

Descontaminación por radiación gamma y caracterización de un gel de *Aloe vera*: Reporte Preliminar

Emma Castro^{1,*}, Nancy Pérez¹, Marco Linares², Anita Robles³, Patricia Bedregal⁴

¹ Laboratorio de Irradiación de Productos Médicos, Dirección General de Investigación y Desarrollo Tecnológico. Instituto Peruano de Energía Nuclear Av. Canadá 1470, Lima 41, Perú

² Laboratorio de Irradiación, Dirección General de Seguridad Radiológica. Instituto Peruano de Energía Nuclear Av. Canadá 1470, Lima 41, Perú

³ Planta de Producción de Radioisótopos, Dirección de Producción. Instituto Peruano de Energía Nuclear Av. Canadá 1470, Lima 41, Perú

⁴ Dirección de Investigación y Desarrollo, Instituto Peruano de Energía Nuclear, Av. Canadá 1470 Lima 41, Perú

Resumen

El gel de la planta del *Aloe vera L.* ha sido ampliamente estudiado por sus diversas propiedades, útiles para la elaboración de productos por la industria cosmética, de alimentos y médico-farmacéutica. La radiación gamma se utiliza con fines comerciales para tratar productos, incluyendo a aquellos que tienen en su formulación el gel de *Aloe vera*. Este estudio preliminar tiene como propósito descontaminar el gel de *Aloe vera* en estado natural, mediante radiación gamma y caracterizar el producto irradiado a diferentes dosis de radiación, mediante la realización de pruebas microbiológicas, físico-químicas y organolépticas. Las dosis de irradiación aplicadas fueron de 2, 3, 5, 8, 12 y 15 kGy. Si bien se logró la descontaminación del gel a la dosis de 8 kGy, se observaron algunos cambios en las propiedades físico-químicas y organolépticas de las muestras irradiadas.

Abstract

The gel from *Aloe vera L.* has been widely studied due to its various properties, useful for the elaboration of products by industries such as food, pharmaceutical and cosmetics. Gamma radiation is a well known agent used for commercial decontamination or sterilization of products including those with *Aloe vera* gel as part of its formulation. The purpose of this preliminary study is to decontaminate *Aloe vera* gel, in its natural state, using gamma rays and to characterize the irradiated sample product. For this, samples of gel were irradiated at 2, 3, 5, 8, 12 y 15 kGy, and microbiological, physico-chemical and organoleptic tests were performed. Although decontamination was achieved at 8 kGy, some variations were observed in its physico-chemical and organoleptic properties on irradiated samples. Further studies need to be performed to conclude this study.

1. Introducción

El gel de la planta del *Aloe vera L.* ha sido estudiado de manera continua por sus propiedades medicinales, utilizándose ampliamente, desde la antigüedad [1]. Este gel está compuesto principalmente por polisacáridos y agua, además de aminoácidos, lípidos taninos y enzimas. Tradicionalmente se utiliza como un remedio natural para el tratamiento de quemaduras de primer y segundo grado, provocadas por calor o una exposición extensa al sol. Por otro lado, existen estudios que demuestran su efecto antiinflamatorio y utilidad para acelerar la cicatrización de las heridas[2], así como para el tratamiento de afecciones a la piel[3]. También se reporta su utilidad para

proteger y calmar la piel de pacientes sometidos a tratamiento de radioterapia[4].

Comercialmente, es utilizado por la industria cosmética para la elaboración de shampoos, protectores solares, cremas, lociones etc, en la industria alimentaria como suplemento alimenticio. Por otro lado, la industria médico-farmacéutica ha puesto en el mercado una serie de hidrogeles comerciales, para tratar lesiones a la piel, alguno de ellos, con *Aloe vera* como parte de su formulación. [5,6,7].

La radiación ionizante es un agente muy útil para el desarrollo de la industria médico, farmacéutica y de cosméticos.

* Correspondencia autor: ecastro@ipen.gob.pe

Sus aplicaciones comprenden un amplio espectro, que van desde la descontaminación y esterilización de insumos o productos terminados hasta la elaboración de materiales, como por ejemplo, hidrogeles. Estos últimos se elaboran a partir de polímeros o una combinación de éstos con productos naturales pudiéndose utilizar como coberturas para el tratamiento de diversas lesiones a la piel [8, 9].

