

Optimización de un proceso de obtención de extracto acuoso de *Ocimum sanctum* L. (albahaca morada)

Optimizing a process to obtain *Ocimum sanctum* L. (albahaca morada) aqueous extract

Rolando Carmona Fernández^I; Orestes Darío López Hernández^{II}; María Lidia Gonzáles Sanabía^{II}; Eutimio Gustavo Fernández Núñez^{IV}; Pedro Barzaga Fernández^I

^I Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. Máster en Ciencias en Química Farmacéutica. Investigador Aspirante. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana, Cuba.

^{II} Ingeniero Químico. Máster en Ciencias en Ingeniería de los Procesos Bioquímicos. Investigador Agregado. CIDEM. Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana, Cuba.

^{III} Técnico en Química Industrial. CIDEM. Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana, Cuba.

^{IV} Ingeniero Químico. Centro de Ingeniería e Investigaciones Químicas (CI IQ). Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: *Ocimum sanctum* L. (albahaca morada) es una especie medicinal tradicional con efecto hipoglucemiante y otros de interés terapéutico.

OBJETIVOS: optimizar una tecnología de obtención de extracto acuoso de *O. sanctum* y analizar la influencia de los parámetros de proceso.

MÉTODOS: se estudió el efecto de 3 variables en el proceso de obtención del extracto acuoso de las hojas y su optimización a partir de la maximización de los sólidos totales en el extracto y los valores de recobrados, obtenidos en un reactor cilíndrico de laboratorio con geometría desescalada de un reactor industrial. El estudio de superficie de respuesta realizado, utiliza un diseño híbrido con 11 experimentos, logra analizar 3 factores en 5 niveles y da una respuesta adecuada a la necesidad de determinar la influencia de las variables de proceso y los valores óptimos para la extracción.

RESULTADOS: la relación droga disolvente resultó ser la variable analizada que influyó con mayor significación en la extracción, aunque todas fueron significativas; y 100 °C de temperatura, relación droga/disolvente (1:11) y 3 h de agitación,

resultaron ser los parámetros óptimos de operación, para el procedimiento propuesto.

CONCLUSIONES: se determinó cuáles de los factores estudiados tenían influencia sobre el proceso, se demostró su significación y, además, se logró optimizar una tecnología de obtención de extracto acuoso de *O. sanctum* determinando los valores más adecuados para los parámetros de operación.

Palabras clave: *Ocimum sanctum*, *Ocimum tenuiflorum*, albahaca morada, extracto acuoso, optimización.

ABSTRACT

INTRODUCTION: *Ocimum sanctum* L. (albahaca morada) is a traditional medicinal herb with hypoglycaemic action and other therapeutic effects.

OBJECTIVES: to optimize a technique for obtaining aqueous extract from *O. sanctum* and to analyze the impact of the process parameters.

METHODS: the effect of three variables in the process of obtaining aqueous extract from *O. sanctum* leaves was studied along with the optimization of this technique on the basis of maximizing the number of total solids present in the extract and the recovery values by using a lab cylindrical reactor with de-scaled geometry of an industrial reactor. The response surface study used hybrid design of eleven experiments, managed to analyze 3 factors at five levels and adequately responded to the need of finding out the impact of the process variables and the optimal extraction values.

RESULTS: drug-solvent ratio was the most influential variable, being the most significant in the extraction, although all of them were significant. Also, 100 °C temperature, drug/solvent ratio (1:11) and three hours for shaking were the optimal operational parameters for the suggested process.

CONCLUSIONS: the factors having the highest impact on the process and their significance were found. Additionally, the technique to obtain *O. sanctum* aqueous extract was optimized by estimating the most adequate values for operational parameters

Key words: *Ocimum sanctum*, *Ocimum tenuiflorum*, albahaca morada, aqueous extract, optimization.

