

Extracción asistida por microondas para la obtención del extracto hidroalcohólico de *Aloe vera* L. (sábila)

Microwave assisted extraction to obtain the hydroalcoholic extract of *Aloe vera* L. (aloe)

Suslebys Salomón Izquierdo^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-8918-9994>

Julio César Pérez Suárez² <https://orcid.org/0000-0002-9754-9323>

Marilyn López Arma¹ <https://orcid.org/0000-0002-7087-063X>

¹Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). La Habana, Cuba.

²Centro Nacional de Toxicología (CENATOX). La Habana, Cuba.

*Autores para la correspondencia: suslebys.salomon@cidem.cu

RESUMEN

Introducción: El *Aloe vera* L. (sábila) de amplio uso en la medicina tradicional también posee efectos antitumorales e inmunoestimulante. Sus hojas contienen polisacáridos (de reconocida actividad anticancerígena) que se emplean como marcadores del control de la calidad del extracto hidroalcohólico (50 %) con el cual se elabora un jarabe. La extracción asistida por microondas es de reconocida importancia por la rapidez y la eficiencia en la obtención de fitoconstituyentes, comparado con los métodos convencionales.

Objetivo: Definir los parámetros de operación tiempo de extracción y potencia en la obtención del extracto hidroalcohólico a partir de hojas secas de *Aloe vera* L. mediante la energía de las microondas.

Métodos: Se empleó un horno de microondas doméstico modificado Sanyo EM-T109SS. El estudio de los factores tiempo de irradiación y potencia se realizó mediante un diseño de superficie respuesta factorial multinivel 3². Se utilizó como variable respuesta el rendimiento de polisacáridos totales determinados en base a manosa.

Resultados: Las condiciones óptimas fueron un tiempo de irradiación de 3,1 min, una potencia de 696 W y para un valor predicho de polisacáridos totales de 2,29 %, que no difiere estadísticamente del valor experimental. Frente al método tradicional por maceración (24 h y

1,03±0,23 % de rendimiento) la extracción asistida por microondas demostró la superioridad en cuanto a significativos ahorros de tiempo con mayor recobrado de polisacáridos.

Conclusiones: Los resultados mostraron que la extracción asistida por microondas puede ser empleada como un método eficiente para la obtención de extracto hidroalcohólico del *Aloe vera* L.

Palabras clave: *Aloe vera* L.; extracción asistida por microondas; polisacáridos; extracción sólido-líquido.

ABSTRACT

Introduction: *Aloe vera* L. (aloe), widely used in traditional medicine, also has antitumor and immunostimulant effects. Its leaves have polysaccharides (of recognized anticancer activity) that are used as markers of quality control of the hydroalcoholic extract (50%) with which syrup is made. Microwave-assisted extraction, compared to conventional methods, is of recognized importance for the speed and efficiency in obtaining phytoconstituents.

Objective: To define the parameters of operation, extraction time and power in obtaining the hydroalcoholic extract from dried leaves of *Aloe vera* L. through the energy of microwaves.

Methods: A modified Sanyo EM-T109SS domestic microwave oven was used. The study of irradiation time and power factors was carried out using a design of 3² multilevel factorial response surface. The yield of total polysaccharides determined on the basis of mannose was used as a response variable.

Results: The optimal conditions were an irradiation time of 3.1 min, a power of 696 W and for a predicted value of total polysaccharides of 2.29 %, which does not differ statistically from the experimental value. Compared to the traditional method by maceration (24 h and 1.03±0.23% yield) microwave-assisted extraction demonstrated superiority in terms of significant time savings with greater recovery of polysaccharides.

Conclusions: The results showed that microwave-assisted extraction can be used as an efficient method to obtain hydroalcoholic extract of *Aloe vera* L.

Keywords: *Aloe vera* L.; microwave-assisted extraction; polysaccharides; solid-liquid extraction.

