

HERLINDA DIAZ RUBIO

*Valoración de Clorofila en  
Diversas Plantas*

MEXICO, D. F.

— 1958 —



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD FEMENINA DE MEXICO

---

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

*Valoración de Clorofila en  
Diversas Plantas*

(*Opuntia vulgaris*, *Cereus marginatus*, *Agave atrovirens*).

T E S I S

Que para obtener el Título de

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

Presenta:

HERLINDA DIAZ RUBIO

MEXICO, D. F.

— 1958 —

*A mis padres con cariño y veneración*

*A mis hermanos, cariñosamente.*

*A la Srta. Q. F. B. Ma. del Consuelo  
Hidalgo M., con gratitud y  
respetuoso cariño.*

*A la Universidad Femenina de México y  
su Directora Srta. Adela Formoso de  
Obregón Santacilia*

*A mis maestros, con gratitud por  
sus enseñanzas.*

*A mis familiares, compañeras  
y amigas.*

## CONTENIDO

- I. INTRODUCCION
- II. GENERALIDADES
- III. METODOS EMPLEADOS
- IV. RESULTADOS OBTENIDOS
- V. DISCUSION DE LOS RESULTADOS
- VI. BIBLIOGRAFIA

## **GENERALIDADES**

La clorofila se presenta como microcristales cerosos de color azul negro, asociados a hojuelas delgadas como lancetas; como pasta o polvo verde obscuro.

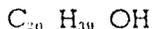
Es insoluble en agua, pero soluble en alcohol y solventes orgánicos, dando a la solución color verde intenso y fluorescencia roja.

Se le encuentra en todas las plantas verdes en proporción aproximada del 1% del peso en seco, y acompañada de otros pigmentos, como son la xantofila y el caroteno.

En la obtención industrial de la clorofila es muy difícil separar estos pigmentos, por lo que generalmente se encuentra en presencia de estos

La clorofila natural consta de dos fracciones: la clorofila A, que es verde azulada y que constituye las tres cuartas partes de la clorofila y la clorofila B, que es verde amarillenta y forma la cuarta parte restante, la separación de estos dos principios es sumamente difícil.

Químicamente constituyen unas de las sustancias orgánicas más complejas. Se les puede considerar ésteres del ácido dicarboxílico, en que un grupo carboxilo está esterificado con una molécula de alcohol metílico y el otro con una molécula de alcohol primario no saturado de alto peso molecular, el fitol cuya fórmula global es:



Estos ácidos dicarboxílicos son los llamados respectivamente clorofila A, y clorofila B, y difieren en que la clorofila A, tiene dos áto-

mos de hidrógeno más y uno menos de oxígeno, que la clorofila B, siendo las fórmulas globales las siguientes:

Clorofila A:  $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$  (COOH)<sub>2</sub>

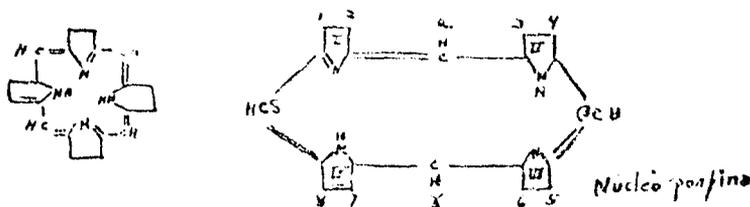
Clorofila B:  $C_{55}H_{68}O_6N_4Mg$  (COOH)<sub>2</sub>

Según Willstätter la transformación de una en otra no se ha logrado por oxidación o reducción, pero Golow, Wegri y Cappelletti creen que la clorofila B es un producto de oxidación de la A.

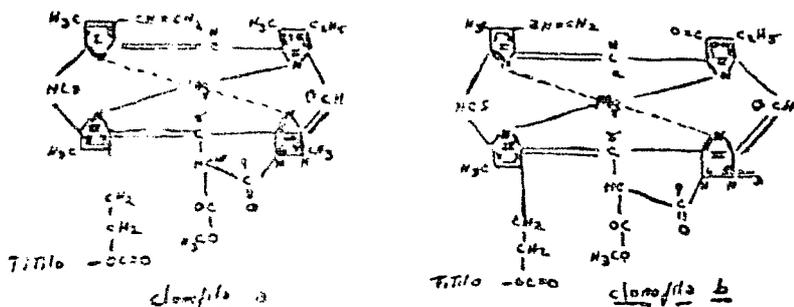
La clorofila natural tratada con alcalis se saponifica expulsando el metilo y el fitol. Las sustancias alcalinas producidas conservan la estructura del núcleo central y el color y fluorescencia. Estas sales son solubles en agua, al igual que las clorofilinas puras. Algunas de estas relaciones se representan en el cuadro siguiente:

Los ácidos, aún diluidos precipitan la clorofila y derivados solubles de sus soluciones, lo que constituye un inconveniente para la preparación de formas farmacéuticas. Concentradas actúan liberando el magnesio y dando un producto castaño no fluorescente. Willstätter trató cuidadosamente la clorofila con ácido y comprobó que únicamente se cambia el magnesio por hidrógeno dando la feofitina y si el hidrógeno vuelve a ser reemplazado por cobre, magnesio, cinc e hierro, el color verde reaparece.

