

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS A PARTIR DEL SALVADO DE TRIGO

Micaela Peralta⁽¹⁾, Vanina A. Guntero^(1,2), Cristián A. Ferretti⁽²⁾, Pedro M. E. Mancini⁽²⁾, María N. Kneeteman⁽²⁾

⁽¹⁾ Grupo Productos Naturales, Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional San Francisco
Av. de la Universidad 501, San Francisco, Córdoba

⁽²⁾ Laboratorio Fester, Instituto de Química Aplicada del Litoral (UNL-FIQ-CONICET)
Santiago del Estero 2829, Santa Fe, Santa Fe
*E-mail: mkneeteman@fiq.unl.edu.ar

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de materiales poliméricos renovables a partir de materias primas agrícolas es un gran desafío en la ciencia de materiales. Tales materiales interesan en diferentes aplicaciones nanotecnológicas tales como la nanoencapsulación de moléculas sensibles al entorno. En particular, las proteínas son biopolímeros atractivos para producir nanopartículas ya que presentan ciertas ventajas tales como su biodegradabilidad, no toxicidad y biocompatibilidad.

El trigo es uno de los principales cereales cultivados y el de mayor consumo en todo el mundo como plantea Mohan Kumar et al. (2019). En un análisis estadístico realizado por la Secretaría de Agroindustria (2019), un 75% del trigo cosechado, que se estima en 19.460.000 tn al año, se aprovecha en la producción de harina, con la correspondiente generación de subproductos como el salvado, el afrechillo y el germen de trigo.

El salvado de trigo (ST) es un subproducto de la molienda que contiene entre un 13-18% de proteína y es principalmente utilizado para alimento animal. El ST está constituido por varias capas que, en general, se consideran: la capa exterior, la intermedia y el pericarpio interior. Las dos primeras se componen de células muertas, mientras que el pericarpio interior es una monocapa de células vivas conocido como la capa de aleurona. Ésta pertenece al endospermo pero se mantiene adherida al pericarpio post-molienda (salvado). Las proteínas del ST se distribuyen en las diferentes capas, las que se ubican en las capas externas e intermedias del ST se consideran proteínas solubles y son llamadas albúminas. Mientras que, en la aleurona se hallan encerradas las globulinas o proteínas de reserva según plantea Guadalupe Chaquilla-Quilca et al. (2018)

El contenido de estas proteínas en el ST implica que posee gran diversidad estructural y alta probabilidad de interacciones intermoleculares no covalentes, obteniendo propiedades nanotecnológicas interesantes, particularmente como fuentes de bloques de construcción para procesos de autoensamblaje.

Las proteínas presentes en la capa externa del ST pueden ser extraídas con agua como la fracción de albúmina y muestran buenas propiedades funcionales, como

emulsificación, formación de espuma y gelificación. Estas propiedades permiten el uso de las proteínas del ST para la fabricación de nanocarriers. Las albúminas, resultan así, ser proteínas atractivas para la fabricación de nanopartículas carriers de fármacos y compuestos bioactivos. Esto es debido a que no son tóxicas, son biodegradables, solubles en agua y contienen relativamente gran cantidad de aminoácidos asparagina y glutenina. Sin embargo, durante el aislamiento de estas proteínas, otros componentes solubles en agua, como los carbohidratos, se coextraen como se explica en G. Chaquilla-Quilca et al. (2016). Como los carbohidratos también son polímeros serán valorizados mediante esta ruta de síntesis.

Respecto a los métodos para preparar las nanopartículas de proteína, existen varios, entre ellos la coacervación/desolvatación y la emulsificación. La coacervación se basa en los cambios conformacionales de las proteínas cuando son expuestas a agentes desolvatantes, como etanol o acetona, que conduce a la precipitación y la formación concomitante de nanopartículas; estas nanopartículas pueden estabilizarse mediante la adición de un agente de reticulación. Mientras que, en el método de emulsificación, la proteína se emulsiona en aceite y las nanopartículas se forman en la interfaz agua/aceite. Los tensioactivos y los agentes de reticulación se utilizan para estabilizar la emulsión y las nanopartículas, respectivamente, mientras que la fase oleosa se elimina con disolventes orgánicos analizado en Luna-Valdez et al. (2017)

En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue estudiar la capacidad del extracto obtenido del ST para formar nanopartículas mediante el método de desolvatación con hexamonofosfato de sodio.