Recibido: 11/12/2019

Aceptado: 11/01/2022

Introducción

La obtención de extractos estandarizados de manera más económica, segura y amigable con el medio ambiente ha guiado a las investigaciones al desarrollo de nuevos métodos y tecnologías, superiores a los métodos convencionales de extracción. Por tanto, son objeto de investigación continua con el fin de optimizar, entre otros, los procesos de extracción con la mejora y la sustitución de las tecnologías tradicionalmente empleadas.^(1,2,3,4)

Las microondas son radiaciones electromagnéticas no ionizantes. Su principal efecto cuando interactúan con un material receptivo es de naturaleza térmica. La rapidez en el calentamiento es la principal ventaja de las microondas frente a los métodos tradicionalmente empleados. También reduce los volúmenes de extracción, se obtienen altos recobrados de los compuestos de interés y no contamina el medio ambiente. Mediante la aplicación de esta tecnología más limpia y segura se logran procesos extractivos de mayor factibilidad económica constituyendo aspectos deseables de alcanzar en todo proceso de extracción. Su empleo es objeto de creciente interés en la extracción de fitoconstituyentes con probadas actividades farmacológicas.^(1,2,3,4)

Aloe vera L. comúnmente conocida como sábila, pertenece a la familia Liliaceae, de la cual existen 180 especies, muchas procedentes del este y sur de África e introducida en Asia, Europa y América. Ampliamente estudiada en relación a su uso terapéutico en humanos ha sido utilizada en la medicina por miles de años.⁽⁵⁾

El gel obtenido del tejido parenquimatoso de las hojas se le ha comprobado propiedades como cicatrizante, antiulceroso, antiviral, anticancerígeno, hipoglicemiente, hipolipemiente, antiinflamatoria e inmunomoduladora.^(5,6)

Dentro de los metabolitos más estudiados en el *Aloe vera* se encuentran los polisacáridos, que representan el 30 % del peso seco del parénquima de la hoja, a los que se les atribuyen muchas de las actividades biológicas que presenta la planta. El acemanano (1,4 acetilmanano) es la fracción polisacárida mayoritaria presente en el gel, el cual es ha sido extensamente estudiado. Está reportado que posee efectos inmunoestimulantes ya que incrementa la actividad fagocítica, así como estimula los linfocitos al incrementar la síntesis de las citoquinas IL-1 e IL-6. De igual forma potencia la transcripción de los genes de algunas citoquinas y estimula la respuesta de células CD4⁺ Th2.^(5,6)

En el Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM) se produce el jarabe de *Aloe vera* L, uno de los productos de mayor demanda en el mercado nacional. El extracto hidroalcohólico a partir de hojas secas se obtiene por maceración con etanol al 50 % en la planta de producción del centro. Teniendo en cuenta lo referido anteriormente, el objetivo del

trabajo fue evaluar las variables de proceso: tiempo de extracción y potencia que influyen en la obtención del extracto hidroalcohólico a partir de hojas secas de *Aloe vera* L. mediante el empleo de la energía de las microondas y comparar este método de extracción con el tradicional.

Métodos

Material vegetal

Se emplearon hojas desecadas y fragmentadas (8 a 10 mm de tamaño de partículas) de *Aloe vera* L. suministradas en febrero del 2010 procedentes de la Estación Experimental de Plantas Medicinales “Dr. Juan Tomás Roig” de San Antonio de los Baños. Fueron identificadas por el DrC. Víctor Fuentes Fiallo con el número de herbario ROIG 4591.

Estudio de la influencia de la potencia y el tiempo de extracción mediante la extracción asistida por microondas

El proceso de extracción se llevó a cabo en un horno de microondas doméstico modificado, SHARP-4A56M, con un nivel de potencia máxima de 900 W, acoplado a un condensador. Los parámetros estudiados fueron: potencia y tiempo de irradiación.

La evaluación del tiempo y la potencia se realizó mediante la metodología de superficie respuesta (MSR) donde se empleó un diseño factorial multinivel 3^2 de 11 experimentos en un bloque. Se utilizó como disolvente etanol 50 % y una relación disolvente/material vegetal de 12,6 mL/g. Los niveles de los factores estudiados fueron para el tiempo entre 1 y 5 min y para la potencia entre 540 y 900 W.

Se emplearon 20 g de material vegetal en todos los casos. Los experimentos se realizaron en un reactor de cristal esférico de un litro de capacidad (conectado a un condensador de serpentín enchaquetado en posición de reflujo) dentro de la cavidad del horno, colocado en el sitio de mayor radiación determinado previamente.⁽⁷⁾ Al finalizar el proceso se separó el extracto del residuo vegetal utilizando gasa y se filtró bajo presión reducida a través de tela filtrante.