La reducción y oxidación de los pigmentos clorofílicos producen compuestos pirrólicos, tales como el hemopirrol, lo que hizo suponer que la propia clorofila es de naturaleza pirrólica. También se obtiene a partir de la hemoglobina una serie de compuestos pirrólicos. El tratamiento de la clorofila y de la hemoglobina con álcalis fuertes produce porfirinas, que son compuestos rojos con característicos espectros de absorción y contienen cuatro núcleos pirrólicos. Su estructura, según Kuster es la siguiente:



El núcleo no sustituido se denomina porfina. Hans Fisher llevó a cabo, en 1925, la síntesis de una porfina. La estructura de la clorofila, según dicho autor, es la siguiente:



El carácter más importante por el cual las plantas verdes se diferencian de los animales, es la facultad que tienen de elaborar sustancias orgánicas a partir de productos inorgánicos. Los animales no poseen esta propiedad y aprovechan de las plantas las materias orgánicas ya preparadas que le son necesarias en su nutrición. Por lo mismo, la vida de los animales, incluyendo al hombre, depende directamente de los vegetales.

Uno de los elementos principales de todas las sustancias orgánicas es el carbono, de manera que para la elaboración de éstas, las plantas verdes necesitan de dicho elemento, el cual lo toman del aire.

Para ello absorben el anhídrido carbónico del medio externo, y en el interior de las células lo descomponen, desprenden el oxígeno y fijan el carbono que se utiliza, al combinarse con productos inorgánicos como el agua y sales minerales, en la síntesis de las sustancias orgánicas. Las plantas aéreas toman el anhídrido carbónico de la atmósfera que las rodea, que contiene una proporción de .03 a .04 por ciento del citado gas, las plantas acuáticas absorben el que se encuentra disuelto en el agua.

Para que se efectúe la fotosíntesis no solamente es indispensable el gas carbónico sino también el concurso de la clorofila y la presencia de la luz. Según lo anterior, se puede definir la asimilación cloro-



Pelletier y Cacentou en 1817 fueron los que dieron dicho nombre a la materia colorante de las plantas.

La clorofila es un mezcla de pigmentos verdes que se presenta en forma de masas redondeadas más o menos agrupadas y que pueden tener diferentes formas.

El conocimiento químico de la clorofila hasta hace muy poco tiempo era inseguro y fragmentario, puesto que ni siquiera se habla si las materias colorantes verdes de las plantas eran una sola materia o materias distintas. Pero R. Willstater con sus observaciones practicadas en el año 1907 hizo adelantar considerablemente los conocimientos de la química clorofílica.

Gracias a esas observaciones se sabe hoy que las clorofilas de diferentes orígenes son compuestos magnésicos, por su naturaleza ésteres compuestos que concuerdan con el magnesio complejamente combinado por una parte y por el alcohol esterificado, el fitol, que en ellos existe. En cambio los ulteriores productos de descomposición de las clorofilas de diversas procedencias son diferentes entre sí; si bien muy semejantes en su composición y en sus propiedades.

De la comparación de estos productos de desdoblamiento o desintegración molecular parece deducirse que en el complejo fitocrómico, nitrogenado esterificado con el fitol, se manifiestan pequeñas diferencias, de modo que quizás no exista una sustancia única y determinada, sino unas clases de clorofila, muy próximas entre sí que varían en el complejo de fitocromina y que concuerdan en la cantidad de magnesio y en el fitol esterificado. Hay que tomar en cuenta que la edad de las hojas u otras partes verdes, la manera de secarlas y en las condiciones en que se efectúa su ulterior tratamiento, han de influir en los productos de desdoblamiento de la clorofila.

Manteniendo determinadas condiciones, que excluyesen en lo posible de la alteración de la clorofila, y operando en 200 especies de plantas de diferentes familias, Willstater y Oppé pudieron comprobar que el pigmento verde que preexiste en las plantas es siempre la clorofila amarilla cética, con fitol en cantidad constante (alrededor de 33%). Si se lixivian lentamente con alcohol las materias que contienen

clorofila, de manera que la solución resultante quede en contacto mucho tiempo con la planta, la clorofila natural pierde fitol, porque actúa sobre él, una encima llamada clorofilaza contenida en la planta verde, el fitol se descompone y el resto fiórico es substituido por el radical etilo. La etil clorofilida así formada o clorofilia cristalizada, es pues solamente un producto de transformación, formado por alcoholisis enzimática de la clorofila amorfa, natural de la fitoclorofilida. Además del fitol, en el desdoblamiento de la clorofila aparece siempre, como producto constante, fitoclorina y fitoclorodina.