INTRODUCCIÓN

Ocimum sanctum L. se considera una planta sagrada para los hindúes, crece silvestre en la India pero es también cultivada en hogares y en los jardines de los templos.¹

O. sanctum tiene una larga historia de usos medicinales. Se menciona para el tratamiento de una variedad de condiciones como dolores, vómitos, fiebre, bronquitis, dolor de cabeza y enfermedades del corazón² y de la sangre, pero también ha sido usada en el tratamiento de diabetes, artritis y asma,³ y la forma tradicional de uso es el extracto acuoso de las hojas.^{4,5}

O. sanctum pertenece a la familia Lamiaceae. Contiene un aceite volátil constituido en 70 % por eugenol como metileugenol y cariofileno.^{3,6} Otros constituyentes con una deseada actividad farmacológica incluyen los triterpenoides: ácidos ursólico y rosmarínico, alcaloides, saponinas, flavonoides (como apigenina, luteonina y sus glicósidos), glicósidos de fenilpropano y taninos.^{1-3,7-9}

Las semillas de *O. sanctum* contienen aceites fijos, 5 ácidos grasos que contienen 17 % de ácido linolénico y otro 50 % de ácido linoleico.^{10,11}

Farmacológicamente, le han sido probados múltiples efectos, entre ellos, inmunomodulador, antiestrés, hepatoprotector, antiinflamatorio, analgésico y otros.

En Cuba, hay una larga tradición en el uso de las plantas con actividad hipoglicemante;¹² entre las más utilizadas se encuentra la albahaca morada (*O. sanctum*), a la cual, la población diabética le atribuye con mucha frecuencia una mejoría subjetiva a su afección. En trabajos realizados con anterioridad se ha reportado que un extracto acuoso de la planta, por decocción de hojas secas a 10 %, produce un efecto hipoglicemante en ratas diabéticas por estreptozotocina,¹³ resistentes a la insulina por dexametasona; sin cambios importantes en la secreción de insulina.¹⁴

Por causa de las potencialidades de uso que presenta esta planta, en este trabajo se tuvo como propósito optimizar una tecnología de obtención de extracto acuoso de *O. sanctum* y analizar la influencia de los parámetros de proceso.

MÉTODOS

Se empleó droga seca molinada clasificada como muy gruesa¹⁵ de *O. sanctum* L., número de *voucher* ROIG-4675, parabenos y agua desionizada. Se utilizó cristalería general de laboratorio y un reactor cilíndrico cuya geometría fue diseñada para el trabajo en el laboratorio, a partir de las dimensiones de un reactor industrial utilizando la potencia por unidad de volumen como criterio de desescalado. Se controló la temperatura con una manta de calentamiento, se fijó la velocidad de rotación del impelente en 2 500 rpm con un agitador Ika Werk RW-20 y se garantizó la retención del disolvente con un sistema de enfriamiento acoplado a un criostato HAKE GH.

El procedimiento consistió en realizar las extracciones utilizando el método de digestión dinámica, filtración a vacío, preservación de los extractos, realizar las mediciones de sólidos totales¹⁶ y el análisis de los resultados mediante el programa estadístico Desing-Expert ver5.

Para la determinación del efecto de los factores y sus interacciones, así como del gráfico de respuesta que definiría las condiciones óptimas del proceso, se utilizó un diseño híbrido, el cual con 11 experimentos se logró analizar la temperatura, la relación droga/disolvente (sin considerar el volumen necesario de humectación) y el tiempo de extracción en 5 niveles y se dio respuesta adecuada a los objetivos planteados.

RESULTADOS

A continuación, en la [tabla 1](#) se recogen los resultados del recobrado y los sólidos totales alcanzados en las diferentes corridas del diseño de experimentos, donde se evaluó la influencia de la temperatura y el tiempo de extracción además de la relación droga/disolvente.

Tabla 1. Características medidas del extracto final

Nº de corrida	Orden de corrida	A: temperatura codificada*	B: relación droga seca-disolvente codificada*	C: Tiempo*	Recobrado (%)	Sólidos totales (%)
1	4	1,000	-1,000	0,707	68,13	2,02
2	1	0,000	0,000	1,414	69,25	1,54
3	8	-1,414	0,000	-0,707	55,76	1,24
4	5	-1,000	1,000	0,707	69,14	1,23
5	11	0,000	0,000	0,000	67,00	1,49
6	9	0,000	1,414	-0,707	70,00	1,15
7	6	1,000	1,000	0,707	91,06	1,62
8	10	0,000	-1,414	-0,707	49,71	1,71
9	2	0,000	0,000	-1,414	56,66	1,26
10	3	-1,000	-1,000	0,707	54,64	1,62
11	7	1,414	0,000	-0,707	73,30	1,63

*En estos casos no se indican las unidades porque están codificadas.