A los resultados del diseño se les realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar las variables con diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Además, se realizó un análisis de regresión múltiple para determinar a partir del coeficiente de determinación (R^2) y del coeficiente de determinación ajustado (Adj. R^2) si existe buena

correlación entre los valores obtenidos. Para el cálculo del punto óptimo, un polinomio de segundo orden se ajustó para la correlación entre las variables independientes y la variable respuesta (rendimiento de polisacáridos totales).

Extracción por el método tradicional

La extracción por el método tradicional se llevó a cabo en un reactor de cristal de fondo esférico de 1 L de capacidad donde se utilizó 20 g de material vegetal, con una relación 12,6 mL/g de etanol al 50 %, durante 30 min con agitación y a continuación 24 h en maceración. Después se separó el extracto del residuo vegetal utilizando gasa y se filtró bajo presión reducida a través de telo filtrante. El ensayo se realizó por duplicado.

Determinación del contenido de polisacáridos totales

El contenido de polisacáridos totales (Pt) se realizó basado en la determinación espectrofotométrica de la concentración de carbohidratos totales mediante la hidrólisis y la deshidratación de los carbohidratos por acción del ácido sulfúrico concentrado. A consecuencia de este proceso, se forman derivados del furfural y en presencia de fenol se produce un complejo de color amarillo-naranja con absorción máxima a 490 nm. Se empleó manosa como patrón de referencia.⁽⁸⁾

Rendimiento de polisacáridos totales

El rendimiento de polisacáridos totales expresados en porcentaje (%) se calculó por la siguiente fórmula:⁽⁹⁾

$$m(\text{Pft}) = \frac{V_f \cdot c(\text{Pft})}{g(\text{MV})} \cdot 100$$

m(Pft): Masa de polisacáridos totales extraídos (g); Vf: Volumen final del extracto (mL); c(Pft): Concentración final de polisacáridos totales en el extracto % (g/100 mL); g(MV): Masa de material vegetal (g); 100: Coeficiente para el expresar el resultado en porcentaje.

Resultados

Optimización de la potencia y el tiempo de extracción

En la tabla 1 se muestran las corridas experimentales del diseño en forma aleatoria con los resultados de la variable respuesta, donde se evidencia que los rendimientos de polisacáridos varían desde 1,5 % hasta 2,37 %.

Tabla 1 - Resultados del diseño experimental

Corrida experimental	Tiempo (min)	Potencia (W)	Rendimiento de polisacáridos totales (%)
1	5,0	900,0	1,28
2	1,0	540,0	1,15
3	5,0	540,0	1,65
4	1,0	900,0	1,61
5	1,0	720,0	1,38
6	3,0	540,0	2,10
7		900,0	1,69
8	5,0	720,0	1,60
9-11*	3,0	720	2,37±0,10

*: promedio de los tres experimentos expresados como X±SD.

Mediante la aplicación del análisis de regresión múltiple a los datos experimentales las variables respuestas y las variables independientes se correlacionan a un polinomio de segundo orden como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento de polisacáridos totales} = -4,537 + 1,44816 * \text{tiempo} + 0,013082 * \text{potencia} - 0,166776 * \text{tiempo}^2 - 0,000576389 * \text{tiempo} * \text{potencia} - 0,00000808967 * \text{potencia}^2$$

El análisis de variancia (ANOVA) del modelo de regresión cuadrático muestra que los valores del coeficiente de determinación (R²) y del coeficiente de determinación ajustado (Adj. R²) fueron 90 y 80 % de manera respectiva, lo que sugiere un alto grado de correlación entre los valores observados y predichos, indicativo de un buen ajuste. De igual modo se evidenció que el parámetro que tiene influencia estadísticamente significativa sobre la variable respuesta es la interacción cuadrática del tiempo ($p=0,0032$), corroborándose mediante el diagrama de Pareto (Fig. 1) donde se puede observar que su influencia es en forma negativa.