Las íntimas relaciones que existen entre las clorofilas de diferentes procedencias explican que la materia colorante verde de todas las hojas tengan un espectro constante.

Las numerosas contradicciones que aparecen en los muchos trabajos hechos acerca de la naturaleza química y física de la clorofila, se explican por la facilísima descomposición del pigmento natural y la consiguiente dificultad de obtenerlo puro.

La clorofila puede extraerse de las plantas verdes, frescas, o desecadas a baja temperatura en la obscuridad, mediante alcohol, éter, benceno y disolventes análogos. Las soluciones así obtenidas, vistas a través de la luz, muestran un color rojo y presentan una fluorescencia rojo-anilada. Esta solución, además de clorofila, contiene xantofila, carotina y diferentes sustancias, como grasa, cera, resina, compuestos nitrogenados, que no tienen relación alguna con la materia colorante. La completa separación de estas impurezas, sin alterar o descomponer la clorofila, presenta grandes dificultades por la poca estabilidad de esta materia colorante.

Por esto, la clorofila obtenida por muchos de los métodos propuestos, la mayoría de las veces es una mezcla de la materia colorante con otros compuestos vegetales o un producto de descomposición o de desdoblamiento del pigmento natural.

Ocurre lo mismo con la clorofila de Berzelius y de Kromayer y de otros.

Los elementos que constituyen la clorofila son:

Carbono, hidrógeno, magnesio, nitrógeno y oxígeno. La clorofila

pura no contiene cobalto ni fierro, ni fósforo, según esto no puede relacionarse con las lecitinas que son compuestos fosforados.

El magnesio se encuentra en la clorofila en combinación orgánica compleja. Los ácidos separan fácilmente el magnesio de la clorofila, pero no los álcalis. Estos últimos desdoblan la clorofila, conforme a su carácter de éter compuesto saponificándola, en un alcohol: el litol, formándose la sal alcalina de un compuesto magnésico complejo, llamado clorofilina, que tiene carácter ácido débil. Calentada con lejía alcohólica de potasa, la clorofilina se transforma en glaucofilina, de color azul, luego en rodofilina y por último en pirrofilina y filofilina. Todos estos productos de desdoblamiento lo mismo que la clorofilina y la clorofila son compuestos magnesiados.

La vida de las plantas clorofilianas consiste en gran parte en un proceso de síntesis en que interviene la clorofila.

No es inverosímil que la asimilación del ácido carbónico, que se efectúa en estas plantas sometidas a la acción de la luz, pueda deberse a una acción catalítica del magnesio de la clorofila, tanto más cuánto este elemento se encuentra en estado de combinación orgánica compleja, que se caracteriza por su gran facilidad de ocasionar reacciones, según demuestra la síntesis de Grignard.

En la desintegración molecular, que se realiza en los organismos vivos de los animales de sangre roja, interviene una acción catalítica del fierro que se encuentra en la materia colorante de la sangre en forma de combinación orgánica compleja.

En la asimilación del ácido carbónico se efectúa un proceso catalítico de reducción en el que interviene la clorofila, que es un compuesto magnésico; en la vida animal el fierro que existe en forma de compuesto orgánico complejo en la materia colorante de la sangre, interviene la oxidación de las materias orgánicas como transportador de oxígeno.

Según Willstatter, en concepto químico hay dos vidas que se desarrollan a la par: la vida sintetizadora de materias orgánicas y la materia demoleadora de las mismas, es decir, una vida reductora y otra

oxidante, la primera se realiza con la cooperación del magnesio, la segunda con el hierro.

**Algunos otros caracteres de la Clorofila.**—Ha sido aislada primero por Gauthier en 1877, dos años después por Hoppe, Seyler Guignet y otros, obteniéndola en estado cristalino. Se presenta en forma de finas agujas aplastadas, radiantes que se han referido al sistema monoclinico y que son dicroicas, verdes oscuras por reflexion y de color rojo manchado por transmision. Insolubles en el agua, se disuelven en éter, alcohol, bencina, etc.

La composición química ha denunciado que se trata de un cuerpo cuaternario, que no contiene hierro como se creía. Por tanto, la creencia general que cuando las hojas de las plantas palidecen y se tornan amarillas, es debido a la falta de hierro en la clorofila, es falsa, ya que la clorofila no contiene tal principio, si agregando hierro al suelo, según experimentos concluyentes en apariencia, la planta clorótica recobra su color verde habitual, es debido a una reacción química de la que resulta la producción de compuestos tánicos. Parece tener la clorofila una composición análoga a la de otras sustancias colorantes animales por ejemplo la bilirrubina de la bilis. La reacción de la clorofila inclina a creer, que es un cuerpo ácido, aunque débil.

