens</i>
Cebollín	<i>Allium fistulosum</i>
Epazote	<i>Chenopodium ambrosioides</i>
Chaya	<i>Cnidoscolus chayamansa</i>
Cilantro	<i>Coriandrum sativum</i>
Albahaca	<i>Ocimum basilicum</i>
Perejil	<i>Eryngium foetidum</i>
Chipilín	<i>Crotolaria longirostrata</i>
Hierba mora	<i>Solanum ptychanthum</i>

Determinación de la clorofila

En la figura 2 se muestran los extractos antes de su conteo en el espectrofotometro.



Figura 2: Muestras de clorofila antes de su conteo en espectrofotometro

En la figura 3 se muestran los resultados de la cuantificación de clorofila A, B y en la figura 4 la clorofila total de cada hoja empleada en el proyecto.

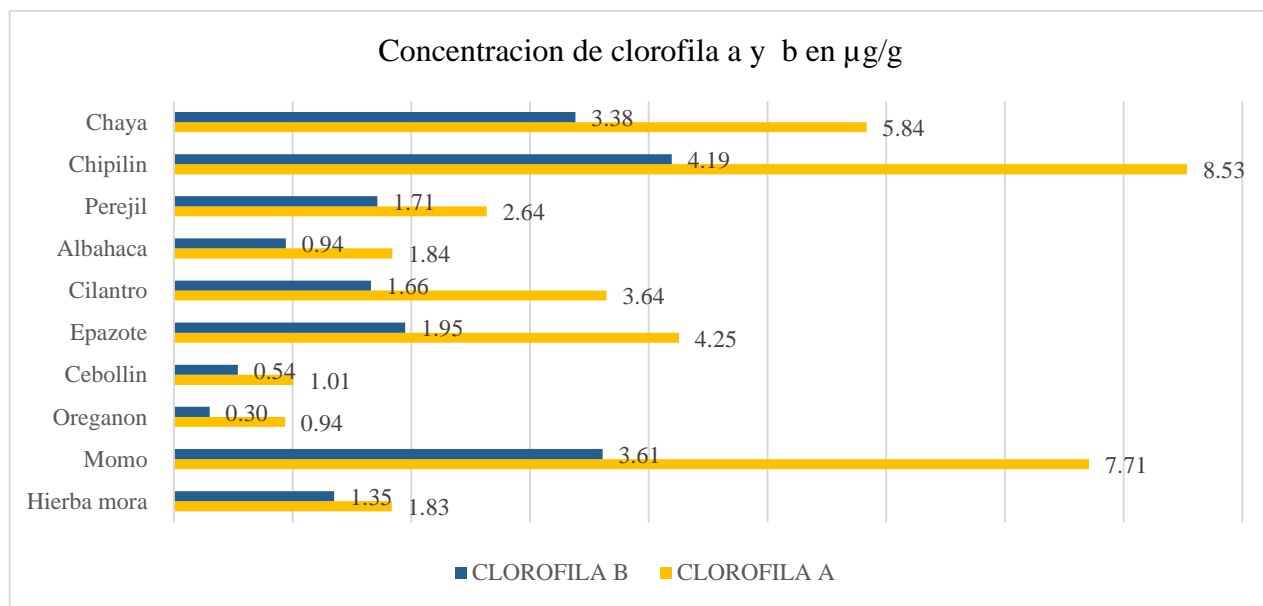


Figura 3: Concentración de clorofila A y B ($\mu\text{g/g}$)