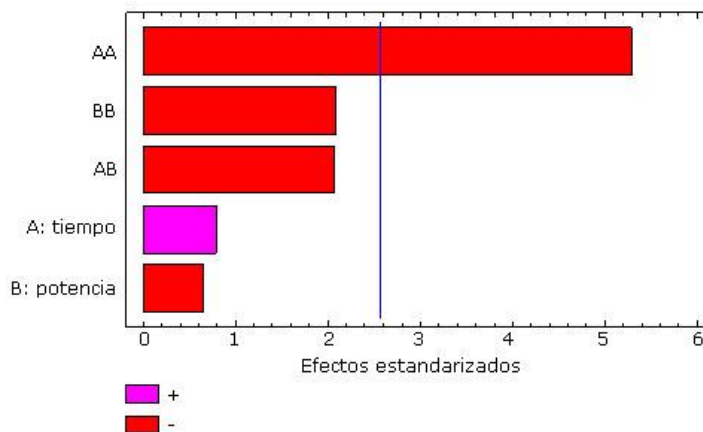


Fig. 1 - Diagrama de Pareto para el rendimiento de polisacáridos totales.

En el gráfico de efectos principales (Fig. 2) se demuestra que el rendimiento se incrementa al aumentar el tiempo hasta un punto donde posteriormente comienza a decaer.

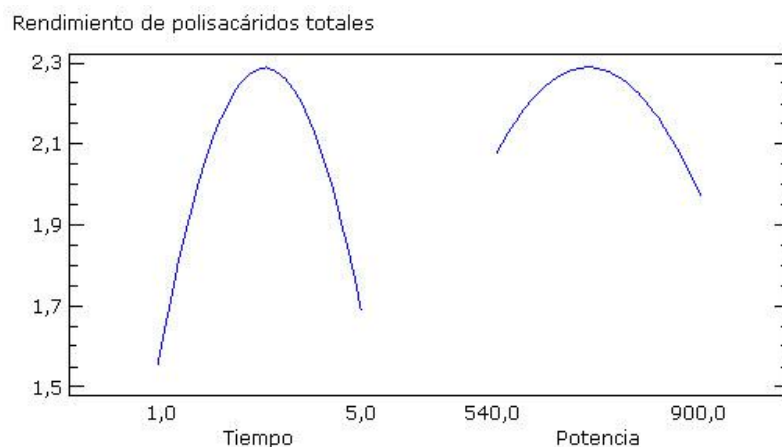


Fig. 2 - Gráfico de efectos principales para el rendimiento de polisacáridos totales.

Los resultados del gráfico de superficie respuesta (Fig 3) demuestra que existe un máximo global el cual corresponde a las condiciones más favorables para la extracción de polisacáridos totales con un tiempo de irradiación de 3,1 min y la potencia de 696 W, para un valor predicho de polisacáridos totales de 2,29 %. No difiere estadísticamente del valor experimental obtenido para el nivel medio de los factores estudiados (tiempo de 3 de min y potencia de 700 W), con un valor de $2,37 \pm 0,10$ %.

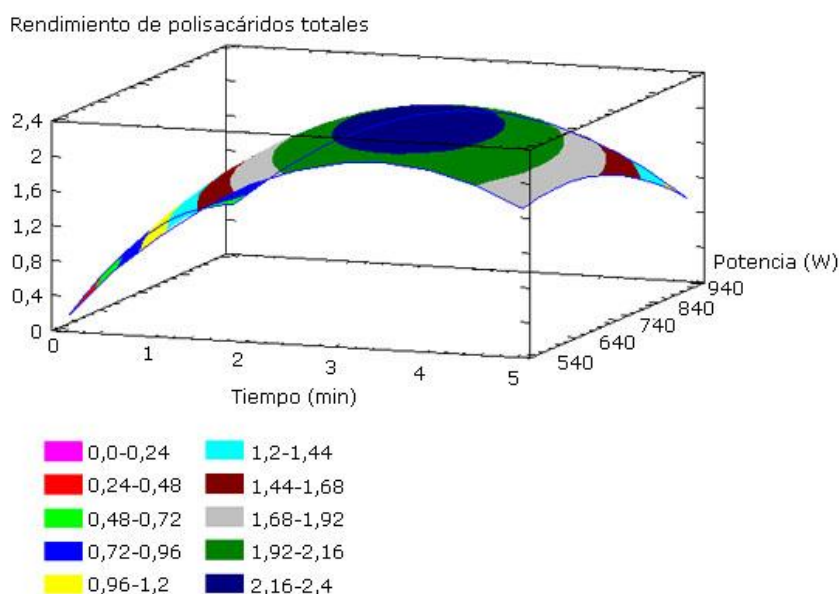


Fig. 3 - Gráfico de superficie respuesta para el rendimiento de polisacáridos totales.