MÉTODOS

Extracción de proteínas y carbohidratos del salvado de trigo

Mediante la modificación de las técnicas de extracción citadas por Luna-Valdez (2017) y Campas-Ríos (2012), la extracción se realizó por agitación durante 3 h a 4°C del ST con agua fría en una proporción de 1:10 (m/v) en un vaso

de precipitados. Luego de este período, los extractos acuosos se llevaron a filtración. Los sobrenadantes se recuperaron y se llevaron a estufa a 40°C. El polvo obtenido se reconoce como la fracción de albúmina y carbohidratos presentes en el ST. En la Fig. 1 se puede observar la secuencia seguida en el proceso de extracción.



Fig. 1. Secuencia de extracción acuosa del ST

Preparación y acondicionamiento de la solución

Para la preparación del polvo de la fracción de albúmina y carbohidratos obtenido se siguió la técnica de Luna-Valdez et al. (2017) con algunas modificaciones. Se dispersó en agua en una fracción m/v que asegure una concentración de proteínas y carbohidratos de 8 mg/mL en la solución final. A esta dispersión se le ajustó el pH a 8, para evitar la formación de un precipitado blanco que pueda interferir en los pasos posteriores, con NaOH 1N. Luego se centrifugó a 3000 g durante 20 min. El sobrenadante se recuperó y acondicionó a 70°C en un baño de agua durante 3 h, con el objetivo de facilitar el desdoblamiento de las proteínas. Finalmente, se enfrió a 25°C.

Formación de nanocápsulas de proteínas mediante desolvatación con hexamonofosfato de sodio (NaPO₃)₆

La desolvatación de la solución preacondicionada se realizó tomando alícuotas de 2 mL y adicionándole a cada una 200 µL de soluciones de hexamonofosfato de sodio en concentraciones de 0,2, 0,4, 0,6 y 0,8 M sin agitación. Como blanco, se tomó una solución de proteínas y carbohidratos sin adición de (NaPO₃)₆. Posteriormente, se analizaron los cambios físicos durante períodos de 10 min, un total de 130 min siguiendo la técnica que se plantea en el trabajo de Luna-Valdez et al. (2017)

Caracterización fisicoquímica de las nanopartículas

El tamaño de las nanopartículas se caracterizó por microscopía electrónica de barrido (SEM) mediante un equipo "Phenom Pure" de quinta generación. Las muestras fueron colocadas en grillas de carbono para ser posteriormente analizadas.

CONCLUSIONES

Los extractos acuosos del salvado de trigo se sometieron a un proceso de desolvatación con hexamonofosfato de sodio obteniendo así nanopartículas esféricas con tamaños entre 20 y 100 nm. Dichas nanopartículas serán utilizadas en una etapa posterior para encapsular moléculas activas de interés.

REFERENCIAS

- Chaquilla-Quilca, G., Balandrán-Quintana R. R., Azamar-Barrios, J. A., Ramos-Clamont Montfort, G., Mendoza-Wilson, A. M., Mercado-Ruiz, J. N., Madera-Santana, T. J., López-Franco, Y. L., Luna-Valdez, J. G., "Synthesis of Tubular Nanostructures from Wheat Bran Albumins during Proteolysis with V8 Protease in the Presence of Calcium Ions.", *Food Chemistry*, **200**, 16–23 (2016).
- Chaquilla-Quilca, G., Balandrán-Quintana R. R., Huerta-Ocampo, J. Á., Ramos-Clamont Montfort, G., Luna-Valdez, J. G., "Identification of Proteins Contained in Aqueous Extracts of Wheat Bran through a Proteomic Approach.", *Journal of Cereal Science*, **80**, 31–36 (2018).
- Luna-Valdez, J. G., Balandrán-Quintana R. R., Azamar-Barrios, J. A., Ramos-Clamont Montfort, G., Mendoza-Wilson, A. M., Mercado-Ruiz, J. N., Madera-Santana, T. J., Rascon-Chu, A., Chaquilla-Quilca, G., "Structural and Physicochemical Characterization of Nanoparticles Synthesized from an Aqueous Extract of Wheat Bran by a Cold-Set Gelation/Desolvation Approach.", *Food Hydrocolloids*, **62**, 165–73 (2017).
- Mohan Kumar, B. V., Sarabhai, S., Prabhasankar, P., "Targeted Degradation of Gluten Proteins in Wheat Flour by Prolyl Endoprotease and Its Utilization in Low Immunogenic Pasta for Gluten Sensitivity Population.", *Journal of Cereal Science*, **87**, 59–67 (2019).
- Secretaría de Agroindustria, "Cadena de La Harina de Trigo– Primera Parte" (2019).