Para la producción de la clorofila es necesario en primer término la luz la planta que nace en la oscuridad es amarilla, si sobre ellos actúan los rayos solares se torna de color verde. Actúan de modo distinto los diferentes rayos del espectro: los amarillos son más activos, la actividad decrece hacia el violeta y hacia el rojo.

Como la luz solar intensa destruye en parte el pigmento clorofílico, para la formación lo mismo que para la conservación de la clorofila, es más conveniente la luz difusa. Obra la artificial lo mismo que la solar si bien debe ser más intensa.

Cuando las plantas verdes se decoloran en la oscuridad es debido, según Wisner, a que se producen en gran cantidad ácidos orgánicos que destruye el pigmento clorofílico. Algunas plantas crasas (cactus) resisten mucho tiempo en la obscuridad sin que por esto pierda su color verde.

Acompaña siempre a la clorofila una sustancia amarilla que se denomina con el nombre de xantofila y cuya formación procede a la de aquella, los leucitos antes de convertirse en cloroleucitos pasan por xantoleucitos. La xantofila se forma en la obscuridad y se le conoce con el nombre de etiolina. Su coloración varía desde el amarillo pálido hasta el amarillo intenso. Este último color lo toma cuando se expone a la luz y la temperatura es muy baja.

Es insoluble en el agua, se disuelve en alcohol, su espectro contiene tres fajas anchas en la parte menos infrangible.

Por lo general la separación moderna de la clorofila a partir de las fibras de las plantas, sigue o bien los procedimientos de Wilstatter o bien los de Schert.

Wilstatter extrae el tejido seco de las plantas con una solución acuosa de acetona, pasa los pigmentos obtenidos a una solución de éter de petróleo, separa las xantofilas lavando el éter de petróleo con metanol de 80 por 100 y elimina el éter de petróleo de metanol mediante lavados sucesivos con agua hasta agotamiento completo, después de lo cual precipita la clorofila y separa por filtración a través de talco.

Schert hace una extracción preliminar del tejido seco de la planta mediante hexano y de esta forma elimina el caroteno. Se lleva a cabo una segunda extracción por medio de una solución acuosa de acetona al 80 por 100 con objeto de separar la clorofila de la xantofila. Se pasan los pigmentos a una solución de hexano y se extraen las xantofilas del hexano mediante metanol al 85 por 100. Finalmente se elimina el hexano del metanol mediante un lavado con agua hasta agotamiento total tras lo cual precipita la clorofila y se recupera mediante centrifugación a 30.000 r.p.m.

Winterstein y Stein obtienen la mezcla de los pigmentos en una solución etérea de bencina y los cromatografían sobre azúcar en polvo. Una vez desarrollado el cromatograma, la clorofila forma la zona azul verde inferior, que se extrae mediante una solución etérea de acetona. La clorofila B forma la zona amarilla verde superior, que puede ser eliminada mediante éter.

Estos principios de cromatografía se han empleado con éxito en la fabricación de clorofila.

Para poder trabajar con éxito en la química de la clorofila precisa que el químico llegue a la máxima experiencia práctica mediante cuidadosa repetición y comprobación de las reacciones conocidas. La química de la clorofila, emplea el uso de un número especial de métodos que difieren solo en pequeños cambios y que son aplicados a un gran número de derivados de la clorofila.

Su aplicación en la práctica es difícil, debido a la extrema labilidad de los compuestos, dependiendo su éxito en la mayoría de las veces de la experiencia adquirida.

El comportamiento espectrográfico de los pigmentos clorofílicos convierte el espectómetro en instrumento muy valioso en la química de la clorofila.

Se debe utilizar el éter lo más posible, ya que produce bandas de absorción muy definidas. Los espectros en medio alcalino suelen ser difusos y difíciles de medir. Por ser la clorofila muy sensible a la luz, puede ocurrir que al realizar la operación se produzcan cambios en las características de absorción, siendo por consiguiente necesario realizar la operación en un mínimo de tiempo.

Al preparar el tónico cualquier derivado de la clorofila, debe tener en cuenta su extrema labilidad, sensibilidad a la luz, a los ácidos y álcalis, y que pequeños cambios fundamentales en el producto que se esté preparando.

### **Obtención Industrial de la Clorofila.**

Se emplea la alfalfa deshidratada, por lo general ésta se recolecta durante su primera fase de crecimiento. Como quiera que el rendimiento de clorofila es función directa de la calidad de la alfalfa empleada después de deshidratarla cuidadosamente, para evitar la posible deshidratación de la clorofila, la harina obtenida se somete a un cuidadoso análisis. Una harina ideal será la que dé como resultado el siguiente análisis:

Caroteno	440.000 U. I./kg.
Proteína	20 %
Fibra (max.)	20 ..
Grasas	5 ..
Humedad	7 ..

