

CONTENIDO DE POLISACÁRIDOS BIOACTIVOS DE *ALOE Barbadensis* MILLER BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS

Zacatecas-Ibañez JA^{a*}, Ramírez-Camacho EA^a, Candelas-Cadillo MG^a, Rodríguez-González VM^a, Femenia A^b, Minjares-Fuentes R^b, Sáenz-Esqueda MA^a.

^a Universidad Juárez del Estado de Durango, Facultad de Ciencias Químicas, Av. Artículo 123 S/N, Fracc Filadelfia, C.P. 35010, Gómez Palacio, Durango, México.

^b Universidad de las Islas Baleares, Departamento de Química, Ctra. Valldemossa km 7.5, C.P. 07122, Palma de Mallorca, España.

*jorge_z25@hotmail.com

RESUMEN:

Los polisacáridos son componentes principales del *Aloe barbadensis* Miller (*Aloe vera*); se utilizan en industria farmacéutica y de alimentos, como gomas, hidrocoloides o biopolímeros. En este estudio se aplicó estrés hídrico a plantas de *Aloe vera* para incrementar la producción de polisacáridos. Cinco diferentes tratamientos fueron aplicados a plantas de *Aloe vera*: 40, 50, 70, 80 y 100%. El nivel de 100% fue tomado como Control. Los polisacáridos fueron extraídos con agua a partir de los residuos insolubles en alcohol del filete y su composición fue determinada por cromatografía de gases. Se observaron diferencias significativas en el contenido de polisacáridos en los diferentes niveles de estrés hídrico. El rendimiento de los polisacáridos solubles en agua osciló de 20 a 41%, en los niveles de 80 y 40% de estrés hídrico, respectivamente, mientras que un 34% fue obtenido en el *Aloe vera* control. El contenido de manosa (158 – 350 mg/g) y glucosa (13-35 mg/g) fueron los principales azúcares neutros presentes en el extracto de polisacáridos, seguido por una cantidad de galactosa (0.5 – 9 mg/g). Por otra parte, el alto contenido de manosa sugiere la presencia de acemanano, el principal polímero bioactivo del *Aloe vera*. Como conclusión, un alto estrés hídrico, ~40%, promueve un alto rendimiento de polisacáridos, específicamente un alto contenido del polímero acemanano.

ABSTRACT:

The polysaccharides are the main components of *Aloe barbadensis* Miller (*Aloe vera*). Commonly, these are used in pharmaceutical and food industry, as gums, hydrocolloids or biopolymers. Water stress was applied on *Aloe vera* plants to increase the polysaccharide content. Five different levels of water stress were applied to *Aloe vera* plants: 40, 50, 70, 80 and 100%. The 100% water stress level was taken as Control. The polysaccharides were water-extracted from the alcohol insoluble residues of the filete and its composition was determined by gas chromatography. Significant differences were observed in the polysaccharide content on *Aloe vera* at different water stress levels. The yield of the water soluble polysaccharides ranged from a 20 to 41%, in water stress levels 80 % and 40%, respectively, while a 34% in *Aloe vera* control was obtained, The mannose (158 – 350 mg/g) and glucose (13 – 35 mg/g) were the main neutral sugars presents in polysaccharides extracted, followed by low quantities of galactose (0.5 – 9 mg/g). Moreover, the high content of mannose suggests the presence of acemannan, the main bioactive polymer of *Aloe vera*. As conclusion, high water stress, ~40%, promotes high polysaccharide yields, specifically high acemannan polymer contents.

Palabras clave:

Aloe vera, Polisacáridos, Estrés hídrico.

Keyword:

Aloe vera, Polysaccharides, Water stress.

Área: Alimentos funcionales

INTRODUCCIÓN

Aloe vera

Aloe barbadensis Miller comúnmente conocida como Aloe vera es una planta suculenta, xerófila, que se adapta a la vida en zonas con baja disponibilidad de agua y se caracteriza por poseer un tejido con una elevada capacidad de almacenamiento de agua. Dicha capacidad se puede ver reflejada por el alto contenido de humedad, aproximadamente el 99 - 99.5% (Hamman, 2008), mientras que el restante 0.5 – 1.0% es material sólido. El sólido generalmente está formado por diferentes compuestos de los cuales aproximadamente el 60 % son polisacáridos, seguido por algunas vitaminas liposolubles, minerales, enzimas, compuestos fenólicos y ácidos orgánicos (Femenia *et al.*, 1999). Previamente, Femenia *et al.*, (1999, 2003) reportaron que la pared celular del filete y el gel se encuentran compuestos por polisacáridos formados por manosa glucosa y ácido galacturónico; siendo la manosa y la glucosa los azúcares predominantes, representando del 55% al 75% de los monosacáridos presentes. Sin embargo, es bien sabido que las diferentes condiciones de cultivo, así como las diferentes partes y edad de la planta y el método de extracción pueden afectar considerablemente su composición (Chithra *et al.*, 1998).

