

## Desarrollo y caracterización de nano acarreadores de activos de interés biológico a partir de extracto de Jaca (*Artocarpus Heterophyllus Lam*).

Olvera - González, L.\*; Castro -Ríos R.<sup>1</sup>; Gallardo-Rivera, C. T.<sup>2</sup>. y Chávez - Montes, A.<sup>3</sup>;

Departamento de Química Analítica Facultad de Medicina<sup>1</sup>, Departamento de Ciencias de los Alimentos<sup>2</sup> y Departamento de Química Analítica Facultad de Ciencias Biológicas<sup>3</sup>, Universidad Autónoma de Nuevo León, Pedro de Alba, Ciudad Universitaria, C.P. 66451, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

\*Email: lucyolveraglez@gmail.com

### RESUMEN:

La Jaca (*Artocarpus Heterophyllus Lam*) es un fruto tropical nativo de la India que se cultiva en Asia y ahora en Nayarit, México. Su característica es el enorme fruto que posee diversos beneficios y propiedades y con un alto contenido de látex. En el presente trabajo se desarrollaron y caracterizaron nanopartículas de látex como acarreadores de activos de interés alimenticio. Se caracterizó el material vegetal, se evaluó la presencia de laticíferos por microscopía óptica y realizó una extracción metanólica. El extracto se caracterizó mediante pruebas fitoquímicas y con él se implementó mediante la técnica de nanoprecipitación la preparación de nanopartículas en las que se incorporó eugenol. Se obtuvo un extracto presumiblemente alto en contenido de terpenos, y se estandarizó una técnica que permita la preparación de nanoacarreadores de un tamaño promedio de 236 Nm y una dispersión promedio en tamaño de 0.220 con una eficiencia de encapsulación del 74.79 %..

### ABSTRACT:

The Jackfruit (*Artocarpus Heterophyllus Lam*) is tropical native fruit from India that is grown in Asia and currently in Nayarit, Mexico. The main characteristic is the large size of its fruit, which provides different benefits and properties like a high content of latex. In the present work, latex nanoparticles were developed and evaluated as carriers for eugenol essential oil. The vegetal material was characterized, the presence of laticifers was studied by optical microscopy and a methanolic extraction was carried out. The extract was characterized by phytochemical tests and the preparation of nanoparticles in which eugenol was incorporated was implemented using the nanoprecipitation technique. An extract presumably high in terpene content was obtained, and a technique was standardized. The size of the nanoparticles were 236 nm with a dispersion in size of 0.220 and an encapsulation efficiency of 74.79%..

### Palabras clave:

Nanopartículas, Laticíferos, *Artocarpus Heterophyllus Lam*, látex.

### Key Words:

Nanoparticles, Laticifers, *Artocarpus Heterophyllus Lam*, latex.

Área: Otros (Ciencia y Tecnología de Alimentos).

### INTRODUCCIÓN

La Jaca (*Artocarpus Heterophyllus Lam*) también llamada jackfruit, pertenece a la familia Moraceae, es un fruto tropical nativo de la India que se cultiva ampliamente en Asia (García-novelo *et al.*, 2001; Muratalla-Lúa *et al.*, 2013), la característica distintiva de esta planta es el enorme fruto que cuelga de sus troncos, el cual posee diversos beneficios y propiedades (Herrera, 2015). Actualmente también es cultivado en San Blas, Nayarit, México (Ragazzo-Sánchez *et al.*, 2011). Desde el momento de la polinización exitosa, el proceso completo de desarrollo de la fruta tarda de tres a siete meses (Baliga *et al.*, 2011).

Los frutos son de pequeños a muy grandes (1,4 a 50 kg) se distinguen tres regiones primarias: el eje o centro del fruto, con numerosas células laticíferas y no comestible; el perianto, forma la mayor parte del fruto y es la región comestible fresca, la tercera región corresponde a las semillas (Piña-dumoulin *et al.*, 2010).