Téngase en cuenta que una harina con un contenido en unidad de vitamina A igual a 440.000 por kg. producirá de un 4 a 4.5 kg. de clorofila por tonelada, mientras que una que contenga 330.00 U. sólo producirá de unos 2 a 3.6 kg. siendo este el motivo fundamental por el que se recomienda el análisis de la harina antes de su compra.

### Fases del Proceso Industrial de la Obtención.

Las fases que normalmente se siguen para la obtención de la clorofila son las siguientes: extracción con disolventes, separación de sustancias contaminadas, conversión de la clorofila en derivados estables.

Vamos a detallar someramente a continuación cada una de las fases para explicar luego con detalle la obtención de la clorofila empleando uno de los disolventes más usados en América concretamente en Lake Worth, formado por una mezcla de hexano-acetona.

#### Primera Extracción.

Esta fase se realiza por sistema continuo o discontinuo, y para ello se puede emplear una amplia gama de disolventes, y en algunos casos mezclas de varios, si bien esto último no es aconsejable debido al elevado gasto que se origina luego al quererse fraccionar o recuperar el disolvente. La Oil and Drug Report indica 58 disolventes (56) y entre estos citaremos los más importantes.

Alcohol etílico, acetato de etilo, dietil glicol, óxido dietilénico, cloruro de etilo, etilen glicol, dietil éter, monoacetato de dietilenglicol, éter butil-dietilenglicol, diacetona, ciclohexanona, cloroformo celosalve, tetracloruro de carbono, sulfuro de carbono, alcohol metílico, acetona, alcohol isopropílico, tolueno, aceite de parafina, carbinal hexano, benceno, grasas y aceites fijos, etc.

Si bien existen numerosos disolventes, los fabricantes prefieren mezclas de un disolvente y agua ya que de esta forma facilitan una rápida y completa extracción.

### **Extracción Mediante Mezclas de Hexano-Acetona.**

**Obtención industrial.** A partir de la ortiga, las hojas se cultivan generalmente en estado silvestre, una vez recogidas, se les saca a la sombra nunca al sol.

Las hojas de ortiga tienen la ventaja sobre otros productos vegetales que poseen una elevada riqueza en clorofila, y al secarse a la sombra sufren una pérdida muy pequeña de dicha riqueza. Durante el secado, el vegetal elimina de un 58 a un 60 por ciento de agua. Dato interesante es que de 1 kg. de hojas frescas contienen aproximadamente 1.5 de clorofila pura. Una vez que queda el vegetal seco el rendimiento es de unos 6 a 7.5 gm. por kg. pero como quiera que frecuentemente la ortiga contiene una elevada cantidad de tallos, el rendimiento se reduce a 5 a 6 gm. por kilo, pero como quiera que frecuentemente la ortiga contiene una elevada cantidad de tallos, el rendimiento se reduce a 5 ó 6 gm. por kilo de ortiga seca.

Una vez molidas las hojas secas se introducen en un extractor de cobre tipo Bucher y se hace circular una solución al 85% de acetona a la que se ha añadido una solución de sulfato de cobre al 5% hasta agotar las hojas.

La adición de  $\text{CuSO}_4$ , tiene como misión estabilizar la clorofila y evitar su descomposición por la acción de la luz. La cantidad de disolvente que se requiere para esta operación es de unos 300 --- 400, l de disolvente por cada 100 kilos de hojas secas.

Al cabo de 60 horas de maceración a temperatura ordinaria se descarga la colada del extractor Buchner que tendrá una coloración verde azulada, la masa resultante se vuelve a macerar en el tamiz Buchner y se repite esta operación hasta que se vea que la colada resultante quede de un color verde tenue, toda la solución se somete a destilación al objeto de recuperar el solvente y se le rectifica en una columna que la acetona tenga una pureza de 85%. El resto vegetal, una

vez agotado, puede desecharse, la colada, una vez eliminada el disolvente se trata con talco con buen poder absorbente en una proporción de 10 kilos de talco por cada 100 kilos de colada, se agita mecánicamente dentro de un agitador durante cierto lapso de tiempo y se añaden unos 20 litros de agua fría por cada 100 litros de solución agitándose hasta que la colada adquiera un color amarillento verdusco.

Se suspende la agitación y se deja en reposo, separándose el disolvente limpio en la capa superior, que pasa a un aparato rectificador para su recuperación. La pasta talco clorofila que queda como depósito se lava dos veces con acetona al 60 por 100 y se decanta, teniendo la precaución de agitar mecánicamente durante un intervalo de dos horas antes de proceder a cada una de las decantaciones. Mediante estos lavados se elimina la xantofila que haya podido quedar en el talco. La acetona empleada en los lavados pasa al recuperador, mientras que la mezcla talco clorofila se centrifuga y se lava repetidas veces con agua hasta que esta pasa incolora, teniendo la precaución de secar lo más posible la pasta dentro de la misma centrifuga. La mezcla de talco clorofila bien lavada centrifugada se lleva a un mezclador weiner y se mezcla con dos partes de sulfato sódico anhidro al objeto de secar la mezcla completamente a la temperatura ordinaria para evitar que la clorofila se destruya con el calor. Esta mezcla de clorofila talco es la que de ordinario se emplea en la industria.