En la [tabla 2](#), se muestra la significación de la influencia de los 3 factores estudiados sobre los sólidos totales y sobre el recobrado. En el caso de la temperatura, tiene un valor máximo confiable analizado por el diseño de 93 °C, aunque, atendiendo al comportamiento lineal en las inmediaciones de este valor con una pendiente elevada, la significación de este factor según los coeficientes estimados para ambas variables respuesta, tienen la mínima diferencia en los rangos de intervalos de confianza para sólidos totales ($\pm 0,12$ con 93 °C y $\pm 0,14$ con 100 °C), así como ($\pm 9,88$ con 93 °C y $\pm 10,52$ con 100 °C) para el recobrado, además de que el valor $+\alpha$ en este diseño para la temperatura es precisamente 100 °C. Las ecuaciones de ajuste del modelo estadístico se describen a continuación:

$$\text{Recobrado} = + 67,50 + 7,53 \cdot A + 8,27 \cdot B + 5,25 \cdot C - 2,23 \cdot C^2 + 2,11 \cdot A \cdot B$$

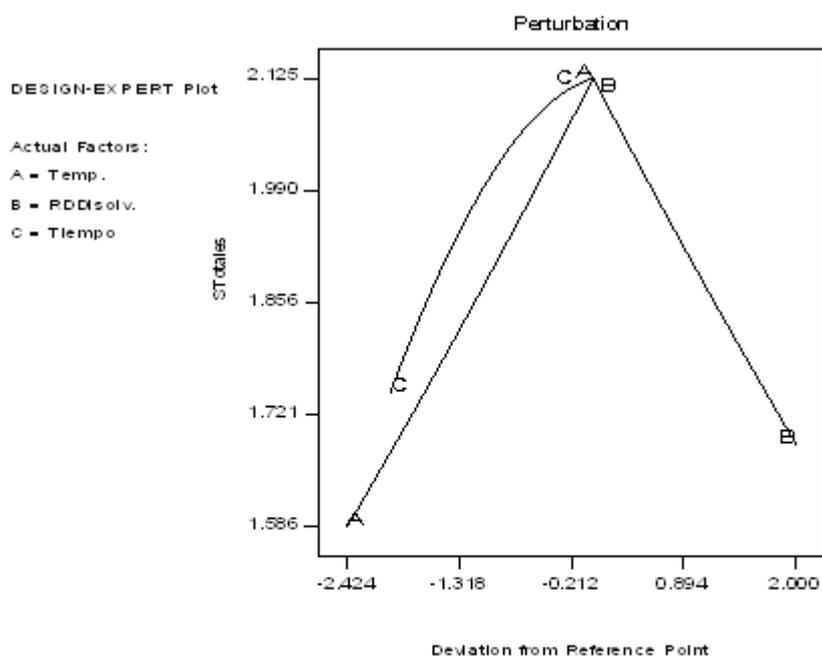
$$\text{Sólidos totales} = + 1,55 + 0,17 \cdot A - 0,20 \cdot B + 0,12 \cdot C - 0,071 \cdot C^2 + 0,042 \cdot A \cdot C$$

En las figuras [1](#) y [2](#) se muestra la influencia de los factores estudiados sobre los sólidos totales y el recobrado, respectivamente.

