

Encapsulamiento de una molécula bioactiva en nanoestructuras de Óxido de Zinc con capacidad para preservación de la guayaba en post cosecha.

Lisboa Fraga.Silva.C.^{a*}, Gomes A.M.Fernandes^b, Santos I. J. Boggione^b, Flores Flores.J.A^a,

a Tecnológico Nacional de México en Celaya, Departamento de Ingeniería Bioquímica. Antonio García Cubas 600, Fovissste, Celaya, Gto. CP 38010

b Universidade Federal de São João Del Rei. Departamento de Química, Biotecnologia e Engenharia de Bioprocessos, Campus Alto Paraopeba, CEP: 36420-000 – Ouro Branco – MG – Brasil

. * ceciliafraga@gmail.com.

RESUMEN:

La guayaba es un fruto altamente nutritivo y funcional, excelente fuente de carbohidratos, vitamina C, licopeno, taninos, flavonoides, potasio, cobre, sodio, magnesio, zinc y fibra pectina, sin embargo tiene alta perecibilidad, siendo el principal problema enfrentado por los productores en la industria comercialización de la fruta "en fresco", tanto en el mercado nacional e internacional.

Por lo tanto, se requiere realizar estudios y desarrollar tecnologías que permitan aumentar la vida útil de la guayaba. Las nanoestructuras de óxido de zinc han sido ampliamente estudiadas *in vitro* como agentes antimicrobianos incorporados en diferentes matrices poliméricas, con el objeto de producir alimentos más seguros y con ventajas económicas y ambientales. En este trabajo se estudiará la obtención, la caracterización y la aplicación de las nanoestructuras de óxido de zinc en empaques comestibles en las guayabas..

ABSTRACT:

Guava is a highly nutritious and functional fruit, excellent source of carbohydrates, vitamin C, lycopene, tannins, flavonoids, potassium, copper, sodium, magnesium, zinc and pectin fiber, however it has high perishability, being the main problem faced by the producers in the commercialization of the fruit "in natura", both in the national and international markets.

Therefore, there is a need for studies and technologies to increase the life span of guava. Zinc oxide nanostructures have been extensively studied *in vitro* as antimicrobial agents incorporated in different polymer matrices, in order to produce safer foods with economic and environmental advantages. In this way, in order to add value to the guava production chains as well as to produce strategic materials for the food industry, this work will study the obtaining, characterization and application of zinc oxide nanostructures in guavas via edible packagings..

Palabras clave:

Nanotecnología, embalaje, vida útil, fruto, guayaba.

Keywords:

Nanotechnology, packing, shelf life, fruit, guava.

Área: Desarrollo de nuevos productos

INTRODUCCIÓN

México es el quinto productor mundial de guayaba, de acuerdo con la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y aun informó que en los últimos tres años, la producción de guayaba en México aumentó en 8.2 por ciento.

Uno de los mayores limitantes es la alta perecibilidad del fruto debido a su alta tasa metabólica y la contaminación microbiológica. Por lo tanto, surge la necesidad de estudios y tecnologías que apunten a aumentar la vida de estante de la guayaba, de tal forma a ampliar su aplicación industrial, su consumo "en fresco" y su comercialización internacional (Gonzaga Neto, 2007).

De esta forma, los envases añadidos con la nanoestructura de óxido de zinc (ZnO) poseen el potencial de aumentar la vida útil de la guayaba post-cosecha por esta nanoestructura presenta propiedades antimicrobianas.

Padmavathy y Vijayaraghavan (2008), Yamamoto (2001) y Sawai (2003), demuestran la eficiencia antimicrobiana del ZnO y en comparación con materiales orgánicos, materiales inorgánicos como ZnO posee durabilidad superior, mayor selectividad, resistencia al calor, además de tener una considerable biocompatibilidad con células humanas. Además, esa nanoestructura posee la capacidad de encapsular moléculas bioactivas que pueden migrar al alimento, convirtiéndolo en un alimento con propiedades nutricionales y farmacológicas.