### **Clorofila Técnica Soluble en las Grasas.**

#### **Procedimiento:**

La mezcla de talco clorofila se somete a una extracción con benceno anhidro hasta que la solución pase poco coloreada de verde.

La solución benzoica intensamente coloreada se filtra y se somete a una destilación a presión reducida y a temperatura que no sea superior a 30°C con lo que se recupera un máximo de benceno.

La pasta húmeda se coloca en un recipiente y se seca en un desecador al vacío al objeto de evitar que se estropee la clorofila. El rendimiento es de unos 1,400 gm. por cada 100 kg. de sustancias vegetal original seca. La pasta tiene una riqueza de uno 10 por 100 de

clorofila alfa-beta. Al objeto de evitar que el producto se descomponga, se diluye la pasta con peso de aceite de ricino.

### **Clorofila Pura en Polvo.**

Para obtener clorofila pura en polvo se procede de la siguiente manera:

Se extrae dos veces la mezcla talco clorofila dentro de un agitador a paletas con un peso cuádruple de éter de petróleo, seguida de una rápida evaporación. Mediante este tratamiento se consiguen eliminar los lípidos. A continuación se separa el solvente y se recupera por destilación.

La masa talco clorofila se trata en este momento con metanol absoluto, mediante extracción en frío, la solución metilica se agita varias veces con nueva cantidad de éter de petróleo para eliminar las últimas trazas de sustancias grasas. Después se deja la solución en reposo, se separa la clorofila precipitada, se seca por centrifugación lo más posible, se disuelve en éter de petróleo, secándose la solución etérea con sulfato sódico anhidro.

La solución etérea, una vez filtrada se seca, es adicionada con un fuerte exceso de éter de petróleo que precipita la clorofila con una riqueza de 95 - 98 por ciento de alfa-beta que se recoge y se seca.

Rendimiento: de un kilo de clorofila al 10 por ciento se tiene 0.9 - 1.0 de clorofila pura.

### **Obtención de la Clorofila al 10 por ciento mezclada con Talco.**

100gm. de clorofila en bruto se tratan a reflujo con una solución formica por 150 cm. de hidróxido de sodio en 10 litros de agua. El líquido aún caliente se trata con una solución de cloruro de calcio hasta que no se produzca más precipitado.

El precipitado color verde se separa por filtración del caldo, se lava con agua y finalmente se extrae con alcohol caliente el compuesto clorofila calcio se calienta hasta ebullición con una cantidad calcu-

lada de carbonato de sodio en solución diluída.

Esta solución se separa filtrando el carbonato de calcio que se forma, se concentra a presión reducida y se seca evitando siempre el empleo de la temperatura.

### **Extracción de Clorofila.**

El método propuesto por Guillemare y Lecount para extraer la clorofila de las plantas que la continen en cantidad apreciable, consiste en tratarlas con solución concentrada de sosa cáustica y el extracto obtenido se hace reaccionar con ácido clorhídrico hasta neutralizar el álcali. El cloruro de sodio que se forma puede separarse por diálisis.

La clorofila así obtenida se fija firmemente sobre las semillas y se utiliza para colorear chicharos, judías y demás legumbres verdes en conserva a las que imparte un color verde natural.

### **Parte Experimental.**

Considerando que hay plantas que crecen en abundancia y que tienen aplicaciones limitadas por lo que cualquiera nueva aplicación que se les pueda dar redundará en un marcado beneficio para la región, se pensó en determinar el contenido en clorofila en plantas tan comunes en nuestras zonas desérticas como el maguey, el nopal y el órgano.

La técnica que seguimos fué la siguiente:

- 1.—Se machacó una muestra pesada de la parte pulposa de la penca.
- 2.—Se trató con alcohol de 95%.
- 3.—Se filtró y recogió la solución alcohólica en un embudo de separación.
- 4.—Se trató con éter de petróleo, agitando.
- 5.—Se desechó la capa alcohólica.

## Usos de la clorofila.

El uso de la clorofila como materia colorante inofensiva para alimentos y productos farmacéuticos es corriente desde hace varios años. Se estima que los derivados que tienen valor en el campo terapéutico incluyen: clorofilinas solubles en agua y clorofilinas solubles en aceites. Entre las primeras está la clorofilina sódica-magnésica de fórmula  $C_{35} H_{72} O_8 N_4 Mg_2 Na_2$  y clorofilina sódico - cúmprica de fórmula  $C_{35} H_{72} O_8 N_4 Cu Na_2$  y en las solubles en aceites, está la leofitina férrica de fórmula  $C_{35} H_{72} O_8 N_4 Fe$  que se ha usado como estimulante hematopoyético en el tratamiento de la anemia.

