

PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTICULAS DE POLI (LACTICO-CO-GLICÓLICO) PARA LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE ANTIOXIDANTES DE EXTRACTOS DE *Zea mays* Y *Phaseolus vulgaris*, COMO ADITIVOS ALIMENTARIOS

Trujillo-Nolasco R.M., Morales Avila E*, López-Martínez L.X., Dublán-García O., Gómez Olivan L.M.

Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Química, Paseo Tollocan esq Paseo Colón S/N, Colonia Universidad C.P. 50120 Toluca, Estado de México, México. * enrimorafm@yahoo.com.mx

RESUMEN:

Actualmente el mundo de la nanotecnología ha cobrado importancia debido a las múltiples ventajas que su uso conlleva. A nivel industrial el uso de estos sistemas de nanopartículas cada vez es más común, la industria alimentaria no es la excepción, utiliza esta nueva tecnología, principalmente en aditivos alimentarios y sistemas de empaque. El objetivo del presente trabajo fue utilizar extractos acuosos de *Zea mays* (maíz morado) y *Phaseolus vulgaris* (frijol) como fuente de antioxidantes los cuales fueron encapsulados en una matriz polimérica de poli(láctico-co-glicólico), lo que permite emplear dichos antioxidantes como aditivos alimentarios, con la finalidad de proveer alimentos de alto valor agregado y contribuyendo además a la preservación del alimento. Se obtuvieron nanopartículas por el método de doble emulsión/evaporación. La caracterización (UV-vis, IR-FT, DSL y potencial δ) mostró la formación de las partículas, se evidenció también la carga de los extractos encapsulados, adicionalmente se evaluó el perfil de liberación. Se encontró un método óptimo para la encapsulación de los extractos antioxidantes de maíz morado y frijol, estableciendo un sistema adecuados para el transporte y liberación de antioxidantes, útiles en la industria alimentaria.

ABSTRACT:

In recent years, the world of nanotechnology has gained importance because of the many advantages in industrial applications. The using of nanoparticle systems is becoming increasingly common, the food industry is no exception, development new technology, mainly as food additives and packaging systems. The aim of this study was to use aqueous extracts of *Zea mays* (purple corn) and *Phaseolus vulgaris* (bean) as a source of antioxidants which were encapsulated in a polymer matrix of poly(lactic-co-glycolic acid), allowing use these antioxidants as food additives, in order to provide high value-added foods and also contributing to the preservation of food. Nanoparticles were obtained by the method of double emulsion/evaporation. Characterization techniques (UV-Vis, IR-FT, DSL and potential δ) showed the particles formation, the loading of encapsulated extracts was also demonstrated, and further the release profile was evaluated. An optimal method for encapsulation of antioxidant extracts of purple corn and beans, establishing a system suitable for the transport and release of antioxidants useful in the food industry found.

Palabras clave:

Aditivos alimentarios, nanotecnología, extractos antioxidantes

Keyword:

Alimentary additives, nanotechnology, antioxidant extracts

Área: Desarrollo de nuevos productos

INTRODUCCIÓN:

La nanotecnología en la industria de los alimentos ha presentado un desarrollo importante en las últimas tres décadas, principalmente en el desarrollo y estudio de polímeros sintéticos que son utilizados como componentes de matrices biocompatibles y biodegradables, útiles en el diseño de aditivo alimentarios y empaques primarios (Martirosyan and Yves, 2014). Dentro de

esta gama de polímeros destacan poliésteres como el ácido láctico, y copolímeros formados por unidades monoméricas de ácido láctico y glicólico (PLGA). Debido a su biodegradabilidad y biocompatibilidad, se vuelven un punto focal para el desarrollo de sistemas de liberación y transporte de biomoléculas como antioxidantes.

La aplicación de la nanotecnología en el campo de la alimentación (con nanopartículas, nanoemulsiones y nanocápsulas) permite la elaboración de alimentos más saludables, más resistentes y de mayor durabilidad, permitiendo adicionalmente mejorar el valor nutricional de los productos, mejorando su biodisponibilidad y dispersión de los nutrientes de interés, proporcionando alimentos más saludables, nutritivos y/o con mejores características organolépticas (Amini, 2014; Stevanovic and Uskokovi, 2009).

Para que una sustancia sea reconocida como aditivo, debe estar bien caracterizada químicamente y cumplir con los controles toxicológicos establecidos por los organismos con competencias en materia de aditivos alimentarios. Existen diversos tipos de antioxidantes dependiendo su mecanismo de acción, a nivel industrial suelen utilizarse en combinaciones con el fin de obtener un sinergismo, y por lo general actúan descomponiendo los peróxidos, o impidiendo la formación de complejos con los restos de metales. Una de las consideraciones que se deben tomar en cuenta es que los antioxidantes no deben interferir en las características de los alimentos en cuanto a sabor, olor o color, finalmente deben de ser inocuos a la salud.

