

Influencia de la preparación de la corteza de *Rhizophora mangle* L. en el proceso de extracción sólido-líquido

Effect of the *Rhizophora mangle* L. bark preparation on the process of solid-liquid extraction

Tania Pérez Bueno,^I Yanet Rodríguez Perdomo,^{II} Elaine Díaz Casañas,^{III} Antonio Domínguez Parra,^{IV} Yamilka Riverón,^V Amalia Núñez^{VI}

^I Doctora en Ciencias Técnicas. Grupo de Desarrollo y Biotecnología Industrial (GDBI). Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). La Habana, Cuba.

^{II} Licenciada en Radioquímica. Investigadora Agregada. GDBI. CENSA. La Habana, Cuba.

^{III} Doctora en Ciencias Técnicas. CENSA. La Habana, Cuba.

^{IV} Ingeniero Químico. Universidad Agraria de La Habana. La Habana, Cuba.

^V Licenciada en Microbiología. Control de la Calidad. CENSA. La Habana, Cuba.

^{VI} Licenciada en Medicina. Control de la Calidad. CENSA. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: la corteza de *Rhizophora mangle* L., rica por su contenido de taninos, es la fuente de materia prima en la obtención de productos farmacéuticos desarrollados en el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. Para que los extractos obtenidos a partir de esta corteza tengan la calidad requerida, esta debe ser secada y molinada antes de pasar a la etapa de lixiviación.

Objetivos: evaluar diferentes métodos de secado y diferentes tamaños de partículas sobre el rendimiento del extracto acuoso de la corteza de *R. mangle*.

Métodos: se emplearon 3 métodos de secado (en estufa, al sol y a la sombra) y 2 tamaños promedios de partículas de la corteza de *R. mangle* para evaluar la calidad del extracto por determinación del contenido de sólidos solubles totales, taninos totales y actividad antimicrobiana *in vitro*. Para la comparación estadística de los resultados se utilizó el programa *Statgraphycs*.

Resultados: se observó que el secado en estufa y al sol son los más recomendados para este fin, además se obtuvieron extractos con cortezas molinadas con diferentes tamaños promedios de partículas y no se encontraron diferencias significativas en la evaluación de estos.

Conclusiones: los métodos de secado estudiados permitieron obtener buenos

resultados en la evaluación de la corteza; con el secado en estufa seguido del secado al sol se lograron los menores tiempos de operación.

Palabras clave: *Rhizophora mangle* L., mangle rojo, secado, molinado, extracción.

ABSTRACT

Introduction: *Rhizophora mangle* L. bark, rich in tannin content, is the source of raw material for pharmaceuticals manufactured at the National Center for Animal and Plant Health (CENSA). For the extracts obtained from the bark to have the required quality, it is necessary that the bark be dried and grounded before lixiviation.

Objectives: to evaluate different drying methods and several particle sizes on account of *R. mangle* aqueous extract yield.

Methods: Three drying methods (oven, sun and shade) and 2 average bark particle sizes were used to evaluate the extract quality by determining the total soluble solid content, total tannins and *in vitro* antimicrobial activity. The Statgraphycs program was used to statistically compare the results.

Results: it was observed that the oven drying and the sun drying were the most recommended methods; additionally, no significant differences were found in the extracts obtained from several average grounded bark particle sizes.

Conclusions: the studied drying methods allowed achieving good results in the evaluation of the bark. The oven drying followed by the sun drying accounted for the shortest operating times.

Key words: *Rhizophora mangle* L., red mangrove, drying, grinding, extraction.

INTRODUCCIÓN

Rhizophora mangle L. (denominado mangle rojo), se conoce tradicionalmente por sus propiedades medicinales. Como parte del estudio de plantas cubanas con actividad antimicrobiana, se reporta el efecto que ejercen extractos acuosos y alcohólicos de hojas, tallos y raíces de mangle rojo sobre bacterias, hongos y levaduras.¹

Por otra parte, se refiere el efecto antimicrobiano del extracto acuoso de la corteza frente a diversos microorganismos;² el efecto antiséptico *in vivo* de una formulación líquida obtenida a partir de este extracto,³ la evaluación con resultados satisfactorios en ensayos clínicos fase II como antiséptico y acelerador del proceso de curación en pacientes con heridas quirúrgicas abiertas⁴ y recién se evaluó su actividad farmacológica como medicamento antiulcerogénico.⁵

La reproducibilidad en la obtención de productos farmacéuticos a partir de plantas con la eficacia farmacológica e inocuidad deseada, depende en gran medida de la calidad de la materia prima. El secado y el molinado de las plantas medicinales facilitan su almacenamiento por períodos prolongados, lo cual evita posibles contaminaciones microbianas que afectan la calidad del material vegetal y de los metabolitos responsables de su actividad biológica.⁶

El objetivo de este trabajo consistió en evaluar el efecto del método de secado y del tamaño de partículas de la corteza de mangle rojo sobre el rendimiento de su extracto acuoso.