El fruto expulsa un abundante látex, blanco y pegajoso al ser cortado (Herrera, 2015). El látex es un fluido lechoso compuesto por un suero líquido que contiene en suspensión o en solución, una mezcla compleja de componentes (Arana Alejandra *et al.*, 2012), se emplea en muchos casos por su firmeza y elasticidad, pero se ha empleado por su

capacidad antibacteriana y anti fúngica lo que resulta ser un beneficio para la conservación en los alimentos frescos (Molina *et al.*, 2008). Este tipo de materiales han cobrado importancia ya pueden ser materia prima para la formación de acarreadores como micro o nanocapsulas. Las ventajas de los acarreadores es que pueden liberar los contenidos a velocidades controladas y proteger al producto encapsulado de la luz, oxígeno y pH (García *et al.*, 2012), para el sector alimentario existen interesantes posibilidades de aplicación, en aspectos relacionados con la producción, elaboración de materiales, investigación y desarrollo de productos, así como en el manejo de alimentos seguros (Jaimes *et al.*, 2017). De entre los acarreadores destacan las nanopartículas poliméricas, las cuales se definen como partículas de tamaño inferior a 1  $\mu\text{m}$  (Rao, *et al.*, 2013), generalmente entre 10 y 500 Nm, elaboradas a partir de materiales poliméricos de diferente naturaleza. (Gómez-Gaete, 2014).

El trabajo consiste en la elaboración de nano acarreadores a partir del extracto del látex de Jaca (*Artocarpus Heterophyllus Lam*), para determinar su viabilidad y evaluar la factibilidad de aplicarlo en la conservación de alimentos. Se realizó la caracterización del extracto mediante pruebas fitoquímicas y con ello se implementó la preparación de nanopartículas mediante la técnica de nanoprecipitación en las que se incorporó eugenol. Se obtuvo un extracto presumiblemente alto en contenido de terpenos, y se estandarizó una técnica que permita la preparación de nanoacarreadores de un tamaño promedio de 236 Nm y una dispersión promedio en tamaño de 0.220 con una eficiencia de encapsulación del 74.79 %.

### **MATERIALES Y MÉTODOS.**

#### **Identificación de células laticíferas de Jaca (*Artocarpus Heterophyllus Lam*).**

Se empleó la fibra del fruto de Jaca (*Artocarpus Heterophyllus Lam*) en condiciones normales para el proceso de identificación de las células parenquimáticas y tubos laticíferos. Se efectuó el corte en la parte del centro de la Jaca en forma de cubo de 1 cm por 1 cm con ayuda del Vibratomo LEICCA VT1000P. Se colocó el en la bandeja de muestras pegado con Kola-locas, se cubrió el trozo completamente con agua destilada para facilitar el corte. Se ejecutaron cortes con un espesor de 200-400  $\mu\text{m}$ . Luego de esto se llevaron a un portaobjetos con la ayuda de un pincel y se cubrió con un cubreobjetos para aplicar presión sobre ellos esto llamado técnica de Squash. La identificación de estructuras de células parénquimas y laticíferos se realizó por microscopía óptica con oculares 4X y 10X de LEICA ICC50. Se identificaron las estructuras de las células parenquimáticas y los laticíferos y se tomaron medidas del diámetro promedio.

#### **Elaboración de extractos de látex de Jaca (*Artocarpus heterophyllus Lam*).**

Se evaluaron dos metodologías de obtención de extracto, la primera de ellas por maceración del fruto con recambio de solvente. En una primera etapa se determinó el mejor disolvente de extracción para ello se obtuvo el látex del fruto por cortes y con espátula se tomó una alícuota para evaluar solubilidad. Los disolventes evaluados fueron cloroformo, metanol, etanol, acetona; acetato de etilo, hexano y ácido acético glacial.

La segunda metodología evaluada para la extracción de látex se realizó de acuerdo al procedimiento de extracción de látex en Papaya realizado por (Arana Alejandra, 2012) con modificaciones. Para ello se realizó por corte en el interior del fruto apto para consumo para provocar un sangrado. Se recolectó 1 gr de látex con una espátula de acero inoxidable y colocó en un vial de 5 mL previamente pesado y tarado. Posteriormente, se adiciona un disolvente orgánico para mantener el látex en estado líquido se cierra con tapa hermética y mantiene en congelación a  $-22^{\circ}\text{C}$  hasta su utilización.