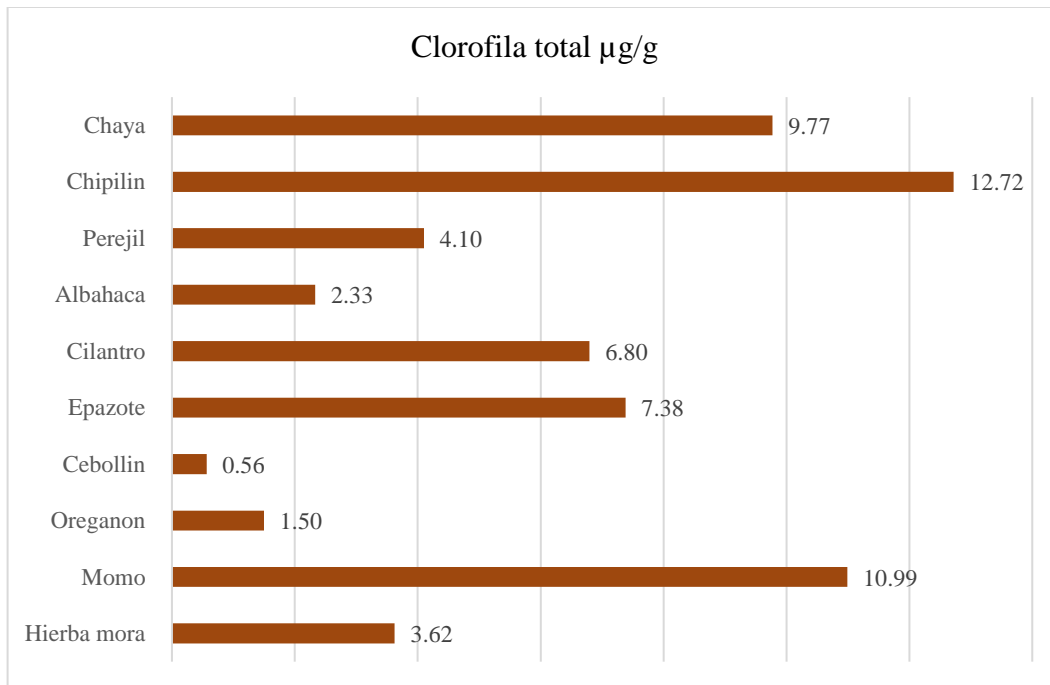


Figura 4: Concentración de clorofila total en µg/g

Considerando los resultados se puede observar que las hojas que más alta concentración de clorofila tanto A como B presentaron, fueron el chipilín (*Crotolaria longirostrata*), momo (*Piper auritum*) y chaya (*Cnidoscopus chayamansa*) respectivamente con valores superiores a 3 µg/g en caso de la clorofila A y valores superiores a 5.8 µg/g en el caso de la clorofila B. La hoja que presentó valores mayores de clorofila total fue el chipilín, hierba muy utilizada en el estado de Tabasco para elaborar los tradicionales tamalitos tabasqueños, platillo donde esta hierba proporciona un aroma, color y sabor característico.

El análisis de varianza muestra que las hierbas de chipilín y momo no se diferenciaron entre sí de manera significativa, pero si con respecto a las demás hierbas analizadas a un nivel de significancia del 1%, esto se presentó tanto en la determinación de clorofila A, B y total.

Tomando como referencia los valores de clorofila total de la espinaca (*Spinacia oleracea*) que es uno de los vegetales utilizados para la extracción industrial de clorofila, de 16 µg/g en promedio reportados por QuimiNet (2013) y Martin y Castañeda (2016), se observa que el chipilín presenta tan solo 3.2 µg/g menos que la espinaca, por lo que esta hoja puede ser considerada como una alternativa para su utilización industrial en la extracción de clorofila

Se observa también que, aunque existen hojas que a simple vista se ven más intensas como la albahaca, la hierba mora, el epazote, esto no tiene relación con su contenido de clorofila ya que pueden tener otros pigmentos diferentes como las antiocianinas, ficobilinas y carotenoides que ayudan a la clorofila en la captación de la luz como lo señalan Mathews *et al* (2013).

CONCLUSIÓN

Fue posible realizar la extracción y cuantificación de la clorofila existente en las hojas comestibles del estado de Tabasco, destacando el chipilín y momo como las de mayor concentración de clorofila A, B y total presentaron aunque muestran valores menores que los reportados en la literatura para la espinaca, que es la utilizada para la extracción industrial de este pigmento, además se observó que la intensidad del color verde, no solo es debido a la presencia de clorofila sino a otros pigmentos que existen en la hoja y que ayudan a la clorofila en el proceso de fotosíntesis.

BIBLIOGRAFÍA

Mathews K.C, Van Holde K.E., Appling D.R., Spencer J.A. (2013) Bioquímica. Editado por Pearson Educación Madrid, pp. 678-679.

Fernández T. (2010) Propiedades y beneficios de la clorofila. Dirección URL: <https://www.vix.com/es/imj/salud/2010/04/19/propiedades-y-beneficios-de-la-clorofila>. Fecha de consulta: 20 de abril 2017.

Ondarza N. (2006) Biología Moderna. Editado por Editorial Trillas México, pp214-218.

Badui D.. S. (2013). Química de los Alimentos. Editado por Pearson Educación. México, pp 391-393.

Val J., Heras L., Monge E. (1985) Nuevas ecuaciones para la determinación de pigmentos fotosintéticos en acetona. Dirección URL: http://digital.csic.es/bitstream/10261/13836/1/ANALES_17_3-4-Nuevas%20ecuaciones.pdf. Fecha de consulta: 16 de abril de 2017

Gómez M.E., López N.U., López N.J., Salaya D. J., Díaz G. J., Hernández H. M. (2004) Catálogo de plantas medicinales de uso actual en el estado de Tabasco. Editado por UJAT Fundación Produce Tabasco. Villahermosa, Tabasco, pp 1.

Hiscox JD, Israelstam, GF. (1979). A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. Canadian Journal of Botany 57: 1332-1334

Arnon DI. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoxidase in beta vulgaris. Plant physiology 24: 1-15.

QuimiNet (2013) Las Principales Fuentes de Clorofila. Dirección URL: <https://www.quiminet.com/articulos/las-principales-fuentes-naturales-de-clorofila-3423480.htm>. Consulta 20 de abril de 2017.

Martín, J.F & Castañeda, J. (2016) Análisis de la clorofila de Spinacia oleracea y cuantificación de albumina de espagueti utilizando espectrofotometría. UGCiencia 22, 99-109.