La clorofila soluble en agua actúa especialmente como agente cicatrizante en úlceras y heridas de difícil curación. Actúa como estimulante celular que produce una proliferación rápida y sostenida del nuevo tejido normal y sano y como desodorizante eficaz de las lesiones férdas.

En forma de pomadas, es útil en tratamientos de ciertos eczemas aliviando también el prurito. Es especialmente valiosa en estos casos por no producir acción tóxica, irritación local y reacciones sistemáticas.

Ultimamente se han indicado para la clorofila muchas otras aplicaciones, de las cuales todas no están aún plenamente conformadas. Su valor desodorante es el que ha sido más divulgado en éste tiempo y su eficacia en ciertos casos ha sido discutida.

En los Estados Unidos se han hecho experimentos que demuestran que la ingestión de 65 a 200 mg. de clorofila A, daba como resultado la disminución del olor por la transpiración axilar. Es efectivo también para neutralizar el mal aliento causado por los alimentos (cebolla, ajo, etc.), bebidas, tabaco y trastornos gastro-intestinales (halitosis). Se sugiere también en el mal olor de los pies y olores menstruales.

## RESULTADOS OBTENIDOS

### DATOS OBTENIDOS EN EL NOPAL

Peso de la muestra	203.90 g.
Color	verde oscuro
Tamaño de la penca	20 cm. de largo
Maceración	24 horas
Alcohol	250 cc.
Bencina	150 cc.
Residuo obtenido	0.0783 g.

203.90	0.0783	
100	X	X = 0.0384 %

Peso de la muestra	98 g.
Color	verde vivo
Tamaño de la penca	18 cm. de largo
Maceración	24 horas
Alcohol	100 cc.
Bencina	75 cc.
Residuo obtenido	0.0352

98	0.0352	
100	X	= 0.0359 %

Peso de la muestra	108.400 g.		
Color	verde claro		
Tamaño de la peca	17 cm. de largo		
Maceración	24 horas		
Alcohol	150 cc.		
Bencina	100 cc.		
Residuo obtenido	0.0335 g.		
	108.400	0.0335	
	100	X	X = 0.0353 %

Peso de la muestra	61.800 g.		
Color	verde claro		
Tamaño de la peca	20 cm. de largo		
Maceración	24 horas		
Alcohol	200 cc.		
Bencina	75 cc.		
Residuo obtenido	0.0218 g.		
	61.800	0.0218	
	100	X	X = 0.0353 %

Peso de la muestra	161.850 g.		
Color	verde claro		
Tamaño de la peca	14 cm. de longitud		
Maceración	24 horas		
Alcohol	250 cc.		
Bencina	100 cc.		
Residuo obtenido	0.057 g.		
	161.850	0.057	
	100	X	X = 0.0305 g.

Peso de la muestra	108.400 g.
Color	verde claro
Tamaño de la penca	17 cm. de largo
Maceración	24 horas
Alcohol	150 cc.
Bencina	100 cc.
Residuo obtenido	0.0335 g.

108.400	0.0335	
100	X	X = 0.0353 %

Peso de la muestra	61.800 g.
Color	verde claro
Tamaño de la penca	20 cm. de largo
Maceración	24 horas
Alcohol	200 cc.
Bencina	75 cc.
Residuo obtenido	0.0218 g.

61.800	0.0218	
100	X	X = 0.0353 %

Peso de la muestra	161.850 g
Color	verde claro
Tamaño de la penca	14 cm. de longitud
Maceración	24 horas
Alcohol	250 cc.
Bencina	100 cc.
Residuo obtenido	0.057 g.

161.850	0.057	
100	X	X = 0.0305 g.

Peso de la muestra	90.200 g.		
Color	verde vivo		
Tamaño de la pluma	17.5 cm. de longitud		
Maceración	24 horas		
Alcohol	100 cc.		
Bencina	75 cc.		
Residuo obtenido	0.036 g.		
	90.200	0.036	
	100	X	X = 0.0398 %

Peso de la muestra	101.150 g.		
Color	verde claro		
Tamaño de la pluma	13 cm. de longitud		
Maceración	24 horas		
Alcohol	150 cc.		
Bencina	75 cc.		
Residuo obtenido	0.031 g.		
	101.150	0.031	
	100	X	X = 0.0315 %

Peso de la muestra	80.500 g.		
Color	verde claro		
Tamaño de la pluma	13.5 cm. de longitud		
Maceración	24 horas		
Alcohol	10 cc.		
Bencina	50 cc.		
Residuo obtenido	0.0320 g.		
	80.500	0.0320	
	100	X	X = 0.0397 %