El óxido de zinc es empleado en la industria de alimentos como fuente de zinc, un micronutriente esencial para los animales. Las nanopartículas de óxido de zinc, últimamente, han sido ampliamente estudiadas *in vitro* con la finalidad de producir alimentos más seguros y con ventajas económicas y ambientales, como un agente antimicrobiano en las matrices poliméricas.

La quercetina (3,5,7,3'-4'-pentahidroxi flavona) es el flavonoide fundamental y de mayor abundancia existente en la dieta alimentaria del ser humano. Los flavonoides son una clase de compuestos fenólicos de origen natural que destacan por su potencial terapéutico por su potencial antioxidante, de prevención del surgimiento del cáncer y de blindaje eficaz a los sistemas renal, cardiovascular y hepático (Behling *et al.*, 2004). Este potencial oxidante es debido a sus características quelantes de iones metálicos y secuestrantes de los radicales libres resultando en una protección de los tejidos de estos radicales y aún de la peroxidación lipídica por interactuar con radicales de lípidos. Tiene participación en la regulación del ciclo celular, por la interacción con los puntos de unión del estrógeno tipo II, por la disminución de la resistencia a las drogas e inducir la muerte celular programada de células cancerígenas, bloqueando la promoción de un tumor (Behling *et al.*, 2004).

En este trabajo se busca la obtención y caracterización de nanoestructuras de ZnO y el encapsulamiento de quercetina y aplicarlas en empaques comestibles para la preservación de la guayaba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material

El cloruro de zinc ($ZnCl_2$) fue adquirido de Impex (Brasil), carbonato de sodio (Na_2CO_3) de Proquimicos (Brasil), cloruro de sodio ($NaCl$) del Éxodo Científico (Brasil) y quercetina de Sigma-Aldrich (EEUU). El agua destilada fue utilizada en los experimentos y todos los demás reactivos fueron de grado analítico.

Métodos

Obtención y caracterización de la nanoestructura de ZnO

Las nanoestructuras fueron obtenidas de acuerdo con Aghababazadeh *et al.* (2006) y Al *et al.* (2006) con algunas modificaciones. La proporción de 1:8:1 de $ZnCl_2$, $NaCl$ y Na_2CO_3 fueron molidos por 3h y 6h a 600 rpm. El polvo molido fue sometido a 400 °C por 10 y 30 min en una mufla. El polvo fue lavado con agua destilada, secado y almacenado para posteriores análisis.

El tamaño de la estructura y el índice de polidispersividad (PdI) fueron obtenidos a través de dispersión dinámica de luz (NnoZeta Sizer, Malvern, EE.UU.). Las medidas se realizaron utilizando un detector de fotiodo (Brookhaven BI-APD, USA). La fuente de luz (CVI Melles Griot, USA) fue un láser HeNe de 35 mW de potencia y $\lambda = 632,8$ nm, linealmente polarizada. Para control de intensidad se empleó un sistema de polarizadores cruzados.

Encapsulación de quercetina en la nanoestructura de ZnO

Diferentes concentraciones de quercetina se añadieron en dispersiones de nanoestructuras de ZnO. Se agitaron por 5 min, centrifugadas y el sobrenadante fue recogido y diluido para el análisis en 500 nm en el espectrofotómetro UV-vis (Shimadzu, Japón) para la obtención de la eficiencia de encapsulación (EE) (Ecuación 1). La capacidad de conexión (LC) se obtuvo de acuerdo con la Ecuación 2.

$$EE(\%) = (W_{total} - W_{libre}) 100/W_{total} \quad (1)$$

Donde W_{total} es el total de quercetina añadido en las NP y W_{libre} es el total de quercetina libre encontrado en el sobrenadante.

$$LC(\%) = (W_{total} - W_{libre}) 100/W_{np} \quad (2)$$

Donde W_{total} es el total de quercetina añadido en las NP, W_{libre} es el total de quercetina libre encontrado en el sobrenadante y W_{np} el valor de la quercetina ligada a las NPs. Los experimentos fueron por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Formación de NPs

La Tabla 1 muestra el tamaño y la polidispersividad de las estructuras de ZnO obtenidas.

