

## Desarrollo y evaluación mecánica de cubiertas poliméricas a base de nanocápsulas cargadas con aceite esencial de *Thymus vulgaris*.

González Moreno BJ\* <sup>(1)</sup>, Galindo-Rodríguez SA <sup>(2)</sup>, Waksman Minsky N <sup>(1)</sup>, Álvarez Román R <sup>(1)</sup>

1) Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina, Depto. de Química Analítica, Av. Francisco I. Madero y Dr. Aguirre Pequeño s/n, C.P. 64460, Monterrey, Nuevo León, México.

2) Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Depto. de Química Analítica, Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán s/n, C.P. 66451, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

\* [barbara\\_gzzm@hotmail.com](mailto:barbara_gzzm@hotmail.com)

### RESUMEN:

A nivel mundial se estima que las pérdidas postcosecha de frutas y hortalizas frescas oscilan entre 15 y 85%. En los últimos años se han investigado las propiedades y aplicaciones del uso de recubrimientos y películas que mantengan la calidad de los alimentos y prolonguen la vida útil de estos. El aceite esencial de *Thymus vulgaris* han sido utilizado en cubiertas poliméricas por su actividad antibacteriana, sin embargo debido a su gran volatilidad, su uso se ha visto limitado por lo que es necesario su nanoencapsulación. Las NC obtenidas por la técnica de nanoprecipitación, fueron homogéneas y estables y se utilizaron para formar las cubiertas. Estas cubiertas fueron transparentes, homogéneas y resistentes al doblez. En base a sus propiedades mecánicas, se demostró que, las cubiertas formadas a base de NC, presentan un bajo porcentaje de elongación y rompimiento pero una adhesión elevada. Las cubiertas poliméricas obtenidas a base de NC cargadas con el aceite esencial de *Thymus vulgaris*, tienen un gran potencial como recubrimiento de frutas y hortalizas..

### ABSTRACT:

Globally it is estimated that the losses of postharvest of fresh fruits and vegetables oscillate between 15 and 85%. The essential oil of *Thymus vulgaris* has been used in polymeric films for its antibacterial activity, however due to its high volatility, its use has been limited. Then, its nanoencapsulation had been proposed to solve this problem. The nanocapsules (NC) were prepared by the nanoprecipitation technique. They were homogeneous and stable, and they were used to form films which were transparent, homogeneous and resistant to bending. Based on their mechanical properties, it was shown that the films formed from NC have a low percentage of elongation and breakage but a high union. The polymeric films prepared from the essential oil of *Thymus vulgaris* loaded NC had a great potential as a coating for fruits and vegetables..

### Palabras clave:

Cubierta polimérica, nanocápsulas, *Thymus vulgaris*, vida de anaquel, aceite esencial, timol.

### Keywords:

Polymer film, nanocapsules, *Thymus vulgaris*, shelf life, essential oil, thymol.

**Área:** Desarrollo de nuevos productos.

## INTRODUCCIÓN

A nivel mundial se estima que las pérdidas postcosecha de frutas y hortalizas frescas oscilan entre 15 y 85 %, siendo las principales causas las pudriciones, lesiones físicas, desórdenes fisiológicos e inadecuada tecnología o carencia de esta, para el control de la maduración y senescencia. Los productores al no manejar adecuadamente la vida de anaquel de los alimentos tienen menos posibilidades de vender sus productos y de cumplir con la demanda del mercado.

En la actualidad, en la industria alimentaria han implementado tratamientos postcosecha para ayudar a obtener alimentos sanos, sin perjudicar al medio ambiente, que sean inocuos y puedan prevenir ataques de microorganismos alargando la vida de anaquel de los alimentos. El deterioro de los alimentos, en particular involucra cambios fisicoquímicos, sensoriales, microbiológicos y nutricionales (Salinas, *et al.* 2007). En los últimos años se han investigado las propiedades y aplicaciones del uso de recubrimientos y películas que mantengan la calidad de los alimentos y prolonguen la vida útil de estos.

Las películas o cubierta polimérica (CP) son una delgada capa de material, el cual puede ser consumido su principal función es impedir la transferencia de humedad y el intercambio de ciertos componentes entre el alimento y la atmosfera para mantener la calidad de alimento, es decir, mantener sus características nutrimentales, microbiológicas y sensoriales en un determinado tiempo (Acosta, 2011).