Tabla 2. Significación e influencia de los factores

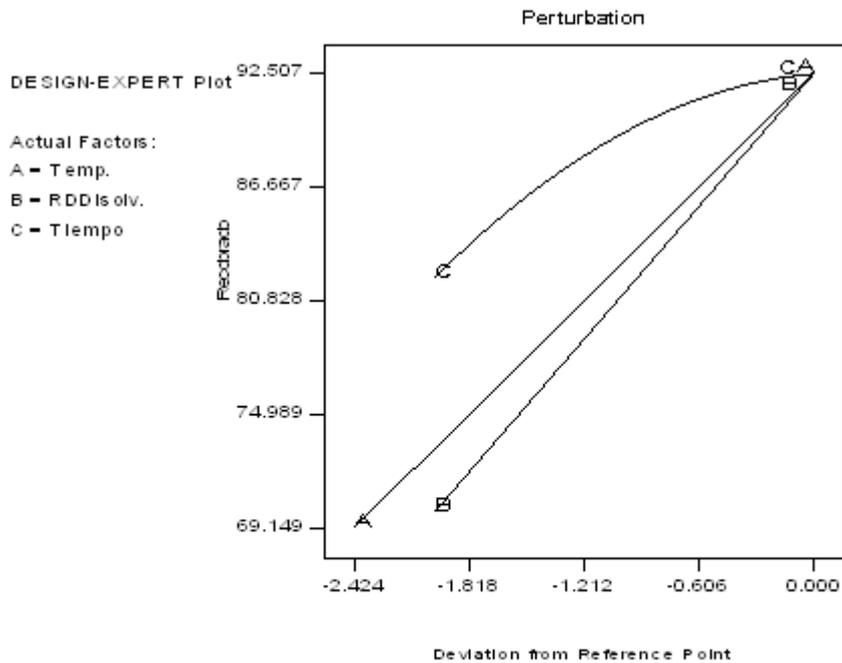
Factores para sólidos totales					
	Coefficiente estimado	gl	Error estándar	t para H ₀ Coeficiente= 0	p
Intercepto	1,55	1	0,018		
A-Temperatura codificada	0,17	1	0,014	12,20	< 0,0001
B- relación droga seca-disolvente codificada	-0,20	1	0,014	-14,38	< 0,0001
C-Tiempo	0,12	1	0,014	8,49	0,0004
C ²	-0,071	1	0,019	-3,74	0,0134
AC	0,042	1	0,019	2,17	0,0823
Factores para recobrado					
	Coefficiente estimado	gl	Error estándar	t para H ₀ Coeficiente= 0	p
Intercepto	67,50	1	1,49		
A-Temperatura codificada	7,53	1	1,13	6,67	0,0011
B- relación droga seca-disolvente codificada	8,27	1	1,13	7,33	0,0007
C-Tiempo	5,25	1	1,13	4,65	0,0056
C ²	-2,23	1	1,56	-1,43	0,2123
AB	2,11	1	1,60	1,32	0,2436

C² y AB= interacciones, gl= grados de libertad.



Temp: temperatura, RDDIsolv: relación droga seca-disolvente, S. Totales: sólidos totales.

Fig. 1. Sólidos totales y desviación desde el punto de referencia.



Temp: temperatura, RDDIsolv: relación droga seca-disolvente.

Fig. 2. Recobrado y desviación desde el punto de referencia.

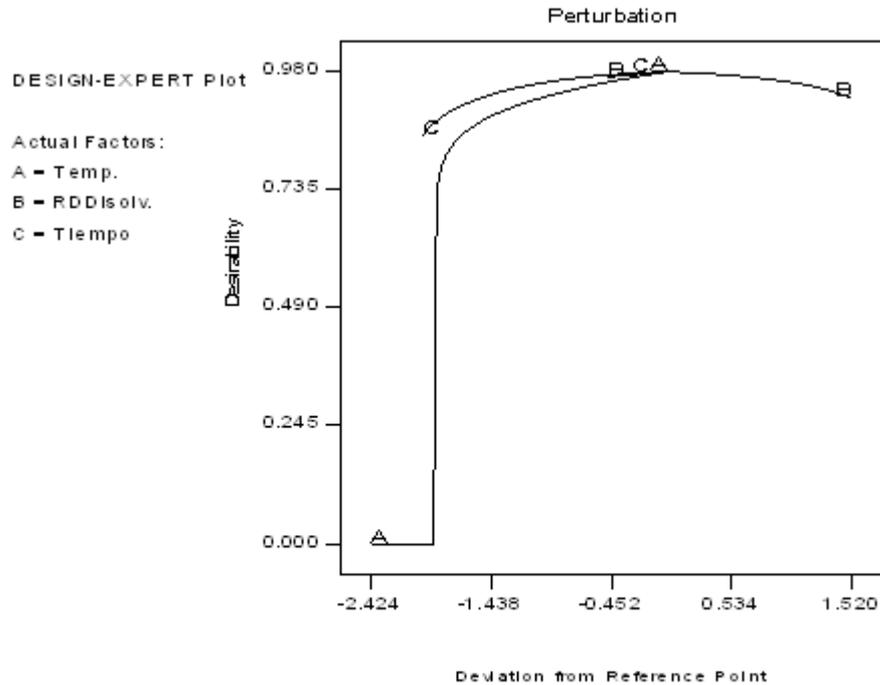
Como se observa en la [tabla 2](#) para las 2 variables respuesta del diseño, los factores estudiados tuvieron una influencia significativa ($p < 0,05$). Estos resultados ocasionan un conjunto de soluciones probabilísticas que se pueden predecir con el empleo del modelo ajustado del diseño ([tabla 3](#)).