Tabla 1- Tamaño y polidispersividad de las nanoestructuras de ZnO.

| Tiempo | Calentamiento | Tamaño (nm) | Pdl |
|--------|---------------|--------------|-------|
| 3h | 10 min | 11430 ± 1782 | 0.942 |
| 3h | 30 min | 4599 ± 479 | 1.000 |
| 6h | 10 min | 112 ± 14.7 | 0.874 |
| 6h | 30 min | 180.1 ± 28.3 | 0.544 |

El tiempo de 6h en el molino de bolas proporcionó la obtención de nanoestructuras, en detrimento del tiempo de 3h. Sin embargo, el mayor tiempo de calentamiento llevó a nanoestructuras mayores, a pesar de la menor polidispersividad. Estos factores sugieren que es necesaria mayor área superficial de contacto entre los reactivos, ocasionados por la molienda, lo que facilita la reacción entre ellos con el aumento de la temperatura. Sin embargo, el mayor tiempo de calentamiento favorece la interacción entre las estructuras, las aumenta de tamaño. En cuanto al tiempo de 3h de molienda el tiempo de calentamiento mayor contribuyó a la formación de estructuras menores, pues permitió mayor reacción entre los reactivos que se encontraban con menor área superficial de contacto. Aghababazadeh *et al* (2006) obtuvieron nanoestructuras de ZnO en el rango de 20 a 30 nm y también concluyeron que el tiempo de calentamiento y de molienda influenciaron en el tamaño de ellas.

Encapsulación de Quercetina

La nanoestructura obtenida en 6h de molienda y 30 minutos de calentamiento fue elegida para la encapsulación de quercetina por presentar una menor polidispersividad. La polidispersividad de una muestra polimérica está asociada con la "anchura" de su curva de distribución de masa molar. Para dos muestras de un mismo polímero con los mismos valores medios de masa molar, el IP (índice de polidispersividad) es un indicativo del rango de variación de las propiedades mecánicas de la muestra. La Tabla 2 muestra la eficiencia de encapsulación y la capacidad de conexión de la quercetina en la nanoestructura de ZnO.

Tabla 2- Eficiencia de encapsulación (EE) y la capacidad de unión (LC) en la nanoestructura ZnO.

| Concentración de Quercetina en la dispersión de nanoestructuras en ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) | EE (%) | LC (%) |
|---|---------------|---------------|
| 25 | 11.00 ± 7.21 | 0.22 ± 0.22 |
| 50 | 40.92 ± 4.77 | 10.10 ± 1.65 |
| 100 | 43.39 ± 11.82 | 27.85 ± 14.60 |
| 150 | 54.27 ± 5.24 | 9.14 ± 1.28 |
| 300 | 64.02 ± 11.37 | 14.86 ± 1.76 |

La solución de quercetina a 300 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ presentó la mejor eficiencia de encapsulación, aunque la capacidad para formar estructuras de unión no fue la mejor. Es importante resaltar que no hay referencias en la literatura de la encapsulación de quercetina en nanoestructuras de ZnO. Popova *et al* (2016) estudiaron la interacción entre la quercetina y sílice con Zn e identificaron que la quercetina está contenida tanto en los canales de los poros como en la superficie externa de las nanopartículas. Es posible que en las nanoestructuras obtenidas la quercetina interactúe en la superficie de la nanopartícula por el hecho de ser una estructura rígida. De esta forma, es posible aún afirmar que no se llenaron todos los sitios activos de la nanoestructura, ya que no se alcanzó un nivel alto de eficiencia de

encapsulación. Esta interacción será controlada, por factores termodinámicos y cinéticos de adsorción que bien comprendidos posibilitan el control de la encapsulación y de la liberación controlada de la quercetina en los alimentos, además de proporcionar la conservación del alimento por las propiedades antimicrobianas de las nanoestructuras de ZnO (He *et al.*, 2011).