Por otro lado, los aceites esenciales (AE) han sido utilizados en CP debido a su actividad antibacteriana, antimicótica, antioxidante e insecticida. Diferentes estudios demostraron que los AE tienen la capacidad de extender la vida de anaquel de un producto y reducir el riesgo de crecimiento de patógenos en la superficie de los alimentos (Ávila y López, 2008). El aceite esencial de *Thymus vulgaris* tiene como principales componentes al  $\gamma$ -terpineno, *p*-cimeno, timol y carvacrol, estos dos últimos han demostrado eficacia antibacteriana. Sin embargo, al tratarse de compuestos altamente volátiles y sensibles a la oxidación, es necesario encapsularlos en nanopartículas poliméricas (NP).

De forma general, las NP son sistemas coloidales sólidos con un tamaño de partícula en el rango de los 10 a 1000 nm y están formadas por un polímero y un principio activo el cual puede estar disuelto, adherido o encapsulado en la estructura polimérica de las partículas. De acuerdo a su morfología, se pueden diferenciar dos tipos de NP, las nanoesferas, un sistema matricial donde el principio activo es adsorbido o incorporado a la matriz polimérica; y las nanocápsulas (NC), un sistema vesicular donde el principio activo está disuelto o disperso en el núcleo o en la pared polimérica formada (Fessi, *et al.* 1989).

Las NP funcionan como sistemas acarreadores de principios activos para favorecer su actividad biológica, su aplicación podría: (i) aumentar su solubilidad en medios acuosos, (ii) disminuir su volatilidad en diferentes formulaciones y/o promover su liberación controlada, (iii) potenciar sus propiedades antimicrobianas y (iv) disminuir su oxidación, lo que promovería la preservación de sus propiedades antimicrobianas (Finos, 2016).

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar y evaluar mecánicamente cubiertas poliméricas a base de nanocápsulas cargadas con aceite esencial de *Thymus vulgaris* (AE-Tv) para su potencial aplicación como recubrimiento en frutas y hortalizas.

### MATERIALES Y MÉTODOS

*Obtención de NC cargadas con aceite esencial de Thymus vulgaris.* Para su obtención se empleó la técnica de nanoprecipitación. Esta técnica consiste en inyectar una fase acuosa a la fase en agitación constante. La fase orgánica contiene el polímero Eudragit disuelto en una mezcla de acetona-isopropanol y el AE-Tv. Se eliminaron los solventes por diálisis para finalmente obtener NC-AE-Tv purificadas. Durante la optimización de la técnica de nanoprecipitación, se evaluaron dos variables: la concentración del polímero en la fase orgánica y el volumen de fase orgánica. Se partió de una formulación previamente establecida por Salas Cedillo (2016). Una vez obtenidas las NC, se evaluó la estabilidad de las formulaciones de NC-AE-Tv obtenidas, el tamaño de partícula y el índice de polidispersidad.

*Formación de la cubierta polimérica.* Las cubiertas poliméricas (CP) se formaron a partir de las NC-AE-Tv por la técnica de vaciado directo en placas de teflón. Para establecer las mejores condiciones de formación de la CP se evaluó la temperatura y el tiempo de secado (50, 65 y 100°C durante 4, 6 y 12 horas) así como la concentración del agente plastificante (0.75, 1 y 2% p/v). Las CP obtenidas fueron evaluadas en base a su formación completa, transparencia, resistencia al doblado, fácil remoción de la placa y homogeneidad.

*Evaluación mecánica de las CP.* Esta evaluación consistió en determinar el porcentaje de elongación, la adhesión y el rompimiento de las CP a base de NC-AE-Tv utilizando un Texturómetro Brookfield CT3. Para llevar a cabo el análisis del porcentaje de elongación, se utilizaron PC de 55 cm<sup>2</sup> y fue cortada de acuerdo a la norma ASTM DIN-412. Para evaluar la adhesión, se formaron PC cuadradas de 18 cm<sup>2</sup> y para el análisis de rompimiento se utilizaron PC circulares de 2.54 cm<sup>2</sup>. Todas las cubiertas, se mantuvieron a una HR de 50% y 22°C por 24 horas.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la primera parte de este trabajo, se obtuvieron las NC cargadas con el AE-Tv por la técnica de nanoprecipitación. Específicamente, esta técnica permite encapsular principios activos no polares con buenos porcentajes de

encapsulación. Mora-Huertas, *et al.* (2010) hace referencia que los porcentajes de eficiencia de encapsulación de activos puros por la técnica de nanoprecipitación se encuentran alrededor del 80%. Al mismo tiempo, Lugo Estrada (2012) utilizó esta técnica para encapsular el aceite esencial de *Thymus vulgaris* y obtuvo un porcentaje de eficiencia de encapsulación de tres componentes huella, del 46%.