#### **Elaboración de nano acarreadores poliméricos.**

El procedimiento para la realización de nanopartículas, se empleó Eugenol como principio activo, como polímero se usó el extracto de látex de Jaca (*Artocarpus Heterophyllus Lam*), y como tenso activo Lutrol P-188® (BASF, Alemania), y los disolventes agua y cloroformo en condiciones normales. La técnica empleada fue emulsión-evaporación. Brevemente, en un vaso de precipitado de 10 mL tarado, se pesaron 20 mg de tensoactivo, 20 mg de activo y 1 mL de solución de extracto de Jaca (20 mg de látex) y 2 mL de cloroformo. Se formó una disolución que se incorporó a un matraz bola con 5 mL de agua destilada. Se formó una emulsión con el empleo de un baño de ultrasonidos por 5 min, se permitió un reposo de 3 min y se realizó una segunda agitación por 5 min más. Una vez

formada la emulsión se procedió a la eliminación del disolvente orgánico por presión reducida con el empleo de un rotavapor (Heidolf Laborota 4003 control) a 25 °C. La suspensión de nanopartículas formadas fue caracterizada por la medición del tamaño promedio de partícula y por el índice de polidispersidad de tamaño por espectroscopia de correlación fotónica (Nanoziser Nano – ZS90 Malver). Los procedimientos se realizaron por triplicado.

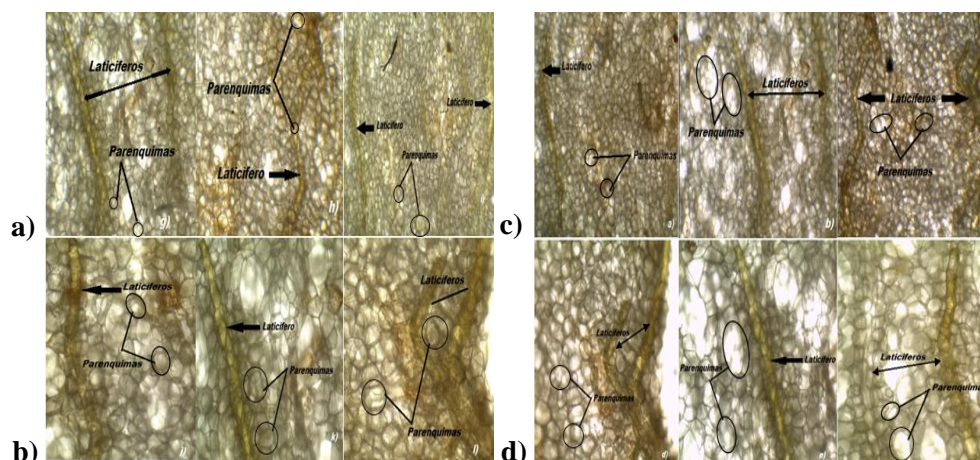
### Determinación de porcentaje de encapsulación.

Para determinar la eficiencia del proceso de nanoencapsulación se empleó eugenol de alta pureza (DENSELL®) como sustancia activa de interés alimenticio modelo. En una primer etapa se realizó una curva de calibración por espectrofotometría UV-Vis en soluciones metanólicas (Espectrofotometro JENWAY 6305). Se preparó una solución a partir del patrón con 20 mg de activo que se llevó al aforo a 10 mL. Con ésta solución madre se elaboraron diluciones de 5, 10, 15, 20 y 25 ppm que fueron leídas a la máxima longitud de onda de absorción que fue previamente calculada por medio de un barrido de absorción.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