Tabla 3. Soluciones más probables predichas por el diseño

Solución	Temperatura °C	Relación droga seca-disolvente *	Tiempo h	Recobrado %	Sólidos totales %	Deseabilidad
1	100	7,0	3,0	75,37	2,00	0,980
2	100	7,0	3,0	75,34	2,00	0,980
3	100	6,9	3,0	75,25	2,00	0,980
4	100	6,9	2,9	74,96	2,00	0,979

* disolvente respecto a una parte de droga seca.

Con el objetivo de optimizar la respuesta se maximizan las 2 variables de salida del diseño, lo cual permite determinar los niveles óptimos de los parámetros estudiados que aparecen en la [tabla 4](#) y en forma gráfica en la [figura 3](#).



Temp: temperatura, RDDisolv: relación droga seca-disolvente.

Fig. 3. Deseabilidad y desviación desde el punto de referencia.

Tabla 4. Optimización y predicción

Factores	Nivel	Variable respuesta	Predicción	95 % límite inferior	95 % límite superior
Temperatura	100 °C	Sólidos totales	2,00 %	1,85 %	2,14 %
Relación droga seca-disolvente	1:7	Recobrado	75,60 %	65,08 %	86,13 %
Tiempo	3,0 h				

DISCUSIÓN

Los resultados del diseño permitieron demostrar la influencia de los factores estudiados sobre las variables de respuesta. Tanto la temperatura como el tiempo de extracción provocaron una influencia positiva, mayor sobre los sólidos totales que sobre el recobrado. En el caso de la relación droga: disolvente, la influencia es también mucho mayor para los sólidos pero estas están en sentidos opuestos. Esto hace que a la hora de establecer los valores óptimos de las variables para el proceso de extracción, haya que llegar a una solución de compromiso que satisfaga una máxima respuesta en las 2 variables. También hay influencia de combinaciones de factores, como es el caso de la interacción de la temperatura con la relación droga: disolvente para el recobrado, la temperatura con el tiempo para los sólidos totales y el tiempo al cuadrado para ambos, aunque de estos últimos solo es significativo el tiempo al cuadrado para los sólidos totales.

Es interesante analizar cómo la temperatura tiende a comportarse, para cada una de las variables respuesta, de forma asintótica, lo que indica la posibilidad de que esté ocurriendo una saturación del medio en el tiempo aunque, según los resultados predichos por el modelo para los recobrados, no se considera necesario una segunda extracción.

Al analizar el comportamiento de los factores sobre la concentración de sólidos totales se puede observar cómo el valor máximo de temperatura y de tiempo, así como el mínimo de relación droga:disolvente, maximizan los sólidos totales. Por otra parte, estos resultados muestran cómo al maximizar los 3 factores se incrementan los valores de recobrado y se determina su ecuación.