Peso de la muestra	145.700 g.		
Color	verde oscuro		
Tamaño de la penca	27 cm. de longitud		
Maceración	24 horas		
Alcohol	125 cc.		
Bencina	75 cc.		
Residuo obtenido	0.0524 g.		
	145.700	0.0524	
	100	X	X = 0.0359 %

Peso de la muestra	51.882 g.		
Color	verde claro		
Tamaño de la penca	13 cm. de longitud		
Maceración	24 horas.		
Alcohol	125 cc.		
Bencina	75 cc.		
Residuo obtenido	0.0268		
	51.882	0.0268	
	100	X	X = 0.0516 %

### DATOS OBTENIDOS EN EL MAGUEY

Peso de la muestra	100 g.		
Color	verde glauco		
Maceración	24 horas		
Alcohol	100 cc.		
Bencina	60 cc.		
Residuo obtenido	0.288 g.		
	100	0.0288	
	100	X	X = 0.0288 %

Peso de la muestra	100 g.		
Color	verde glauco		
Maceración	24 horas		
Alcohol	100 cc.		
Bencina	50 cc.		
Residuo	0.0220 g.		
	100	0.0220	
	100	X	$X = 0.0220 \%$

Peso de la muestra	100 g.		
Color	verde obscuro		
Maceración	24 horas		
Alcohol	100 cc.		
Bencina	50 cc.		
Residuo	0.0215 g.		
	100	0.0215	
	100	X	$X = 0.0215 \%$

Peso de la muestra	80 g.		
Color	verde obscuro		
Maceración	24 horas		
Alcohol	100 cc.		
Bencina	50 cc.		
Residuo	0.0205 g.		
	100	0.0205	
	100	X	$X = 0.0205 \%$

Peso de la muestra	100 g.		
Color	verde obscuro		
Maceración	24 horas		
Alcohol	100 cc.		
Bencina	50 cc.		
Residuo	0.0205 g.		
	100	0.0205	
	100	X	$X = 0.0205 \%$

### DATOS OBTENIDOS EN EL ORGANNO

Peso de la muestra	100 g.		
Color	verde vivo		
Maceración	24 horas		
Alcohol	100 cc.		
Bencina	50 cc.		
Residuo	0.0205		
	100	0.0205	
	100	X	$X = 0.0205 \%$

Peso de la muestra	100 g.		
Color	verde vivo		
Maceración	24 horas		
Alcohol	100 cc.		
Bencina	50 cc.		
Residuo	0.0200		
	100	0.0200	
	100	X	$X = 0.0200 \%$

Peso de la muestra	100 g.		
Color	verde obscuro		
Maceración	24 horas		
Alcohol	100 cc.		
Bencina	50 cc.		
Residuo	0.0205 g.		
	100	0.0205	
	100	X	X = 0.0205 %

#### DATOS OBTENIDOS EN EL ORGANNO

Peso de la muestra	100 g.		
Color	verde vivo		
Maceración	24 horas		
Alcohol	100 cc.		
Bencina	50 cc.		
Residuo	0.0205		
	100	0.0205	
	100	X	X = 0.0205 %

Peso de la muestra	100 g.		
Color	verde vivo		
Maceración	24 horas		
Alcohol	100 cc.		
Bencina	50 cc.		
Residuo	0.0200		
	100	0.0200	
	100	X	X = 0.0200 %

Peso de la muestra  
Color  
Maceración  
Alcohol  
Bencina  
Residuo

50 g  
verde vivo  
24 horas  
100 cc.  
80 cc.  
0.0103

50 0.0103  
100 X X = 0.0206 %

Peso de la muestra  
Color  
Maceración  
Alcohol  
Bencina  
Residuo

50 g  
verde vivo  
24 horas  
100 cc.  
80 cc.  
0.0103

50 0.0103  
100 Y Y = 0.0206 %

Peso de la muestra  
Color  
Maceración  
Alcohol  
Bencina  
Residuo

50 g  
verde vivo  
24 horas  
100 cc.  
80 cc.  
0.0103

50 0.0103  
100 Z Z = 0.0206 %

Peso de la muestra	50 g.
Color	verde vivo
Maceración	24 horas
Alcohol	100 cc.
Bencina	50 cc.
Residuo obtenido	0.0170 g.

50	0.017
----	-------

100
-----

X
---

X = 0.034 %
-------------

## BIBLIOGRAFIA

1. Química Orgánica. Brewster. Segunda Edición. P. 892, 893.
2. Botánica. Manuel Ruiz Oronoz. Tercera Edición. 1950. P. 227-248.
3. Diccionario de Química. Traducción Española y notas por el Dr. José Giral. 1943. P. 251.
4. López Pizarro, Olivia. Vol. 32, Tomo V. 1933. P. 220.
5. Bensaño Pérez Manuel. Tesis.
6. J. Ma. de Palacio Mac. Lenna. Revista. Afinidad. 1955. P. 188-193.
7. Botánica. Calderón M. P. 151.