En el Instituto Peruano de Energía Nuclear (IPEN) se tratan con radiación ionizante, con fines comerciales, productos médicos y cosméticos, así como insumos para su fabricación, los mismos que pueden ser de origen natural. Entre ellos, se ha aplicado con éxito radiación gamma a formulaciones cosméticas para el tratamiento del cabello y piel que contenían el gel de *Aloe vera*. Actualmente, en IPEN, se están realizando diversas investigaciones dirigidas a la elaboración de coberturas; de origen biológico o sintético, como hidrogeles, para tratar lesiones a la piel; en cuyo procesamiento se utiliza la radiación gamma.

Las propiedades del gel de *Aloe vera*, lo convierten en un candidato excepcional para ser incluido en las coberturas que puedan elaborarse, de modo que se incremente el potencial de estos materiales para su uso en medicina.

Así, el propósito de este trabajo es efectuar un estudio preliminar sobre los efectos de la radiación gamma para la descontaminación de un gel de *Aloe vera* mediante la realización de pruebas microbiológicas y físico-químicas, las mismas que permitirán la caracterización del gel tratado a diferentes dosis de radiación.

2. Metodología

A continuación se detallan las actividades, metodología, equipos y materiales empleados durante la ejecución del estudio.

2.1 Recolección y procesamiento de las hojas de *aloe vera*

Las muestras de gel de *Aloe vera* L. se obtuvieron de plantas de una edad aproximada de 6 años cultivadas en las áreas verdes del Centro Nuclear de Huarangal.

El procesamiento del gel se llevó a cabo de acuerdo al método reportado en [10]. Se procesaron 02 lotes de hojas recolectadas

obteniéndose en cada caso, aproximadamente 500 ml de gel.



Figura 1: A: Planta de *Aloe vera*. B: Recolección de hojas.

En una cabina de flujo laminar se fraccionó el gel, en porciones de 10 ml y 30 ml, las que se colocaron en bolsas de polietileno, y se empacaron triplemente.

2.2 Dosimetría e irradiación de las muestras

La técnica dosimétrica utilizada para determinar los tiempos de irradiación de las muestras fue Fricke [11] en aire. Se utilizaron en total 15 ámpulas con solución dosimétrica; las cuales fueron irradiadas a 05 tiempos diferentes. La tasa de dosis Nordion fue de 10.2051 kGy/h.

Los equipos utilizados para esta prueba fueron: el irradiador, modelo Gammacell 220 Excel, de la Nordion Inc. de Canadá, con fuentes de Co-60 y con una actividad de 12 778 Ci al 28 de mayo del 2008, donde se llevaron a cabo las irradiaciones; y el Espectrofotómetro Perkin Elmer Modelo, UV VIS, Lambda 2, donde se realizaron las lecturas de la absorbancia de los dosímetros Fricke irradiados, a una longitud de onda λ de 303.00 nm. Las dosis de irradiación aplicadas fueron 2, 3, 5, 8, 12 y 15 kGy.

2.3 Análisis microbiológicos

Estas pruebas se realizaron para comparar las cargas microbianas del gel de *Aloe vera* sin irradiar (control) e irradiado. Las pruebas se efectuaron por duplicado y fueron: Recuentos Totales de Aerobios Mesófilos y de Hongos.

Los ensayos se realizaron según la US Pharmacopea [12]. Los equipos utilizados para estas pruebas fueron: Autoclave Raypa AES-75 Dry, Estufa Incubadora VWR Scientific, Balanza toploading Mettler 682B, Agitador magnético Stuart Scientific, Baño maría Tecam, Shaker Orbital Labline, Agitador de tubos Fisher y Flujo Laminar Envair. Los medios de cultivo que se

utilizaron fueron: Caldo Casoy, Agar Casoy, Agar Sabouraud Dextrosa 4% de Merck.