Comparación de la EAM con el método convencional de extracción

En la tabla 2 se muestran los valores del tiempo de extracción y el rendimiento de extracción de polisacáridos que se tuvo en cuenta para el análisis de los métodos de extracción.

Tabla 2 - Comparación del método de extracción tradicional con la extracción asistida por microondas

Parámetros	Tradicional	Microondas
Tiempo de extracción	24 h	3 min
Rendimiento de polisacáridos totales (%)	1,03±0,23	2,37±0,10

Existe una gran diferencia en el tiempo en que el cual se lleva a cabo la extracción de polisacáridos contenidos en las hojas. Al emplear el método de extracción por microondas el tiempo de extracción fue de 3 min, 490 veces más rápido en comparación con el método tradicional.

Mediante el proceso tradicional el rendimiento de la extracción fue de 1,03±0,23 %, y existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos métodos ($p=0,0010$). El rendimiento obtenido con el microondas es 2,3 veces mayor que el obtenido por el método tradicional.

Discusión

La metodología de superficie de respuesta ha sido empleada para la optimización de los parámetros de extracción de diferentes compuestos a partir de matrices vegetales utilizando diversas técnicas de extracción incluyendo las microondas. Como protocolo experimental estadístico, optimiza los parámetros de procesamiento de una manera eficiente y permite interpretar de forma fácil el efecto de las variables y su interacción.^(10,11)

La variable del proceso que tiene efecto significativo sobre la extracción de polisacáridos a partir de hojas secas de *Aloe vera* L. al emplear la energía de las microondas es el tiempo. En el rango estudiado, el rendimiento de polisacáridos se incrementa rápidamente al aumentar el tiempo de extracción hasta un máximo de 3,1 min. Este fenómeno podría explicarse debido a que el aumento del tiempo de extracción incrementa la efectividad del proceso debido a que la acción del microondas favorece la penetración del solvente dentro de la matriz sólida. Esta penetración se lleva a cabo de forma rápida al inicio del proceso de extracción debido a la ruptura celular provocando la desabsorción de los polisacáridos, difundiéndolos al medio circundante.^(12,13)

Está demostrado que la principal ventaja del proceso de extracción por microondas es la aceleración cinética de la disolución de los metabolitos como consecuencia de los procesos caloríficos rápidos que ocurren cuando un campo de microondas se acerca a una muestra.⁽³⁾

Posterior al tiempo de 3,1 min el rendimiento decae, lo cual presupone que una exposición de tiempo excesiva pudiera provocar la degradación de los polisacáridos debido a la alta temperatura interna que se genera por la acción de las microondas.^(14,15)

Al analizar la potencia no se evidenció un efecto estadísticamente significativo sobre el rendimiento de polisacáridos totales bajo las condiciones de estudio. Sin embargo, a medida que se incrementa la potencia de las microondas, aumenta el rendimiento hasta un máximo, producto del aumento de la rotación de los dipolos y con ello la energía cinética de las partículas. Se genera un incremento de la energía calorífica de la muestra y por tanto la solubilidad de los compuestos a extraer.

Teniendo en cuenta la operatividad del equipo no es posible reproducir las condiciones óptimas teóricas. Sin embargo al realizar el proceso bajo condiciones adecuadas de 3 min y 700 W de potencia se obtuvo un valor de $2,37 \pm 0,10$ %. Este resultado se encuentra estrechamente asociado con el teórico predicho de 2,29 %, por lo cual los resultados confirman la validación de la ecuación del modelo.⁽¹⁶⁾

Mediante la extracción asistida por microondas se logran mejores resultados desde el punto de vista del rendimiento como en la velocidad de extracción respecto al método de obtención tradicional por maceración en la obtención del extracto hidroalcohólico a partir de hojas secas de *Aloe vera* L.

Teniendo en cuenta los resultados anteriores se demuestra la principal ventaja de las microondas en cuanto a la disminución drástica de los tiempos de extracción con un elevado recobrado de los metabolitos de interés. Es un método factible para su implementación industrial por su bajo costo y mantenimiento.^(2,17) La EAM puede ser empleada como una vía de extracción eficiente para la obtención del extracto hidroalcohólico del *Aloe vera* L.