MÉTODOS

Material vegetal

La corteza de *R. mangle* correspondiente a la parte del tallo central de árboles adultos, se recolectó en enero de 2009, en Playa Rosario, municipio de Güines, La Habana, por especialistas de la Empresa Forestal Integral Mayabeque.

Recepción y muestreo

Se recibieron 7 sacos contentivos cada uno de 20 kg, como promedio, de corteza de mangle rojo en trozos. Se tomaron muestras de 3 sacos al azar, desde la superficie central hasta el fondo, en direcciones opuestas; se obtuvieron no menos de 2 muestras representativas de cada envase, las cuales se mezclaron y se dividieron en 4 porciones casi iguales, se unieron 2 porciones diametralmente opuestas y se desecharon las otras 2. El muestreo se realizó según procedimiento descrito en PNO-G-138 para la preparación de la muestra compuesta.

Contenido de material orgánico contaminante (MOC)

La cantidad de corteza muestreada se pesó y se extendió sobre una superficie de papel apropiada para proceder a separar y pesar las sustancias extrañas que esta contenía y se determinó el porcentaje de MOC, como la relación entre la masa de las sustancias extrañas (g) y la masa total de corteza (g).

Contenido de humedad (H)

Se realizó en balanza con calentamiento por irradiación infrarrojo (Sartorius MA35), según lo recomendado en el manual del equipo; se midió la diferencia de peso una vez que se obtuvo una masa constante a 105 °C. El análisis se realizó por triplicado empleando 5 g de corteza.

Secado de la corteza de mangle rojo

La cantidad de 8 kg de corteza húmeda de mangle rojo en trozos se dividió en 3 partes iguales y ubicadas en bandejas perforadas, para realizar el estudio de secado con los métodos siguientes:

- *Secado a la sombra*: ubicadas en un lugar fresco protegido del sol y la lluvia a una temperatura media de 22 ± 4 °C.

- *Secado en estufa*: colocadas en estufa Hotpack a 50 ± 2 °C.
- *Secado al sol*: expuestas al sol en el horario de 8:30 a.m. a 4:30 p.m., en días sin lluvia, a temperatura media de 30 ± 3 °C.

Diariamente se muestrearon cortezas de cada bandeja, para realizar el control de humedad en balanza infrarrojo, hasta que esta fue menor que 15 %.

Con el método de secado seleccionado se evaluó el efecto del tamaño de partícula sobre el rendimiento de extracción.

Reducción del tamaño de partícula de la corteza de mangle rojo

La corteza seca fue molinada empleando 2 tipos de molinos: de cuchillas y de martillo, que brindaron diferentes tamaños de partículas. Para conocer la distribución del tamaño de las partículas obtenida con ambos molinos, se realizó un análisis de tamizado con un juego de tamices de 2 mm, 0,5 mm, 0,212 mm y 0,150 mm acoplados a un tamizador vibratorio Retsch. Se realizaron tres corridas experimentales de 25 g por cada muestra molinada, durante un tiempo de vibración de 10 min cada una.

Después de molinado el material vegetal, se conservó en bolsas independientes de nailon, bien selladas, a temperatura ambiente hasta su evaluación.

Preparación de los extractos acuosos

Para la evaluación del método de secado y del tamaño de partículas, se obtuvieron extractos con las cortezas de mangle rojo según el procedimiento reportado:⁷

En un reactor de laboratorio de acero inoxidable, 2,5 L de capacidad, se realizó la lixiviación de la corteza de mangle rojo en agua con una relación sólido/líquido (S/L) de 1/10, temperatura de 90 °C durante 1 h y velocidad de agitación de 200 rpm.