En la tabla I se muestra la evaluación realizada a las NC cargadas con el AE-Tv formadas con dos concentraciones de polímero y volumen en la fase orgánica. Se pudo observar que, con las dos concentraciones de polímero se forman NC, sin embargo a una concentración de 15 mg/mL las formulaciones de NC presentan agregados después de 15 días y a 11.66 mg/mL no se observan estos agregados.

Tabla I. Evaluación visual de las NC formadas con dos concentraciones de polímero en la fase orgánica

Concentración del polímero en fase orgánica	Formación de NP	Agregados en tiempo inicial	Agregados después de 15 días	Capacidad de resuspender
15 mg/ mL	+	-	+	+
11.66 mg/mL	+	-	-	-

(+): presencia; (-): ausencia ; ND: No determinado

n=3

Este comportamiento se puede atribuir a que a mayor concentración de polímero en la fase orgánica se favorece la sobresaturación del medio con cadenas poliméricas durante la difusión favoreciendo la futura formación de aglomerados. Por lo anterior, se estableció la concentración de 11.66 mg/mL de polímero en la fase orgánica para obtener las NC-AE-Tv y de esta forma asegurar la estabilidad de las NC.

Posteriormente, se determinó el tamaño e índice de polidispersión de las NC-AE-Tv. Estas presentaron un tamaño de partícula de  $147.033 \pm 2.02$  nm ( $\bar{x} \pm \sigma$ , n=3) y un índice de polidispersión de  $0.134 \pm 0.034$  ( $\bar{x} \pm \sigma$ , n=3). El índice de polidispersidad indica la homogeneidad de las partículas presentes en el sistema; se considera que mientras más cercano a cero, el sistema presenta una mayor homogeneidad en el tamaño de la partícula. En general, los índices de polidispersidad con valores menores de 0.2 son considerados aceptables (Galindo-Rodríguez, *et al.* 2004).

Para la formación de las CP, se evaluó la temperatura y el tiempo de secado (50, 65 y 100°C durante 4, 6 y 12 horas) así como la concentración del agente plastificante (0.75, 1 y 2% p/v). Con respecto a la temperatura de secado, se observó que, a altas temperaturas, la formación de las CP no era completa y se obtenían cubiertas pequeñas y poco transparentes. Al disminuir la temperatura a 50°C, las CP no se formaban. Por lo anterior se seleccionó la temperatura de 65°C, las CP obtenidas fueron completas, homogéneas, transparentes y resistentes al dobléz. Esto indica que la formación de la cubierta a esta temperatura se ve favorecida por la coalición de las partículas poliméricas como resultado de la evaporación del agua. Con respecto al tiempo de secado, se observó que solamente a 12 horas había formación de la cubierta. Esto debido a que se requiere mínimo esta cantidad de tiempo para que se lleve a cabo la completa evaporación del agua.

En relación al plastificante, se evaluaron tres concentraciones y los resultados de las CP-AE-Tv formadas se muestran en la Tabla II se puede observar que, a bajas concentraciones del plastificante, es posible la formación de las CP, sin embargo, estas presentan moderada resistencia y no son completamente transparentes. Por el contrario, a altas concentraciones del plastificante se formaron CP con poca transparencia. Por lo anterior, se eligió la concentración de 1% (p/v), las CP obtenidas a esta concentración, presentan las mejores características de transparencia, resistencia al dobléz, homogeneidad y remoción de la placa.

Tabla II. Características de las cubiertas poliméricas formadas variando la concentración de plastificante.