Actualmente la planta de Aloe vera es una fuente importante de diferentes compuestos biológicamente activos y de gran interés para la industria alimentaria. Diversos autores han reportado que la principal actividad biológica del Aloe vera es atribuida al acemanano. El acemanano es el mayor compuesto del Aloe vera, y consiste una larga cadena de manosa parcialmente acetilada con unidades de glucosa en relación 1:3 glucosa:manosa (Yaron, 1993; Femenia *et al.*, 1999; Djeraba and Quere, 2000; Lee *et al.*, 2001). Sin embargo, esta relación puede variar en función de la región y las condiciones de cultivo así como la variedad y la edad de la planta (Gowda *et al.*, 1979; Chow *et al.*, 2005; Mandal and Das, 1980)(Ray and Aswatha, 2013).

Por tal motivo, el principal objetivo de este estudio fue el de evaluar la composición de acemanano presente en Aloe vera cultivado en la región de la Comarca Lagunera de Durango bajo diferentes niveles de estrés hídrico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Plantas con diferente nivel de estrés hídrico fueron usadas como materia prima para el estudio. El nivel de estrés hídrico fue definido como el porcentaje de agua suministrada del total de agua evaporada al final de una semana (7 días). Los

niveles de estrés hídrico usados fueron: 40, 50, 70 y 80%. Plantas de Aloe vera con un nivel de estrés hídrico del 100 % fueron tomadas como referencia.

Las plantas de Aloe vera fueron proporcionadas por la Facultad de Agronomía y Zootecnia de la Universidad Juárez del Estado de Durango. Hojas de Aloe vera de aproximadamente 50 cm de longitud fueron utilizadas para el estudio. Las hojas fueron lavadas y secadas previamente a la extracción del filete. La extracción del filete se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Rodríguez-González *et al.*, (2011).

Residuos Insolubles en Alcohol (AIR)

Los residuos insolubles en alcohol (alcohol insoluble residues; AIR) de las muestras de Aloe vera fueron obtenidos mediante la inmersión en etanol caliente, con una concentración final del 85%, de acuerdo a la metodología propuesta por Femenia *et al.*, (1998). Los extractos obtenidos fueron triturados en un molino de laboratorio y tamizados con una malla de 0.5 mm de apertura.

Aislamiento de Acemanano

El aislamiento y purificación de acemanano se llevó a cabo de acuerdo a la metodología propuesta por Femenia *et al.*, (2003). Aproximadamente 300 mg de AIR de Aloe vera fueron suspendidos en 200 mL de agua destilada. La suspensión fue agitada durante 2 h a temperatura ambiente en un agitador magnético. Finalmente, la muestra fue centrifugada a 13000 xg durante 60 min. El sobrenadante fue congelado a -40 °C y liofilizado. El producto final fue etiquetado como Acemanano y almacenado en condiciones anhidras hasta su análisis.

Determinación de azúcares neutros

El análisis de carbohidratos se realizó como lo describió Rodríguez-González *et al.*, (2011) para los azúcares neutros. Azúcares fueron liberados de los residuos mediante hidrólisis ácida. Aproximadamente 5 mg de acemanano se dispersaron en 200 μ L de H₂SO₄ 12 M durante 3 h seguido de dilución a 1 M y se hidroliza a 100 °C durante 2.5 h (Saeman *et al.*, 1954). Una segunda muestra se hidroliza sólo con 1 M de H₂SO₄ (100 °C durante 2.5 h). El contenido de celulosa se estima por la diferencia de la glucosa obtenida por la hidrólisis de Saeman y el método de hidrólisis 1M. Los azúcares neutros fueron derivatizados a sus acetatos de alditol y separados isotérmicamente a 220 °C mediante GC equipado con un detector FID y una columna de 30 m DB-225 (J & W Scientific, Folsom, CA, EE.UU.) con un diámetro interno y un espesor de película de 0.25 mm y 0.15 μ m, respectivamente. Así mismo, los ácidos urónicos fueron determinados mediante el método colorimétrico propuesto por Blumenkrantz y Asboe-Hansen (1973), utilizando una

muestra hidrolizada durante 3 h a 20 °C en 12 M H₂SO₄, seguido de 1 h a 100 °C en 1 M H₂SO₄.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto del nivel de estrés hídrico sobre la producción y composición de acemanano fue evaluado en este estudio. Diferencias significativas fueron encontradas entre los diferentes niveles de riego y el control ($p < 0.05$). En la **Tabla I** se puede observar que el rendimiento del acemanano oscilo entre un ~20% hasta un ~41%, cuando la planta fue sometida a niveles de estrés del 50% y el 40% respectivamente, mientras que un rendimiento de ~34% fue observado en el tratamiento control.

Tabla I. Porcentaje de acemanano extraído de gel de Aloe vera

Tratamiento	% de Rendimiento
CTRL	34.16
Ac40	41.5
Ac50	20.64
Ac70	30.47
Ac80	22.6

Así mismo se puede observar que la composición en monosacáridos fue diferente significativamente en función del nivel de estrés aplicado ($p < 0.05$). En la **Tabla II** se puede observar que los principales monómeros encontrados en el acemanano fueron manosa y glucosa, seguido por una bajo contenido de galactosa. Por otra parte, el contenido de manosa fue significativamente mayor en las muestras que fueron tratadas a 70 y 80% de nivel de estrés, observando se valores de 350 y 302 mg/g de muestra, respectivamente. Mientras que el contenido de manosa de la muestra control fue de 158 mg/g de muestra. Adicionalmente, se observo que polisacáridos ricos en glucosa fueron obtenidos cuando la planta fue sometida a un nivel de estrés del 70% y 40% con 25 y 35 mg/g de muestra, respectivamente.