CONCLUSIÓN

A partir de los análisis realizados, las mejores condiciones para la producción de la nanoestructura de ZnO se obtuvieron en el rango de 112.0 a 180.1 nm utilizando una proporción de 1:8:1 de ZnCl₂, NaCl y Na₂CO₃, respectivamente. Las nanoestructuras posibilitan una encapsulación superior al 60% de quercetina. Así, los estudios posibilitan utilizar las nanoestructuras de ZnO para encapsulación de quercetina, con potencial aplicación en embalaje de alimentos.

La integración de nanoestructuras y mejorando las condiciones de encapsulación de quercetina y de otras moléculas bioactivas y posibilitarán desarrollo de envases comestibles con liberación controlada de bioactivos. Desarrollando nuevos productos con mayor valor fisiológico, nutritivo y nutracéutico. Aumentando la vida de anaquel que impactara en los índices de comercialización y exportación en fresco del fruto y la optimización del aprovechamiento de la guayaba debido a la disminución de la pérdida de guayaba en la post cosecha.

BIBLIOGRAFÍA

Abd El-Salam, M. H.; El-Shibiny, S., Formation and potential uses of milk proteins as nano delivery vehicles for nutraceuticals: A review. *International Journal of Dairy Technology* 2012, 65 (1), 13-21.

Aghababazadeh, R.; Mazinani, B.; Mirhabibi, A.; Tamizifar, M., ZnO Nanoparticles Synthesised by mechanochemical processing. *Journal of Physics: Conference Series* 2006, 26 (1), 312.

Ao, W.; Li, J.; Yang, H.; Zeng, X.; Ma, X., Mechanochemical synthesis of zinc oxide nanocrystalline. *Powder Technology* 2006, 168 (3), 148-151.

Aumenta 8.2 por ciento producción de guayaba en México en el último trienio. Disponible en: http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/distritofederal/boletines/Paginas/JAC_0006-3.aspx. Accesado en 27/04/2018.

Azzolini; Jacomino; Bron, 2004; GILL et al., 2016; Lima; Assis Behling, Ricardo Martins de Paiva. *Nanotecnologia: uma revolução no desenvolvimento de novos produtos*. TCC. Juiz de Fora, MG: UFJF, 2006.

Benshitrit, R. C.; Levi, C. S.; Tal, S. L.; Shimoni, E.; Lesmes, U., Development of oral food-grade delivery systems: Current knowledge and future challenges. *Food & Function* 2012, 3 (1), 10-21.

Bhadra, P.; Mitra, M. K.; Das, G. C.; Dey, R.; Mukherjee, S., Interaction of chitosan capped ZnO nanorods with *Escherichia coli*. *Materials Science and Engineering: C* 2011, 31 (5), 929-937.

Benshitrit, R. C.; Levi, C. S.; Tal, S. L.; Shimoni, E.; Lesmes, U., Development of oral food-grade delivery systems: Current knowledge and future challenges. *Food & Function* 2012, 3 (1), 10-21.

Gill, K. S.; Dhaliwal, H. S.; Mahajan, B. V. C.; Paliyath, G.; Boora, R. S., Enhancing postharvest shelf life and quality of guava (*Psidium guajava* L.) cv. Allahabad Safeda by pre-harvest application of hexanal containing aqueous formulation. *Postharvest Biology and Technology* 2016, 112, 224-232.

Gonzaga Neto, Azzolini, M.; Jacomino, A. P.; Bron, I. U. Indices to evaluate postharvest quality of guavas under different maturation stages. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2004, v. 39, n. 2, p. 139-145.

He, L.; Liu, Y.; Mustapha, A.; Lin, M., Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiological Research* 2011, 166 (3), 207-215.

J. Sawai; T. Yoshikawa. Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay. *J Appl Microbiol*, 2004, 96 (4) pp. 803–809.

- N. Padmavathy, R. Vijayaraghavan. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles – an antimicrobial study. *Sci Technol Adv Mater*, 2008, 9pp. 1–7
- O. Yamamoto. Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. *Int J Inorg Mater* 2001, 3 (7) pp. 643–646.
- J. Sawai, T. Yoshikawa. Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay. *J Appl Microbiol*, 2004, 96 (4) pp. 803–809.