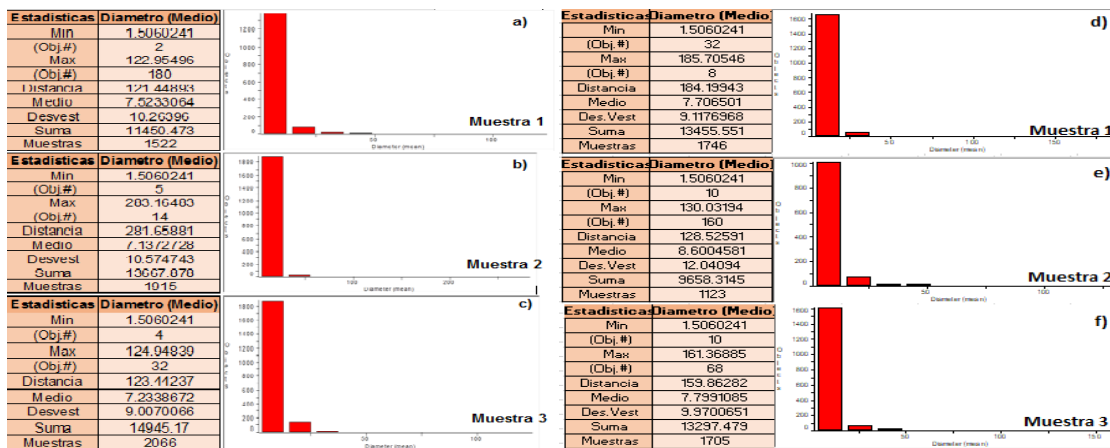
### Identificación de estructuras laticíferas.

Se realizó la identificación de estructuras células parenquimáticas y laticíferos en estado fresco y congelado, ambas muestras se observaron con los oculares 4X y 10X (Figura 1). Los laticíferos que se observan en las imágenes son no articulados ramificados, corresponde con lo esperado y reportado por (Alonso, 2011; Esau, Katherine *et al.*, 2008) ya que estos están presentes en las plantas de la familia de las moráceas.



**Figura 1.** Células parenquimáticas y laticíferos de tejido fresco de Jaca (*Artocarpus Heterophyllus Lam*) obtenidos con oculares 4X (a, c respectivamente): Células parenquimáticas y laticíferos del tejido fresco de Jaca obtenidos con oculares 10X (b y d, individualmente).

Las células parenquimáticas que se observan en las imágenes tienen entre 11 y 12 caras, se estima que en otras plantas el número normal es de 14 caras, las células parenquimáticas del tejido fresco analizadas con el ocular 4X que se observan sobre los laticíferos tienen un tamaño promedio de 7.5  $\mu\text{m}$ , por lo que el diámetro aproximado de los laticíferos encontrados en *Artocarpus Heterophyllus* (Jaca) es de 8  $\mu\text{m}$ .



**Figura 2.** Se muestran datos de los diámetros promedio de las células parenquimáticas de Jaca existentes en la muestra 1 2 y 3 (a, b y c, respectivamente). Presenta las estadísticas de los diámetros promedio de las células parenquimáticas del tejido congelado en tres muestras independientes (d, e y f). Se aprecia un aumento en el tamaño celular en tejido congelado-descongelado. Número de células evaluadas mínimo 1,000.

### Extracción de Látex de Jaca fresca.

Se pudo determinar que de los disolventes orgánicos evaluados el látex de Jaca presenta buena solubilidad (hasta 500 mg/mL) en cloroformo o metanol. Se realizó extracción por maceración con estos solventes a temperatura ambiente y con recambio; sin embargo, el rendimiento de extracción resultó relativamente bajo 15 mg/mL. Posteriormente se evaluó la extracción directa tras incisión con el corte de la fruta en donde se presenta la expulsión del látex, la recolección del látex con ayuda de una espátula y la disolución del mismo en viales de 5 mL con cloroformo o metanol (Figura 3). Se pudo determinar que el segundo método de obtención permite la formación de disoluciones de látex con concentraciones superiores de hasta de 200 mg/mL.