El objetivo del presente trabajo fue preparar y caracterizar un aditivo alimentario basado en nanopartículas poliméricas de poli(láctico-co-glicólico) para la liberación controlada de antioxidantes, obtenidos de extractos de maíz morado y frijol.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Extracción de antioxidantes: Se empleó como material vegetal Maíz morado (*Zea mays*) y Frijol negro (*Phaseolus vulgaris*), los cuales se lavaron y secaron, posteriormente se llevó a un proceso de molienda en un mortero hasta la obtención de un polvo fino, el cual se guardó protegido de la luz y la humedad en el refrigerador hasta su posterior uso.

Preparación de los extractos: Se pesaron 5 g del material seco y pulverizado tanto del maíz morado como del frijol negro, para la extracción se les adicionaron 25 mL de agua destilada y se agitó hasta homogenizar ambas disoluciones completamente. A continuación cada una de las disoluciones tanto de maíz morado como de frijol negro se centrifugaron por 15 min a 2,500 rpm; posteriormente se incubaron a 50°C durante 5 minutos, este procedimiento de centrifugar e incubar se repitió hasta completar 3 horas, es decir que se repitieron 9 veces ambas etapas. Finalmente se separó el sobrenadante del resto del material y se cubrieron ambos extractos con papel aluminio para protegerlos de la luz y la humedad y se dejaron reposar en el refrigerador hasta su uso.

Caracterización UV-Vis de antioxidantes: Se tomó 1 mL de las disoluciones madre de cada uno de los extractos y se realizó una dilución 1:10, posteriormente se evaluó por espectrofotometría UV-Vis, con el fin de determinar las longitudes de onda de máxima

absorbancia y poder a partir de ellas estandarizar una concentración constante para tener reproducibilidad en todos los preparados.

Síntesis de nanopartículas

a. Materiales: El polímero poli(D,L-láctico-co-glicólico) (PLGA) fue obtenido de los laboratorios Sigma-Aldrich, en una proporción de ácido láctico y glicólico 50:50. Peso molecular del polímero de 24,000-38,000 Da. La acetona y el metanol fueron obtenidos de Productos Químicos Monterrey, S.A. de C.V. Así mismo se utilizaron disoluciones de PVA (alcohol polivinílico completamente hidrolizado, peso molecular <35,000 Da) al 0.02% y PVA al 1%, el PVA (alcohol polivinílico) para la preparación de las disoluciones fue obtenido de laboratorios Sigma-Aldrich.

b. Síntesis por doble emulsificación/evaporación (Murakami, 1999): Se pesaron 0.5g del polímero PLGA los cuales se disolvieron en 1.5 mL de acetona por 15 minutos en agitación constante, posteriormente se agregaron 2 mL de metanol, el cual ayuda a la precipitación del polímero y esta solución corresponde a la fase oleosa; posteriormente la solución polimérica se forma al adicionarla por goteo muy lentamente en la fase acuosa que consta de 9.250 mL de disolución acuosa de PVA (alcohol polivinílico 0.02% p/v) y 1.750 mL del extracto de antioxidante tanto de maíz morado como de frijol negro, este procedimiento se realizó en el sonicador (Ultrasonic Cleaner) durante 10 minutos y esta es la primera emulsión, después se agregó la disolución anterior a 11 mL de una disolución de PVA (alcohol polivinílico) concentrada (1% p/v) con el propósito de formar la segunda emulsión. Para la evaporación del disolvente se utilizó un evaporador rotatorio con vacío, a 30°C durante 15 minutos a 40 rpm. Finalmente se centrifugó durante 20 minutos a 4,400 rpm y se separó el sobrenadante para su posterior cuantificación.

Determinación de compuestos fenólicos totales: se determinó empleando la técnica de Folin-Ciocalte, en los extractos de maíz y frijol, así como la eficiencia de encapsulado y los perfiles de liberación.

Caracterización: se realizó empleando espectrofotometría UV-vis, Infrarrojo (IR), tamaño de partícula (por dispersión dinámica de luz), potencial zeta.