Los extractos obtenidos se filtraron en caliente por papel de filtro para eliminar los sólidos y se les determinó el contenido de sólidos solubles totales (SST), taninos totales (TT) y la actividad biológica.

Contenido de SST: se determinó el peso de los sólidos disueltos en el extracto filtrado con el empleo de la técnica de peso seco (PNO-G-027) en balanza infrarrojo.

Contenido de TT: se realizó la precipitación cuantitativa de los taninos en el extracto acuoso con albúmina sérica bovina, determinación colorimétrica con cloruro férrico como reactivo de coloración y lectura de la densidad óptica a 510 nm.⁸

Actividad biológica: se evaluó según PNO-G-142, con la valoración del efecto antimicrobiano de los extractos a través de la técnica de difusión en agar, donde se realizó la medición del halo de inhibición (HI) al crecimiento de la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 12598 en un período de 24 h. La actividad antimicrobiana se valoró mediante rangos de halos de inhibición, considerados para

caracterizar este efecto: actividad marcada >16 mm, actividad moderada 12-16 mm y actividad ligera 8-12 mm.⁹

Cada determinación se realizó por triplicado. Para la comparación estadística de los resultados se utilizó el programa *Statgraphycs* (versión 5.1).

Las técnicas utilizadas están descritas en los Procedimientos Normalizados de Operación (PNO), documentos oficiales del Sistema de Calidad del CENSA.

RESULTADOS

Evaluación inicial del material vegetal

En la evaluación de la corteza proveniente de Playa Rosario en Güines, se obtuvo en el análisis de MOC un valor de 0,24 %. En el caso de la humedad, como se trata de un material recién recolectado esta fue de 34,12 %, valor superior al límite establecido de 15 %.

Estudio de secado de la corteza de mangle rojo

Los resultados de rendimiento en cuanto a SST, TT, así como el diámetro del HI al crecimiento para cada régimen de secado se observan en la tabla 1.

Tabla 1. Evaluación de los diferentes métodos de secado

Tipo de tratamiento	SST (mg/mL)	TT (mg/mL)	HI (mm)
Secado a la sombra	38,3 ± 1,2 a	10,47 ± 0,41 a	19,7 ± 0,6
Secado en estufa	39,7 ± 1,2 a	13,36 ± 0,12 b	18,3 ± 0,6
Secado al sol	37,3 ± 2,3 a	10,45 ± 0,46 a	16,7 ± 0,5

SST: sólidos solubles totales, TT: taninos totales, HI: halo de inhibición. Letras desiguales indican diferencias significativas para $p > 0,05$.

En el análisis de varianza se obtuvo que los resultados en cuanto al contenido de SST no difieren significativamente ($p < 0,05$) entre los 3 métodos de secado. En cuanto al resultado de TT, la prueba de rangos múltiples evidenció diferencias significativas ($p > 0,05$) en el secado en la estufa frente a los secados al sol y a la sombra. En la medición del HI, todos los extractos tuvieron una actividad antimicrobiana mayor que 16 mm.

En la figura 1 se muestran las curvas de secado y los tiempos alcanzados para las 3 variantes evaluadas, donde el orden en que se logró alcanzar el valor de humedad inferior a 15 % fue tiempo en estufa < al sol < a la sombra.

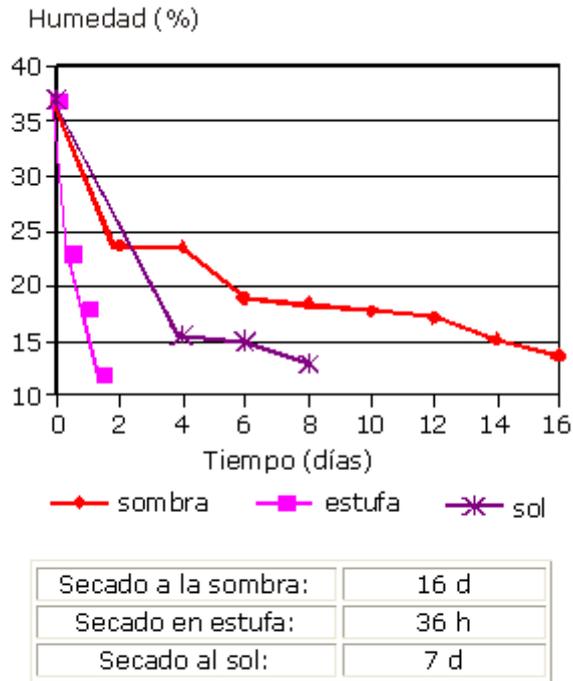


Fig 1. Curva de secado en función del tiempo.