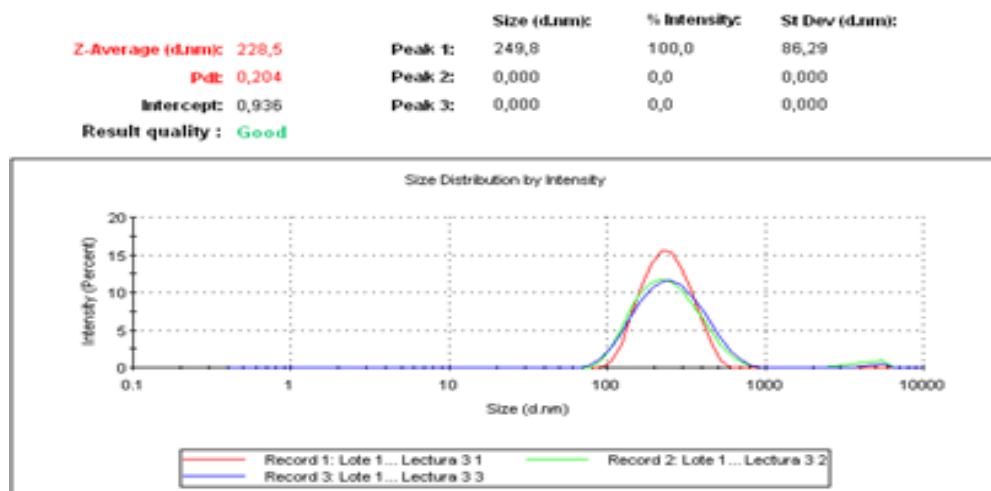
**Figura 3.** a) Expulsión del látex en el interior del fruto Jaca (*Artocarpus Heterophyllus Lam*): b) recolección del látex por medio de una espátula de acero inoxidable: c) soluciones de extracto de látex en disolventes (Metanol y cloroformo).

Se observó que la expulsión del látex en el corte de la fruta, es decir, cuando los laticíferos son sometidos a un corte, la presión que se encuentra en los laticíferos causa la expulsión del látex y que está es muy baja cuando el fruto fue sometido a congelación descongelación debido a que el fruto sufre daños mecánicos esto evitando el sangrado, modificando su consistencia y apariencia.

### Nanopartículas de látex de *Artocarpus Heterophyllus*

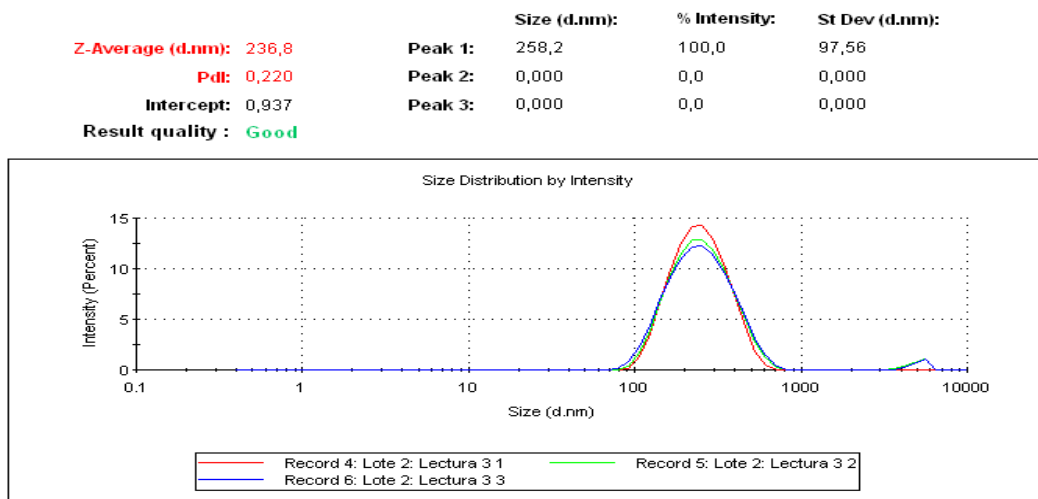
Se llevó a cabo la preparación de nanopartículas de látex por el método de emulsificación evaporación. Se caracterizaron las suspensiones preparadas mediante la determinación de tamaño promedio por espectroscopía de correlación fotónica evaluado tres lotes independientes sin activo (eugenol) incorporado y tres más con el agente activo encapsulado. En la Figura 4 se puede observar que las nanopartículas preparadas sin activo presentan un tamaño promedio de 228 nm con índice de polidispersidad (PDI) de 0.204. Estos resultados muestran que la