2.4 Medición del pH

Se midió el pH a las muestras control y a las irradiadas. La temperatura de medición fue de 21°C. El equipo utilizado fue el potenciómetro Hanna Instruments, modelo pH 211 con electrodo de calomel, resolución de 0.01 y precisión de $\pm 0.1\%$. Los resultados están expresados con la incertidumbre expandida al 95% de confianza aproximadamente.

2.5 Determinación de la densidad

En este ensayo se utilizó un picnómetro de volumen ajustado, de 9,656 mL, y una balanza analítica de 0.1 mg de precisión. Previa realización de la prueba se calibró el picnómetro. Los resultados se obtuvieron utilizando la siguiente fórmula:

$$\rho = (w_3 - w_1) / (w_2 - w_1) \times \rho_{H_2O}$$

ρ : Densidad de la muestra

ρ_{H_2O} : Densidad del agua

w1: Peso del picnómetro limpio y seco

w2: Peso del picnómetro con H₂O

w3: Peso del picnómetro con el gel de aloe

La prueba se realizó siguiendo el método clásico de determinación de densidades de muestras líquidas.

2.6 Espectroscopia infrarroja (FT-IR)

Se adquirieron los espectros IR de la muestra control y de las irradiadas. Para ello se utilizó el espectrofotómetro infrarrojo marca NICOLET, modelo IMPACT 410, accesorio ATR para muestras líquidas. Los parámetros de adquisición fueron: resolución de 8 cm⁻¹, barrido de frecuencia: 4000 a 400 cm⁻¹.

2.7 Pruebas organolépticas

Por el método visual se observó la apariencia, color, olor y fluidez del gel de aloe vera, muestra control e irradiadas para determinar variaciones en sus características físicas.

3. Discusión de Resultados

Los resultados de la prueba dosimétrica en aire fue el siguiente: tasa de dosis: 10,077610 \pm 0,12 kGy/h, siendo el error de 1,25% comparado con la tasa de dosis de la MDS Nordion de Canada. Fecha de la prueba 28/05/07 (Tabla 1).

Tabla 1: Estadística de la regresión para la Dosimetría Fricke en aire.

Tiempo (s)	Dosis (kGy)
15	0.05146
25	0.07914
35	0.10673
45	0.13517
55	0.16341
Estadísticas de la regresión	
Coefficiente de correlación múltiple	0.999978987
Coefficiente de determinación R ²	0.999957975
R ² ajustado	0.999943966
Error típico	0.000331328
Observaciones	5
Coeficientes	
Intercepción	0.009205276
Variable X 1	0.002799336

En la Tabla 2 se muestra los resultados de los ensayos microbiológicos realizados.

Tabla 2: Pruebas Microbiológicas en muestras de gel de *Aloe vera*, control e irradiadas.

Prueba / Dosis [kGy]	0	2	3	5	8
Recuento Total Microorganismos Aerobios Mesófilos [UFC/g]	56 x 10 ⁵	25x10 ³	35 x 10 ²	2 x 10	< 10
Recuento Total de Hongos [UFC/g]	24 x 10 ⁴	2 x 10 ²	1 x 10	< 10	< 10

El nivel de carga microbiana inicial es relativamente alto, probablemente por la manipulación durante la recolección y el procesamiento del gel. A la dosis de 8 kGy se descontamina el producto. Se observa que los hongos son más sensibles que las bacterias. [13].

En lo que se refiere al pH, en la Tabla 3 se muestran los valores promedio de pH obtenidos a partir de las muestras control e irradiadas.

Tabla 3. pH en gel de *Aloe vera*, muestras control e irradiadas.

Dosis [kGy]	pH, 25°C
0	4,63 \pm 0.0141
2	5,93 \pm 0.0282
3	5,95 \pm 0.0282
5	5,95 \pm 0.0282
8	5,98 \pm 0.0282
12	6,02 \pm 0.0141

De los resultados se aprecia que el pH de los geles irradiados se incrementa a medida que aumenta la dosis de irradiación.

Los resultados de densidad se muestran en las Tablas 4 y 5.

Tabla 4: Prueba de Densidad del gel de *Aloe vera* irradiado y control.