Eficiencia de encapsulado: se utilizaron las suspensiones obtenidas por doble emulsificación/evaporación, las cuales se centrifugaron (4,400 rpm/20 min), al sobrenadante se le determino la cantidad residual de fenolicos totales. El cálculo de la eficiencia de encapsulación de los antioxidantes se realizó utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{[\text{Encapsulado}]}{[\text{Disolución madre de los extractos}]} \times 100\% = \% \text{Encapsulación}$$

Perfiles de liberación: Las partículas obtenidas en la preparación se disolvieron en 10 mL de HCl 0.1 M, se determinó la concentración de fenolicos totales en alícuotas obtenidas en los siguientes tiempos 1, 3, 24, 48 y 72 h.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Se logró encapsular antioxidantes provenientes de extractos naturales de Maíz morado y Frijol negro, por el método de doble emulsificación/evaporación, utilizando el polímero poli(D,L-láctico-co-glicólico), obteniendo porcentajes de eficiencia de encapsulación de 41.01 ± 10.5 y 67.43 ± 12.2 % y eficiencia de carga de 17.2 ± 7.4 y 35.4 ± 6.1 respectivamente. El análisis con espectrofotometría UV-Vis de cada uno de los extractos permitió identificar la existencia de grupos fenólicos (responsables de las bandas de absorción, cercana a los 280 nm, ver grafica 1).

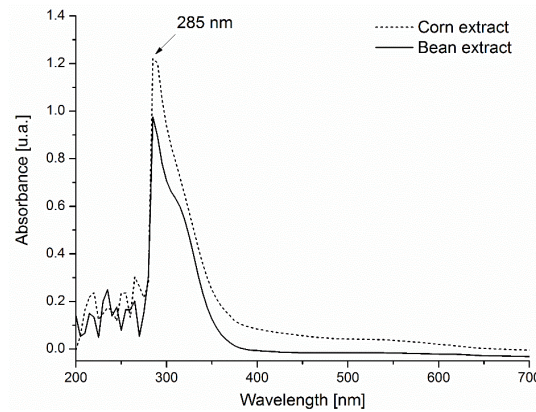


Figura 1. Espectro UV-Vis de los extractos acuosos de maíz y frijól.

Respecto a los tamaños de partícula los encapsulados con el extracto de Frijol negro presentaron un diámetro hidrodinámico promedio de 283.5 nm y con el extracto de Maíz morado presentaron un diámetro hidrodinámico promedio de 327 nm (figura 2).

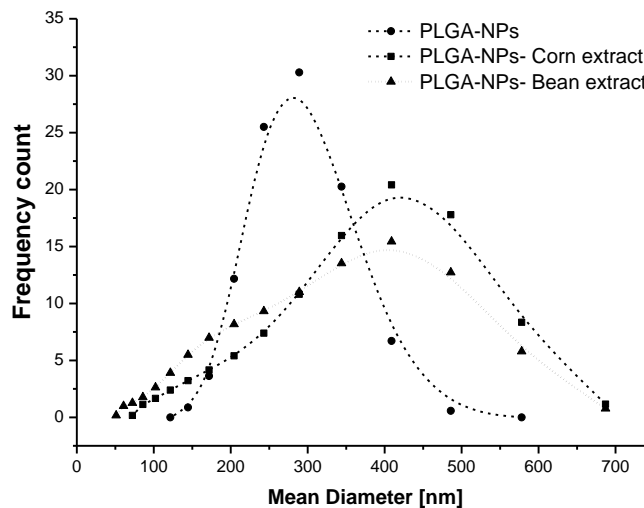


Figure 2. Distribución de tamaño de particular de las PLGA-NP y las nanopartículas cargadas.

La estabilidad del sistema coloidal mediante la medida del potencial zeta, donde se demostró un incremento en el valor de potencial zeta en las partículas cargadas (19.3 ± 1.6 mV para PLGA-Maíz y $+28.3 \pm 2.5$ para frijol) respecto a las partículas vacías (-16.2 ± 1.2 mV). Los espectros de IR mostraron diferencias significativas que confirman la carga de los extractos en las nanopartículas (grafica 2 y 3).