metodología empleada permite la formación de nano nanopartículas empleando como material estructural el látex de éste vegetal; asimismo, se puede observar que la homogeneidad en el tamaño promedio en la población de partículas se puede considerar alto.



**Figura 4.** Tamaño de Nanopartículas poliméricas de látex de Jaca fresca (*Artocarpus Heterophyllus Lam*).

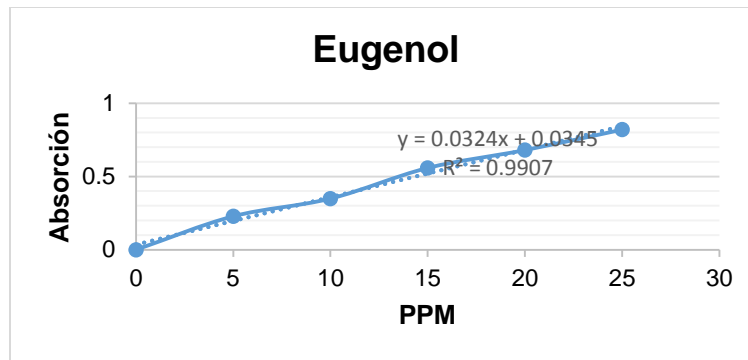
Posteriormente se evaluó el tamaño y homogeneidad en tamaño de nanopartículas de látex con eugenol nanoencapsulado. Como puede observarse (Figura 5), el tamaño promedio es de 236 nm y se presentó un índice de polidispersidad de 0.220 nm. Haciendo referencia a la literatura citada podemos decir que el tamaño de las nanopartículas es adecuado para su aplicación en alimentos u otra área de interés, ya que su tamaño está dentro del rango adecuado que es 10 a 500 nm (Gómez-Gaete, 2014). En este sentido, estos resultados permiten suponer que el método permite la preparación de nano capsulas de eugenol en látex. Para ello se determinó posteriormente la cantidad incorporada de agente activo.



**Figura 5.** Tamaño de Nanopartículas poliméricas de látex de Jaca fresca con eugenol incorporado.

**Determinación del porcentaje de encapsulación.**

Para la cuantificación de eugenol incorporado por espectrofotometría primeramente se determinó la longitud de máxima absorción que fue de 280 Nm. Posteriormente se preparó una curva de calibración en metanol la cual se presenta en la Figura 6. Se puede observar que en el rango de concentraciones utilizadas se presenta una buena corrección con un índice de determinación de r<sup>2</sup> 0.99.



**Figura 6.** Curva patrón del Eugenol en metanol por espectrofotometría a 280 nm.

Posteriormente se tomó la absorción del material encapsulado dando un resultado 0.353 nm presentando una concentración de entre diez y 15 ppm, se leyeron a una longitud de onda de 280 nm en un espectrofotómetro de luz UV visible (JENWEY 6305), los nanoacarreadores tuvieron una eficiencia de encapsulación del 74.79 %. Cabe mencionar que lotes con activo fueron liofilizados y almacenados por 30 días y pudieron ser resuspendidos y el contenido cuantificado tras este periodo de almacenamiento.