Estudio de reducción del tamaño de partículas de la corteza de mangle rojo

Los resultados de la distribución del tamaño de partículas obtenidos con el empleo de los 2 molinos se muestran en la [tabla 2](#). En el primer tamizado (molino de cuchillas) 88 % de las partículas tuvo un tamaño menor que 1 mm, sobre todo con valores por debajo de 0,5 mm (69 %); este polvo se clasificó como fino y en el segundo tamizado (molino de martillo) 85 % de las partículas resultaron mayores que 1 mm, con un acumulado de 71 % en partículas por encima de 2 mm, al cual se clasificó como grueso.

Tabla 2. Fracciones promedios (Fn) obtenidas con cada molino en los diferentes diámetros de malla

Tipo de molino	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)	F4 (%)	F5 (%)	F6 (%)
Molino de cuchillas	25	9	35	19	12	-
Molino de martillo	4	1	5	5	14	71
Mallas (mm)	< 0,15	0,15-0,212	0,212-0,5	0,5-1	1-2	> 2

Al realizar la decocción de ambas cortezas de diferentes tamaños de partículas, no se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los análisis de TT y HI en las pruebas de rangos múltiples, que cumplió con el rango de especificación de calidad ($TT \geq 6$ mg/mL y $HI \geq 10$ mm). Tampoco se evidenciaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en el contenido de SST, sin embargo, se notó un leve aumento de este en los extractos obtenidos con el mayor tamaño promedio de partículas (fig. 2).

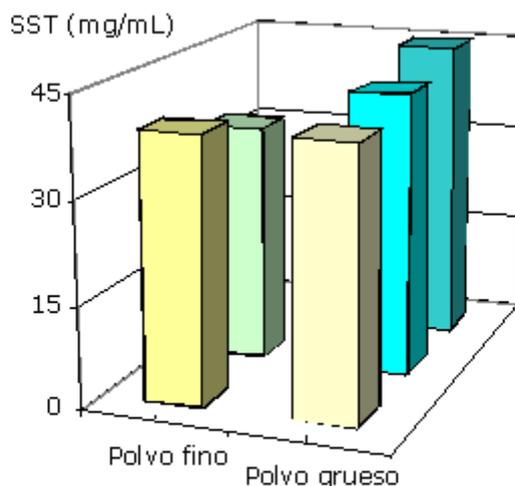


Fig. 2. Concentración de sólidos solubles totales de cortezas molinadas con diferentes tamaños de partículas

DISCUSIÓN

Evaluación inicial del material vegetal

Existen muchos factores que influyen en el contenido y rendimiento de los principios activos en las plantas, entre ellos, factores naturales como la edad de los árboles, el sitio de crecimiento (zonas geográficas, suelo, salinidad), las variaciones climáticas y los factores de índole genético.¹⁰ En el caso de *R. mangle* se plantea que se puede realizar la recolección en cualquier época del año siempre que se cumplan los aspectos técnicos del descortezado al obtener la corteza de la parte central de árboles adultos.¹¹

Las materias primas vegetales deben cumplir parámetros de aceptabilidad como la no presencia de materias contaminantes, por lo que luego de la recolección y antes de la comercialización, estas deben inspeccionarse para eliminar por medios mecánicos o manuales las materias extrañas que proporcionan una calidad inferior.¹²

En algunos materiales vegetales, el manejo poscosecha incluye el lavado y la desinfección con lo que se logra arrastrar cualquier materia no deseada.¹³ En el caso del tratamiento de la corteza de mangle rojo, esto no forma parte del procedimiento establecido por lo que con más razón hay que seleccionar adecuadamente el material.

En este sentido la corteza objeto de estudio cumplió con lo establecido como criterio de aceptación (RPNO-G-345) que corresponde a valores menores o iguales que 0,25 % en el análisis de MOC.