Muestra	Volumen Pícnome- tro (mL)	w 3 (g)	w 1 (g)	w 3 - w 1
0 kGy	9,656	38,1026	29,912	8,1906
8 kGy	9,656	39,3442	29,912	9,4322
12 kGy	9,656	39,3191	29,912	9,4071

Tabla 5: Resultados de la densidad del gel de *Aloe vera* irradiado y control.

Muestra	Densidad g/mL	U exp
0 kGy	0,8464	0,018
8 kGy	0,9747	0,018
12 kGy	0,9721	0,018

Se observa que el gel aumenta su densidad cuando se incrementa la dosis de irradiación a 8 kGy. Sin embargo, se observó que a 12 kGy desciende ligeramente.

En las Figuras 1 y 2 se muestran los espectros FT- IR obtenidos de las muestras control e irradiadas. Los espectros IR de las muestras irradiadas con las dosis de 2,3, 5 y 8 kGy presentan las mismas características de las muestras control e irradiadas a 15 kGy, por lo que se consignan únicamente los gráficos del control y de la muestra irradiada a 15 kGy.

En todos los espectros FT-IR obtenidos se observa un pico de absorción en 1631 cm^{-1} , el que se mantiene incluso a 15 kGy.

En lo referente a las características organolépticas, en las Figuras 4 y 5, así como en la Tabla 6, se aprecian las propiedades físicas de las muestras control e irradiadas.

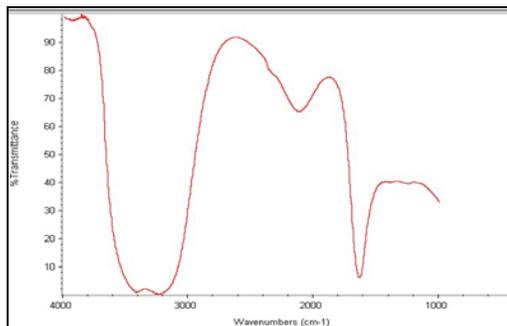


Figura 1: Espectro de gel de *Aloe vera*, 0 KGy. Pico de absorción: 1631 cm^{-1} .

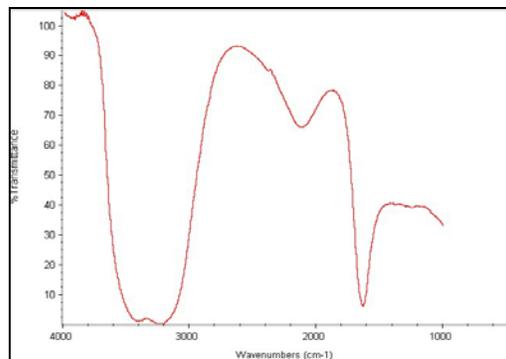


Figura 2: Espectro de gel de *Aloe vera* irradiado a 15 KGy. Pico de absorción: 1631 cm^{-1} .

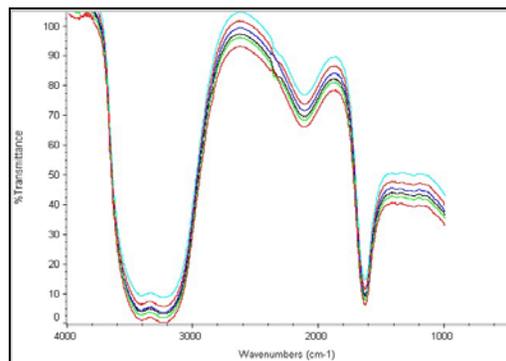


Figura 3: Perfiles de Espectros de gel de *Aloe vera* irradiado a 0, 5, 8, y 15 KGy Pico de absorción: 1631 cm^{-1} .



Figura 4: Gel de *Aloe vera* irradiado a 0, 2,3,5,8 y 12 kGy.



Figura 5: Gel de *Aloe vera* irradiado a 0 y 12 kGy dosis.

Las pruebas organolépticas realizadas se aprecian en la Tabla 6.

Tabla 6: Características Físicas de muestras control e irradiadas del gel de *Aloe vera*.