## CONCLUSIÓN

La elaboración de nano acarreadores a partir de materiales biológicos es un área novedosa con una gama amplia de aplicaciones no solo en la industria alimentaria. La presente investigación muestra la factibilidad de preparar nanopartículas elaboradas a base del extracto de látex de Jaca (*Artocarpus Heterophyllus Lam*) capaces de incorporar sustancias biológicamente activas con un método que permite una alta eficiencia el proceso de encapsulación. Este trabajo abre un campo en la investigación de nuevos materiales alimenticios para procesos de nano encapsulación y con perspectivas hacia la evaluación en conservación de activos lábiles o de mejoras en actividad biológica tras una liberación prolongada.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alonso, P. J. R. (2011). *Manual de Histología Vegetal* (1st ed.), 62-72. Madrid-México.
- Arana Alejandra, Q. M. F. (2012). ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción Previo a la obtención del Título de : INGENIERAS DE ALIMENTOS Presentada por : Pamela Alejandra Arana Guerra María Fernanda Quijano Avilés GUAYAQUIL -, 20-28.
- Baliga, M. S., Shivashankara, A. R., Haniadka, R., Dsouza, J., & Bhat, H. P. (2011). Phytochemistry, nutritional and pharmacological properties of *Artocarpus heterophyllus* Lam (jackfruit): A review. *Food Research International*, 44(7), 1800-1811. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.035>
- Esau, Katherine; Evert, F. R. (2008). Anatomía Vegetal, Meristemas, células y tejidos de las plantas; Su estructura, función y desarrollo., 485-514.
- García-novelo, J. M. A. J. L. L.-S. A. (2001). *Ciencia y desarrollo* (XXVII). México.
- García, A., & López, A. (2012). Biopolímeros utilizados en la encapsulación. *Temas Selectos de Ingeniería En Alimentos*. Retrieved from <http://www.udlap.mx/>
- Gómez-Gaete, C. (2014). Nanopartículas Poliméricas: Tecnología y Aplicaciones Farmacéuticas. *Revista Farmacologica de Chile*, 7(2), 7-16.
- Herrera, E. (2015). La yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.), una fruta muy singular y sus usos tradicionales. *Herbario CICY*, 171, 169-171. Retrieved from [http://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde\\_Herbario/2015/2015-11-05-Herrera-Canto-Una-fruta-muy-](http://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde_Herbario/2015/2015-11-05-Herrera-Canto-Una-fruta-muy-)

singular.La-yaca-y-sus-usos-tradicionales.pdf

- Jaimes, J., Rios, I. y Severiche, C. (2017). Nanotecnología y sus aplicaciones en la industria de alimentos  
Nanotechnology and its applications in the food industry. *Revista Alimentos Hoy*, 25(41), 51–76. Retrieved  
from <http://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/download/448/366%0D>
- Molina, R., & Leshner, J. (2008). El latex en Mexico, una vision historica. *Kuxulkab*, 1–12.
- Muratalla-Lúa, A. ., Jaen-Contreras, D., & Arévalo-Galarza, L. (2013). La producción de frambuesa y zarzamora  
en México. *Agroproductividad*, 6(5), 3–12. Retrieved from  
[http://www.colpos.mx/wb\\_pdf/Agroproductividad/2013/AGROPRODUCTIVIDAD V\\_2013.pdf](http://www.colpos.mx/wb_pdf/Agroproductividad/2013/AGROPRODUCTIVIDAD V_2013.pdf)
- Piña-dumoulin, G., Quiroz, J., & Ochoa, A. (2010). De Cultivos No Tradicionales En Venezuela I La Yaca  
Physical-Chemistry Characterization of Fresh Fruits. *Agronomía Tropical*, 60(1), 35–42. Retrieved from  
[http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas\\_ci/Agronomia Tropical/at6001/pdf/at6001\\_pina\\_g.pdf](http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/Agronomia Tropical/at6001/pdf/at6001_pina_g.pdf)
- Ragazzo-Sanchez, J. A., Gutierrez-Escatel, A., & Luna-Solano, G. (2011). Molecular identification of the fungus  
causing postharvest rot in jackfruit. *Revista Mexicana de Micología*, 34, 10–15.
- Rao, B. S., Bhushanam, K., Das, U. N., Prasad, T. N. V. K. V., & Subbarao, K. (2013). Recent advances of  
nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. *Journal of Medical and Scientific Research*, 1(2), 95–102.  
<https://doi.org/10.17727/JMSR.2013/1-017>