Referencias bibliográficas

1. Chan CH, Yusoff R, Ngoh GC, Kung FW. Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants. *J Chromatogr A*. 2011;1218(37):6213-25. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.07.040>

2. Chemat F, Cravotto G. Microwave-assisted extraction for bioactive compounds: Theory and practice. Food Engineering Series 4. New York: Springer Science+Business Media; 2013. DOI: <https://link.springer.com/10.1007/978-1-4614-4830-3>
3. Bagade SB, Patil M. Recent advances in microwave assisted extraction of bioactive compounds from complex herbal samples: A review. Crit Rev Anal Chem. 2021;51(2):138-49. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1686966>
4. Mandal V, Mohan Y, Hemalatha S. Microwave assisted extraction. An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. Pharmacognosy Reviews. 2007;1(1):7-18. DOI: <https://scialert.net/abstract/?doi=rjmp.2011.21.31>
5. Artunduaga Antury KL, Vargas Rojas DA, Barrera Bermeo M. Conservación de las propiedades nutraceuticas del aloe vera (*Aloe Barbadensis* Miller), mediante técnicas de secado. Ingeniería y Región. 2021 [acceso: 03/01/2022];25:6-21. Disponible en: <https://journalusco.edu.co/index.php/iregion/article/view/2818>
6. In YP, Ki SL. New perspectives on aloe. New York: Springer Science+Business Media. 2006. DOI: https://link.springer.com/10.1007/978-0-387-34636-6_6
7. Pérez JC. Extracción asistida por microondas de los lípidos de las semillas de *Cucurbita pepo* L. [Tesis de curso]. La Habana: Universidad de La Habana, Facultad de Química; 2012.
8. Yaron, A. Characterization of *Aloe vera* gel before and after autodegradation and stabilization of the natural fresh gel. Phytotherapy Research. 1993;7:11-3. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.2650070706>
9. Azaroual L, Liazid A, Mansouri FE, Brigui J, Ruíz A, Barbero GF. Optimization of the microwave assisted extraction of simple phenolic compounds from grape skins and seeds. Agronomy. 2021;11(8):1527. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy11081527>
10. Le B, Golokhvast KS, Yang SH, Sun S. Optimization of microwave assisted extraction of Polysaccharides from *Ulva pertusa* and evaluation of their antioxidant Activity. Antioxidants (Basel). 2019;8(5):129. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox8050129>
11. Tirado V. An overview on the use of response surface methodology to model and optimize extraction processes in the food industry. Curr Res Nutr Food Sci. 2021;9(3). DOI: <http://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.9.3.03>
12. Aourach M. Optimization and comparison of ultrasound and microwave assisted extraction of phenolic compounds from cotton lavender (*Santolina chamaecyparissus* L.). Agronomy. 2021;11(1):84. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy11010084>

13. Prakash JM, Manikandan S. Response surface modeling and optimization of process parameters for aqueous extraction of pigments from prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit. *Dye Pigment*. 2012;95:465-72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2012.06.007>
14. Prakash JM, Nivetha CV, Priya B, Al-Dhabi NA, Ponmurugan K, Blessing JJ. Modeling of polysaccharide extraction from *Gossypium arboreum* L. seed using central composite rotatable design. *Internat J Biological Macromolecules*. 2016;23-49. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.094>
15. Zhao B, Zhang J, Guo X, Wang J. Microwave assisted extraction, chemical characterization of polysaccharides from *Lilium davidii* var. unicolor salisb and its antioxidant activities evaluation. *Food Hydrocolloids*. 2013;31:346-56. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.11.021>
16. Chen C, Shao Y, Tao Y, Wen H. Optimization of dynamic microwave assisted extraction of armillaria polysaccharides using RSM, and their biological activity. *LWT Food Sci Technol*. 2015;64 (2):1263-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.009>
17. Japón R, Luque JM, Luque MD. Multivariate optimisation of the microwave assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Anal Bioanal Chem*. 2006;385:753-9. DOI: <https://link.springer.com/10.1007/s00216-006-0419-0>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: Suslebys Salomón Izquierdo.

Investigación: Suslebys Salomón Izquierdo, Julio César Pérez Suárez, Marilyn López Arma.

Metodología: Suslebys Salomón Izquierdo.

Administración del proyecto: Suslebys Salomón Izquierdo.

Redacción del borrador original: Suslebys Salomón Izquierdo.

Redacción, revisión y edición: Suslebys Salomón Izquierdo.