Concentración plastificante (% p/v)	Formación de película	Transparencia <sup>a</sup>	Resistencia al dobléz <sup>b</sup>	Remoción de la placa de teflón <sup>c</sup>	Homogeneidad (película completa)

<b>0.75</b>	+	+++	++	+++	++++
<b>1</b>	+	++++	+++	++++	++++
<b>2</b>	+	++	+++	++++	++++

n=3	a (++++) Muy transparente	b (++++) Muy resistente	c (++++) Fácil remoción	d(++++) Muy Homogénea
	(+++) Transparente	(+++) Resistente	(+++) Removible sin deformación	(+++) Homogénea
	(++) Moderadamente transparente	(++) Moderadamente resistente	(++) Difícil remoción	(++) Moderadamente homogénea
	(+) Opaca/blanquecina	(+) Quebradiza	(+) Difícil con deformación	(+) Poco homogénea

Después de establecer las mejores condiciones de formación de la CP a partir de NC-Tv, se realizó la evaluación mecánica. En la Figura 1, se muestra cada una de las evaluaciones realizadas así como la CP-NC-Tv utilizada.

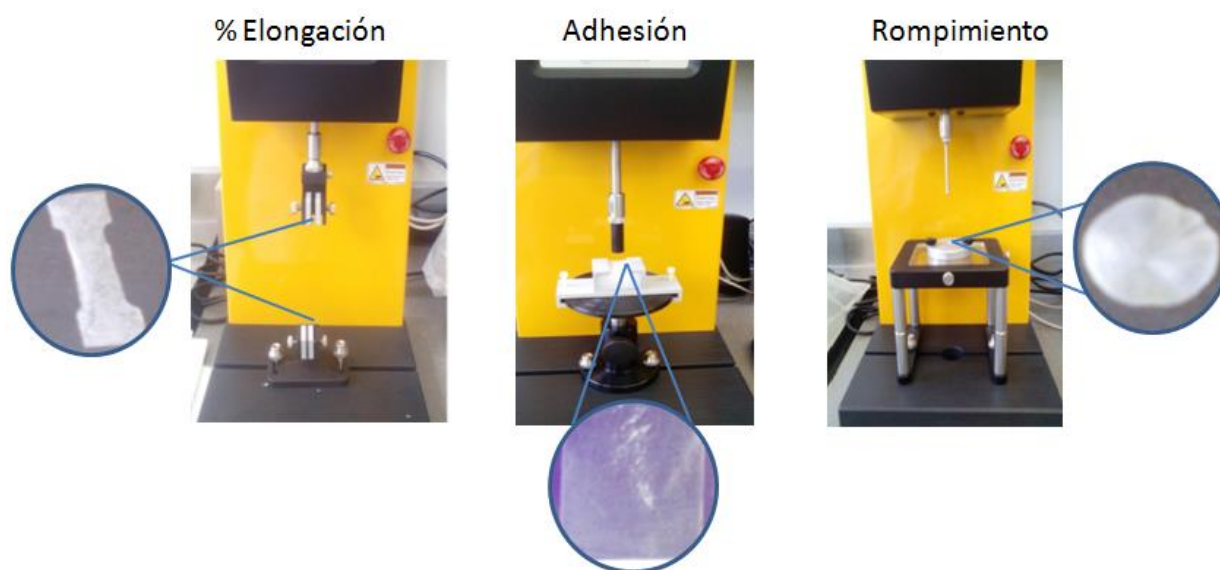


Figura 1. Evaluación mecánica de las cubiertas poliméricas formadas a partir de nanocápsulas con aceite esencial de *Thymus vulgaris*.

Los parámetros mecánicos nos indican las características que presentan las CP, ya que durante su elaboración y aplicación, las CP deben presentar i) un buen porcentaje de elongación con la finalidad de evitar un rompimiento en el momento de empaquetamiento, ii) buena adhesión en la superficie de la fruta y/o la hortaliza donde serán aplicadas, iii) buena resistencia al rompimiento para asegurar su integridad y iv) textura suave y lisa con el objeto de facilitar su manipulación.

Los parámetros mecánicos determinados a las CP-NC-Tv indican que: la CP se puede elongar o estirar en un  $18.57 \pm 2.02\%$  ( $\bar{x} \pm \sigma$ , n=3) de su tamaño inicial, en la evaluación del rompimiento, indica que la CP resiste  $70.13 \pm 8.82$  kg/cm<sup>2</sup> ( $\bar{x} \pm \sigma$ , n=3) antes de romperse y que, se debe aplicar una fuerza de  $3,182 \pm 2.36$  dinas/cm<sup>2</sup> ( $\bar{x} \pm \sigma$ , n=3) para despegar la CP de la superficie donde fue colocada.