Estudio de secado de la corteza de mangle rojo

La etapa más importante en el procesamiento poscosecha es el secado, es decir, la reducción de la humedad en el material recolectado hasta niveles que permitan su conservación prolongada sin deterioro de la calidad en el material. El secado interrumpe los procesos de degradación causados por enzimas o fermentos, impide el desarrollo de microorganismos y reacciones de oxidación y de hidrólisis.¹²

Al evaluar la concentración de SST (tabla 1) para los 3 tratamientos de secado, se demostró la excelente calidad de esta zona de explotación de manglares, teniendo en cuenta que la media general para este parámetro está alrededor de 25 mg/mL cuando se trabaja con una relación S/L de 1/10.^{7,11}

Tabla 1. Evaluación de los diferentes métodos de secado

Tipo de tratamiento	SST (mg/mL)	TT (mg/mL)	HI (mm)
Secado a la sombra	38,3 ± 1,2 a	10,47 ± 0,41 a	19,7 ± 0,6
Secado en estufa	39,7 ± 1,2 a	13,36 ± 0,12 b	18,3 ± 0,6
Secado al sol	37,3 ± 2,3 a	10,45 ± 0,46 a	16,7 ± 0,5

SST: sólidos solubles totales, TT: taninos totales, HI: halo de inhibición. Letras desiguales indican diferencias significativas para $p > 0,05$.

La actividad farmacológica del extracto acuoso de la corteza de mangle rojo está directamente ligada a su alto contenido de taninos (componente mayoritario del extracto).¹⁴ Como se observa en la tabla 1, las mayores concentraciones de TT se obtuvieron con cortezas secadas a la estufa, no obstante, todos los tratamientos cumplieron con la especificación de calidad de la materia prima que establece como valores aceptables contenidos mayores que 6 mg/mL.¹⁵

Estos resultados confirman la marcada actividad antimicrobiana de cada uno de los extractos donde se presentaron halos de inhibición al crecimiento de *S. aureus* superiores a los 16 mm;⁹ el límite de aceptación para esta prueba biológica *in vitro* son valores superiores a 10 mm.¹⁵

En el tiempo de secado de un material botánico influyen numerosos factores, entre ellos se pueden citar las características de las plantas, el órgano a cosechar y la altura de la capa de materia vegetal, la cual fue similar en cada uno de los tratamientos de secado empleados.¹² Los factores temperatura ambiente, humedad relativa y velocidad del aire también van a desempeñar un papel importante en el tiempo de secado.

Al comparar los tiempos de secado de cada variante, se logró disminuir más rápido la humedad del material vegetal con el secado en estufa, seguido del secado al sol. Resultados similares fueron alcanzados al secar en estufa a 40 °C la corteza de *Stryphnodendron* sp. durante 48 h.¹⁶

Para una mayor eficiencia energética en la producción de las plantas medicinales, la tecnología de secado convencional con aire caliente por medio de combustible o electricidad puede sustituirse por el empleo de secadores solares, que tiene la ventaja del ahorro de energía con la obtención de un producto deshidratado de gran calidad y donde las condiciones higiénico sanitarias en comparación con el secado natural son superiores.¹⁷

Haciendo un análisis de todos los resultados se continuaron los estudios con la corteza secada al sol y se propone valorar la construcción de secadores solares para el tratamiento de la corteza húmeda de *R. mangle*.

Estudio de reducción del tamaño de partículas de la corteza de mangle rojo

Para la reducción del tamaño de materiales resistentes o fibrosos, como es el caso de la trituración de cortezas de árboles para la extracción de taninos vegetales, se describe la utilización de molinos de martillos o de cuchillas rotatorias.¹⁸

Se debe lograr una adecuada selección del tamaño de partícula pues por una parte la extracción de una droga entera o dividida en fragmentos groseros es incompleta, debido a la pobre o muy lenta penetración del solvente en el tejido vegetal y, por otra, la pulverización a un tamaño muy pequeño conduce a la formación de polvos demasiados finos, que provocan la compactación de estos y ocasionan una incompleta extracción de la droga, así como dificulta el proceso de separación S/L.¹⁹

Teniendo en cuenta los resultados se recomienda trabajar con cortezas molinadas a tamaños entre 1 y 5 mm.