Tabla II. Composición del Acemanano extraído de Aloe vera a diferentes niveles de estrés

Carbohidratos (mg/g de muestra)						
	Ram	Ara	Xil	Man	Gal	Glc
CTRL	4.8 ± 0.80	8.78 ± 0.19	24.32 ± 0.06	158.85 ± 1.28	0.56 ± 0.48	13.76 ± 6.96
Ac40	1.23 ± 0.14	2.92 ± 0.20	3.43 ± 0.11	215.90 ± 37.52	8.38 ± 0.54	34.90 ± 3.06
Ac50	0.19 ± 0.26	2.57 ± 0.38	1.50 ± 0.29	206.87 ± 58.63	6.54 ± 1.18	19.93 ± 2.41
Ac70	0.8 ± 0.24	2.9 ± 0.36	2.38 ± 0.02	302.18 ± 9.73	7.21 ± 0.13	25.07 ± 2.22
Ac80	1.08 ± 0.22	3.73 ± 0.15	2.29 ± 0.17	349.67 ± 20.86	8.91 ± 0.68	31.8 ± 0.82

CONCLUSIONES

El aumento del estrés hídrico promueve que la planta de Aloe vera sintetice una mayor cantidad de polisacáridos de almacenamiento de agua, como lo es el acemanano. Así mismo, es posible obtener materia prima para la industria de alimentos, con un elevado contenido de acemanano si la planta se somete a un estrés del 40%, generando así productos alimenticios con un elevado valor agregado.

BIBLIOGRAFÍA

- Hamman JH. 2008. Composition and applications of Aloe vera leaf gel. *Molecules* 13:1599–1616.
- Femenia A, Sanchez ES, Simal S, Rosello C. 1999. Compositional features of polysaccharides from Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) plant tissues. *Carbohydrate Polymers* 39:109-117.
- Chithra P, Sajithlal GB, Chandrakasan G. 1998. Influence of Aloe vera on the glycosaminoglycans in the matrix of healing dermal wounds in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 59:179–186.
- Femenia A, García-Pascual P, Simal S, Rosselló C. 2003. Effects of heat treatment and dehydration on bioactive polysaccharide acemannan and cell wall polymers from Aloe barbadensis Miller. *Carbohydrate Polymers* 51(4):397–405.
- Djeraba A, Quere P. 2000. In vivo macrophage activation in chickens with Acemannan, a complex carbohydrate extracted from Aloe vera. *International Journal of Immunopharmacology* 22(5):365–372.
- Lee JK, Lee MK, Yun YP, Kim Y, Kim JS, Kim YS. 2001. Acemannan purified from Aloe vera induces phenotypic and functional maturation of immature dendritic cells. *International Immunopharmacology* 1(7):1275–1284.
- Yaron A. 1993. Characterization of Aloe vera gel before and after autodegradation and stabilization of the natural fresh gel. *Phytotherapy Research* 7:11–13.

- Gowda DC, Neelisiddaiah B, Anjaneyalu YV. 1979. Structural studies of polysaccharides from Aloe vera. *Carbohydrate Research* 72:201–205.
- Chow JT-N, Williamson DA, Yates KM, Goux WJ. 2005. Chemical characterization of the immunomodulating polysaccharide of Aloe vera L. *Carbohydrate Research* 340:1131–1142.
- Mandal G, Das A. 1980. Structure of the glucomannan isolated from the leaves of Aloe barbadensis Miller. *Carbohydrate Research* 87:249–256.
- Ray A, Aswatha SM. 2013. An analysis of the influence of growth periods on physical appearance, and acemannan and elemental distribution of Aloe vera L. gel. *Industrial Crops and Products* 48:36-42.
- Rodríguez-González VM, Femenia A, González-Laredo RF, Rocha-Guzmán NE, Gallegos-Infante JA, Candelas-Cadillo MG, Ramírez-Baca P, Simal S, Rosselló C, 2011. Effects of pasteurization on bioactive polysaccharide acemannan and cell wall polymers from *Aloe barbadensis* Miller. *Carbohydrate Polymers* 86:1675-1683.
- Femenia A, Robertson JA, Waldron KW, Selvendran RR. 1998. Cauliflower (*Brassica oleracea* L.) globe artichoke (*Cynara scolymus*) and chicory witloof (*Cichorium intybus*) processing by-products as sources of dietary fibre. *Journal of Food Science and Agricultural* 77:511–518.
- Saeman JF, Moore WE, Mitchell RL, Millet MA. 1954. Techniques for the determination of pulp constituents by quantitative paper chromatography. *Tappi* 37(8):336-340.
- Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G. 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry* 54(2):484-9.