Los valores obtenidos de la evaluación mecánica de las CP-NC-Tv son más bajos que aquellos establecidos por González Moreno *et al.* (2017) con cubiertas formadas a partir del quitosán con carvacrol (componente del AE de *Thymus vulgaris*). Estas cubiertas presentaron valores de porcentaje de elongación y rompimiento de  $49.4 \pm 7.4\%$  y  $236.19 \pm 48.1$  kg/cm<sup>2</sup>, respectivamente. Sin embargo, las CP-NC-Tv presentaron un valor mayor de adhesión en comparación a la de quitosán con carvacrol ( $2,710 \pm 1.03$  dinas/cm<sup>2</sup> ( $\bar{x} \pm \sigma$ , n=3)).

## CONCLUSIÓN

Cabe destacar que las NC cargadas con aceite esencial de *Thymus vulgaris* permitieron la encapsulación de los componentes del AE-Tv, la disminución de la volatilidad, la liberación controlada de estos compuestos y la formación de cubiertas poliméricas. Además, la presencia de NC en las cubiertas poliméricas modifica las propiedades mecánicas de las cubiertas lo que permitiría su potencial aplicación en una gran variedad de frutas y hortalizas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ávila, R., López, A. (2008). Aplicación de sustancias antimicrobianas a películas y recubrimientos comestibles. *Temas selectos de Ingeniería de alimentos*. (2), 4—13.
- Acosta, L. Películas comestibles nanoestructuradas de almidón de camote (*Ipomea batata*). [Tesis de maestría]. Xalapa Veracruz: Universidad Veracruzana. Noviembre 2011.
- Finos, M. (2016) Nanoencapsulación de cinamaldehído en matrices de ovoalbúmina para su vehiculización en recubrimientos. Instituto de Tecnología de Alimentos ITA-FIQ-UNL.
- Fessi, H., Puisieux, F., Devissaguet, J.P., Ammoury, N., Benita, S. (1989) Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. *International Journal of Pharmaceutics*. 55, R1-R4.
- Hernández, M.L., Guzmán, B. (2009) Biopolímeros empleados en la fabricación de envases para alimentos. *Publicaciones e Investigación*. (3), 103—129.
- Galindo-Rodríguez, S.A., Allemann, E., Fessi, H., Doelker, E. (2004). Physicochemical parameters associated with nanoparticle formation in the salting-out, emulsification-diffusion, and nanoprecipitation methods. *Pharmaceutical Research*. 21, 1428—1439.
- González Moreno, B.J., Salas Cedillo, H.I., Galindo Rodríguez, S.A., Paniagua Vega, D., Waksman Minsky, N., Alvarez Román R. Obtención y caracterización de películas biopoliméricas para su potencial aplicación biológica. XXIX Congreso Nacional de Investigación en Medicina, 2017.
- Lambert, R., Skandamis, P., Coote, P., Nychas, G. (2001) A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*. 91, 453-462.
- Lugo Estrada, L. Obtención y caracterización de nanopartículas poliméricas para la encapsulación de aceites esenciales por la técnica de nanoprecipitación. [Tesis de Maestría] Monterrey, México: Universidad Autónoma de Nuevo León. Septiembre 2012.
- Mora C.E., Fessi, H., Elaissari, A. (2010) Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. (385), 113—142.
- Rodríguez, A. Elaboración de biopelículas a base de quitosán y pululano adicionadas con extractos de cinco diferentes plantas y su evaluación en cultivos de microorganismos periodontopatógenos. [Tesis de Doctorado] Monterrey, Nuevo León: Universidad Autónoma de Nuevo León. Marzo 2011.
- Salas Cedillo, H.I. Desarrollo de un potencial insecticida nanoparticulado de *Schinus molle* para el control de *Aedes aegypti*. [Tesis de Maestría] Noviembre 2016.
- Salinas, R.M., González, G.A., Pirovani, M.E., Montejo, F. (2007) Modelación del deterioro de productos vegetales frescos cortados. *Uciencia*. (2), 183—196.
- Saavedra, N., Algecira, S. (2012) Evaluación de películas comestibles de almidón de yuca y proteína aislada de soja en la conservación de fresas. *Producto de la investigación*. 171 – 182.