AGRADECIMIENTOS

A Yisel Sánchez Vivó, técnico en Química Industrial, Raimundo Lazo y Rafael Lorenzo, técnicos en Medicina Veterinaria del CENSA por su colaboración en la realización de este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rojas N, Coto O. Propiedades antimicrobianas de extractos de *Rhizophora mangle* L. Rev Cubana Med Trop. 1978;30(3):181-7.
2. Armenteros M, Ginorio MC. Determinations of the minimum inhibitory concentration of *Rhizophora mangle* L. (Red mangrove) against different microorganisms. Rev Salud Anim. 1999;21(2):135.
3. Melchor G, Fernández O, Álvarez E, Fragas I, Lobo E. Evaluación del efecto antiséptico *in vivo* del CIKRON-H. Rev Mex Ciencias Farmac. 2001;32(2):25-30.
4. Fernández O, Capdevila JZ, Dalla G, Melchor G. Efficacy of *Rhizophora mangle* L. aqueous bark extract in the healing of open surgical wounds. Fitoterapia. 2002;73(7/8):564-8.
5. Sánchez LM, Ruedas D, Gómez BC. Gastric antiulcer effect of *Rhizophora mangle* L. J Ethnopharmacol. 2001;77:1-3.
6. Álvarez A, González JA, Urquiola A, García M, Monteagudo R. Influencia del método de secado y el tiempo de almacenamiento en estante de las hojas de *E. minutifolium* Griseb sobre la actividad citotóxica y antiherpética Tipo 1. Rev Cubana Química. 2007;XIX(1):33-5.
7. Díaz A. Propuesta de inversión de una planta de productos naturales [Tesis de Diploma]. La Habana: Facultad de Ingeniería Química, CUJAE; 2001.

8. Travieso MC, Hechevarría OL, Betancourt A, Frontela M, Miranda I. Validación del método de determinación de taninos totales en productos naturales vegetales. *Rev Protección Veg.* 1998;13:189-94.
9. Toda M, Kubo SO, Hara Y, Shimamura T. Antibacterial and bactericide activity of the tea extracts and catechins against methicillin resistant *S. aureus*. *J Bacteriol.* 1994;46(5):845-9.
10. Sánchez LM, Escobar A, Valcárcel L. Caracterización preliminar de la materia prima de *Rhizophora mangle* L. en la obtención de productos farmacéuticos procedentes de tres zonas geográficas de Cuba. *Rev Salud Anim.* 2005;27(2):1-9.
11. Escobar A, Fragas I, Sánchez LM, Pérez T, Riverón Y, Marrero E. Evaluations of *Rhizophora mangle* L. bark coming from the western area of Cuba for biomedical destination. *Rev Salud Anim.* 2007;29(1):53-7.
12. Acosta L. La producción agrícola de plantas medicinales en Cuba garantía de calidad en la producción de fitofármacos. *Herbociencia*; 2006. Disponible en: <http://www.herbotecnia.com.ar/c-public-011.html>
13. Chifa C. Garantía y control de calidad de materias primas vegetales para fines farmacéuticos. *Rev Lab Ciencia.* 2005;4:6-8,24-6.
14. Sánchez LM. Composición química y actividad biológica de un extracto acuoso de cortezas de *Rhizophora mangle* L. [Tesis Doctoral]. La Habana: Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria; 1998.
15. CENSA. Registro de CIKRON-H: Medicamento de origen natural. Ciudad de La Habana; 2005. N-05-081-D03. CECMED.
16. Baiocchi TK, García J, da Costa S, Batista J, Farias JG, Kliemann HJ. Influência de fatores edáficos na produção de fenóis totais e taninos de duas espécies de barbatimão (*Stryphnodendron* sp.). *Pesquisa Agropecuária Tropical.* 2005;35(3):163-9.
17. Rodríguez C, Carballo C, Hechevarría I, Acosta L. Ahorro del uso de la energía en el secado de plantas medicinales. *Rev Cubana Plant Med.* [serie en Internet]. 2005;10(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962005000100011&lng=en&nrm=i&tlng=es
18. Yagüe GA. Los taninos vegetales. Madrid: Ministerio de Agricultura. Instituto Forestal de Investigaciones y Experiencias; 1969. p. 48.
19. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterápicos. Santafé de Bogotá: Convenio Andrés Bello (CAB)-Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED); 2000. p. 1-248.

Recibido: 15 de diciembre de 2009.

Aprobado: 30 de diciembre de 2010.

Tania Pérez Bueno. Grupo de Desarrollo y Biotecnología Industrial. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. Carretera de Jamaica y Autopista Nacional. AP 10, San José de Las Lajas. La Habana, Cuba. Teléf. (+53-47) 86 3653. Fax (+53-47) 86 3206. Correo electrónico: bueno@censa.edu.cu