Propiedades Dosis [kGy]	Olor	Color	Apariencia
0	Característico	Incoloro	muy viscosa
2	Característico	Incoloro	Viscosa
3	Característico	Ligera coloración amarillo	Viscosa
5	Olor extraño		Ligeramente fluida
8	Olor extraño	Amarillo claro	Ligeramente fluida
10	Olor extraño	Amarillo claro	Fluida
15	Olor extraño	Amarillo claro	Fluida

Se observa que a medida que se incrementa la dosis, el gel adquiere una coloración amarillenta. A partir de 8 Gy el olor deja de ser característico, con respecto al control. Visualmente se observa que el gel se vuelve más fluido a medida que aumenta la dosis.

4. Conclusiones

- La prueba de dosimetría en aire permitió aplicar dosis exactas de manera precisa y segura con una dosis media global de: 2, 3, 5, 8, 12 y 15 kGy.
- La dosis de 8 kGy descontamina al gel de *Aloe vera* con una carga microbiana inicial en el orden de 10^6 para aerobios mesófilos y de 10^5 para hongos.
- La dosis de 5 kGy permite alcanzar el valor indicado por las especificaciones del gel de aloe vera para su uso comercial ($<10^2$) [14].
- El pH del gel aumenta en las muestras irradiadas del gel, si bien mantiene su carácter ácido hasta 12 kGy.
- La densidad del gel a la dosis de descontaminación (8kGy) aumenta y a su dosis máxima (12kGy) disminuye ligeramente.
- Los espectros FT- IR de las muestras control e irradiadas, incluso a la dosis de 15 kGy presentan perfiles similares, por lo que no se producen modificaciones en la estructura y se identifican al producto como gel de *Aloe vera*.
- La apariencia, color y olor del gel de *Aloe vera* se alteran luego de irradiados. A medida que aumenta la dosis, las muestras presentan mayor fluidez y se desarrolla una coloración amarillenta.

5. Agradecimientos

Al Lic. Johnny Vargas por el apoyo prestado en la irradiación de las muestras.

6. Bibliografía

- [1] Vega Antonio, *et al.* El *Aloe vera* como componente de alimentos funcionales. Rev. Chil. Nutri. 2005 Dic; 32(3).
- [2] World Health Organization. Monographs on Selected Medicinal. Vol. 1. 1999. Geneva: Switzerland. p. 43-49.
- [3] Rodríguez I, *et al.* Beneficios del *Aloe vera* en las afecciones de la piel. Rev. Cubana Enfermer. 2006; 22(3).
- [4] Iglesias A, *et al.* Estudio sobre la respuesta térmica e pacientes tratados con *Aloe vera* en el tratamiento radioterápico de cáncer de mama. Rev. Intern. Dermatol. Dermocosc. 2002; 5: 466-470.
- [5] The medical Supply Company Inc. [homepage de Internet]. Disponible en: <http://www.medsupplyco.com/Products/ProductDetails.cfm/ProductNumber/GTL11140>
- [6] (WO/1995/000184) Dried Hydrogel from Hydrophilic-Hygroscopic Polymer- Patente
- [7] Carrington Laboratories, Inc. [homepage de Internet]. Disponible en: <http://www.carringtonlabs.com/productcart>
- [8] International Atomic Energy Agency. Radiation synthesis and modification of polymers for biomedical applications. IAEA-TECDOC-1324, Vienna: Austria; 2002.
- [9] (United States Patent 5409703) Dried hydrogel from hydrophilic-hygroscopic polymer.
- [10] Castro E, Robles A. Procesamiento y caracterización del gel de *Aloe vera* para la elaboración de hidrogeles. En: Instituto Peruano de Energía Nuclear. Informe Científico Tecnológico 2006. Lima:Perú. p. 235-241.
- [11] Norma ASTM E 1026-04. Using the Fricke Reference Standard Dosimetry System.
- [12] US Pharmacopeia 30 <61>, 2007.
- [13] IAEA. Manual on radiation sterilization of medical and biological materials - Effect of ionizing radiation on bacteria. TRS 149. Vienna:Austria; 1973. p. 37-63.
- [14] Certificate of Analysis and Material Safety Data Sheet - Aloe vera gel - batch: B030160/2 - May 2006 [serie en Internet] Disponible en: <http://www.newdirections.com.au>