Se determinó cuáles de los factores estudiados tenían influencia sobre el proceso, y se logró optimizar una tecnología de obtención de extracto acuoso de *O. sanctum*, mediante la determinación de los valores más adecuados de los parámetros de operación, que fueron 100 °C para la temperatura, 1: 7 para la relación droga seca:disolvente y para el tiempo de extracción de 3 h, lo cual garantiza la obtención de un extracto con 2 % de sólidos totales y un recobrado de sólidos solubles superior a 70 %.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wagner H, Nörr H, Winterhoff H. Plant adaptogens. *Phytomedicine*. 1994; 1:63-76.
2. Maity TK, Mandal SC, Saha BP, Pal M. Effect of *Ocimum sanctum* L. roots extract on swimming performance in mice. *Phytotherapy Research*. 2000; 14:120-1.
3. Agrawal P, Rai V, Singh RB. Randomized placebo-controlled, single blind trial of holy basil leaves in patients with non insulin-dependent diabetes mellitus. *International J Clin Pharmacol Therapeutics*. 1996; 34:406-9.
4. Godhwani S, Godhwani JL, Vyas DS. *Ocimum sanctum* L. An experimental study evaluating its antiinflammatory, analgesic and antipyretic activity in animals. *J. Ethnopharmacol*. 1987; 21:152-63.
5. Godhwani S, Godhwani JL, Vyas DS. *Ocimum sanctum* L. A preliminary study evaluating its immunoregulatory profile in albino rats. *J Ethnopharmacol*. 1988; 24:193-8.
6. Rai V, Iyer U, Mani UV. Effect of Tulasi (*Ocimum sanctum* L.) leaf powder supplementation on blood sugar levels, serum lipids and tissue lipids in diabetic rats. *Plant Foods Human Nutrition*. 1997; 50:9-16.
7. Devi PU, Bisht KS, Vinitha M. A comparative study of radioprotection by *Ocimum* flavonoids and synthetic aminothiols protectors in the mouse. *British J Radiol*. 1998; 71:782-4.
8. Kelm MA, Nair MG, Strasburg GM, DeWitt DL. Antioxidant and cyclooxygenase inhibitory phenolic compounds from *Ocimum sanctum* L. *Phytomedicine*. 2000; 7:7-13.

9. Balanehru S, Nagarajan B. Protective effect of oleanolic acid and ursolic acid against lipid peroxidation. *Biochem International*. 1991; 24:981-90.
10. Singh S, Majumdar DK. Evaluation of antiinflammatory activity of fatty acids of *Ocimum sanctum* L. fixed oil. *Indian J Exp Biol*. 1997; 35:380-3.
11. Singh S. Comparative evaluation of antiinflammatory potential of fixed oil of different species of *Ocimum* and its possible mechanism of action. *Indian J Exp Biol*. 1998; 36:1028-31.
12. Deás M, Crespo S, González RM. Estudio del mecanismo de acción hipoglicemiante de la albahaca morada (*Ocimum sanctum* L.) I, Efecto sobre la tolerancia a la glucosa y la secreción de insulina en modelos animales. *Rev Cubana Invest Biomed*. 1988; 7(1):53-9.
13. Crespo S, Güell E, Menéndez R, González R. Estudio del mecanismo de acción hipoglicemiante de albahaca morada (*Ocimum sanctum* L.) II, Efecto sobre la incorporación de glucosa en adipocitos de rata. *Rev Cubana Farm*. 1988; 22(1):86-91.
14. González R, Crespo S, Deás M. Estudio del mecanismo de acción hipoglicemiante de la albahaca morada (*Ocimum sanctum* L.) III, Efecto sobre la lipólisis y la adenilciclasa en tejido adiposo de rata. *Rev Cubana Farm*. 1988; 22(1):92-100.
15. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Santa Fe de Bogotá DC., Colombia: Cooperación Iberoamericana CYTED; 2000.
16. Soler B, Méndez G, Brook M, Miranda M. Medicamentos de origen vegetal, extractos fluidos y tinturas. Métodos de ensayo. NRSP 312. MINSAP; 1992.

Recibido: 14 de abril de 2008.

Aprobado: 27 de julio de 2009.

Lic. *Rolando Carmona Fernández*. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Ave 26 No. 1605 entre Puentes Grandes y Ave. Boyeros. Ciudad de La Habana, Cuba Teléf.: 8702536-38 Correo electrónico: rcarmona@infomed.sld.cu