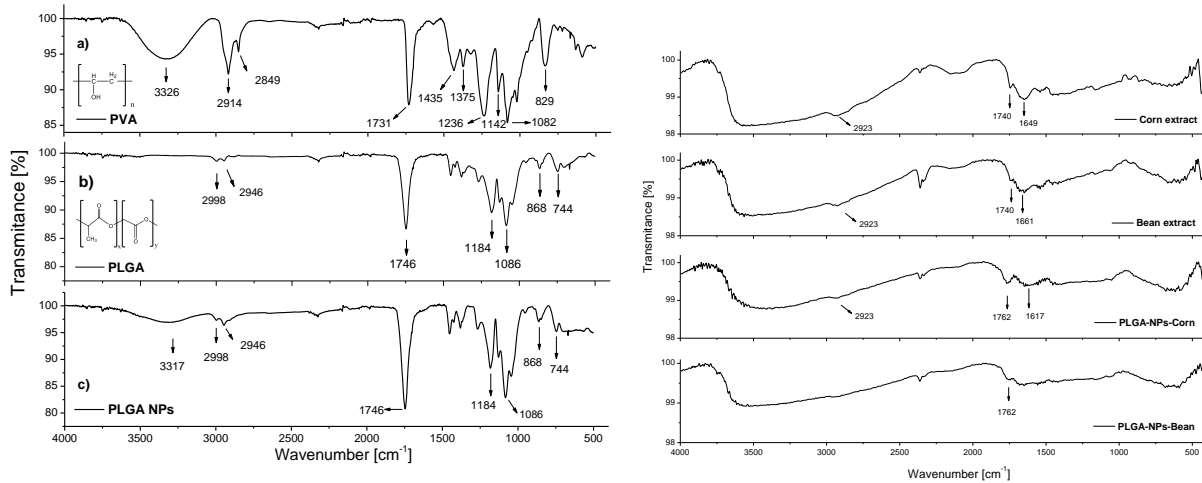


Figura 3. Espectros de IR-FT de a) alcohol polivinílico (PVA); b) poli(lactico-co-glicólico) (PLGA) y c) nanopartículas de PLGA. Figura 4. Espectros de IR-FT de a) extractos de maíz, b) extracto de frijol, c) PLGA NPs cargadas con extracto de maíz, d) PLGA NPs cargadas con extracto de frijol.

En cuanto a los perfiles de liberación se comprobó que es posible tener un sistema de liberación prolongada de antioxidantes, con un comportamiento bifásico, para el cual el tiempo medio de liberación de la fase prolongada oscila en cerca de las 60 h (grafica 5).

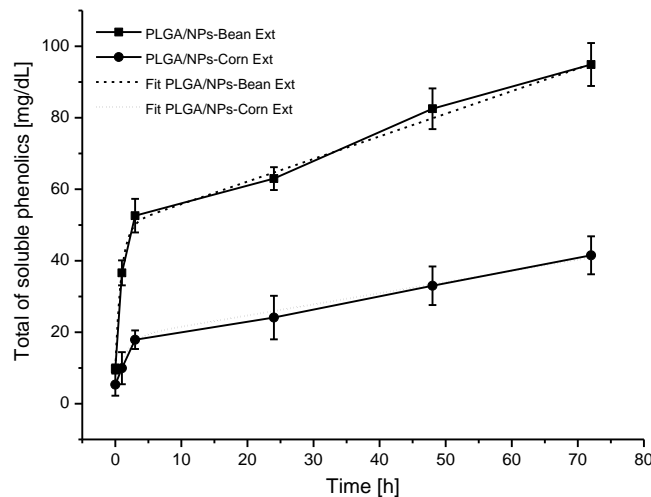


Figura 5. Cinética de liberación de antioxidantes de maíz y frijol encapsulados en nanopartículas de PLGA.

CONCLUSIONES:

Se obtuvieron nanopartículas de poli(láctico-co-glicólico) cargadas con extractos de antioxidantes obtenidos de Maíz Morado y frijol negro, se encapsularon por el método de doble emulsificación/evaporación, obteniendo porcentajes de eficiencia de encapsulación aceptables, además comprobamos la estabilidad del sistema coloidal mediante la medida del potencial zeta. Adicionalmente a través el análisis de los perfiles de liberación se comprobó que es posible tener un sistema de liberación prolongada de antioxidantes bajo determinadas condiciones, por lo que se concluye que de acuerdo a las propiedades del polímero empleado y de las características fisicoquímicas del sistema, éste ser empleado como un aditivo alimentario.

BIBLIOGRAFÍA

- Amini SM, Gilaki M, Karchani M. 2014. Safety of Nanotechnology in Food Industries. *Electronic physician*. 6(4):962.
- Martirosyan and Yves-Jacques, 2014. Engineered Nanomaterials in Food: Implications for Food Safety and Consumer Health. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 11, 5720-5750; doi:10.3390/ijerph110605720
- Murakami H., Kobayashi M., Takeuchi H., Kawashima Y. 1999. Preparation of poly(D-L-lactide-co-glycolide) nanoparticles by modified spontaneous emulsification solvent diffusion method. *Int J Pharm*. 187:143–152. doi:10.1016/S0378-5173(99)00187-8
- Stevanovic M, and Uskokovic D. 2009. Poly(lactide-co-glycolide)-based Micro and Nanoparticles for the Controlled Drug Delivery of Vitamins. *Current Nanoscience*, 2009, 5(1):1-14. DOI: 10.2174/157341309787314566.