

Caracterización óptica y estructural de nanopartículas de *Allium sativum* L. impregnadas en lomo de bovino

Optical and structural characterization of *Allium sativum* L. nanoparticles impregnate in bovine loin

Kelly Johana Figueroa-López^{1*}, Olga Lucía Torres Vargas¹, John Jairo Prías-Barragán²
y Hernando Ariza-Calderón²

Universidad del Quindío, Grupo de Investigación en Ciencias Agroindustriales¹, Instituto Interdisciplinario de las Ciencias².
*Autora para correspondencia: kjfigueroal@uqvirtual.edu.co

Rec.: 24.05.2014 Acep.: 02.08.2014

Resumen

En el trabajo se determinaron las características ópticas y estructurales de nanopartículas de polvo de ajo (*Allium sativum* L.), obtenidas por reducción y selección de tamaño, para comparación con muestras de polvo de ajo comercial. El tamaño de partícula se determinó empleando microscopía electrónica de transmisión (TEM) y las caracterizaciones óptica y estructural se realizaron, respectivamente, por espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR) y difracción de rayos X (DRX). Para determinar el efecto de las nanopartículas de polvo de ajo cuando fueron aplicadas sobre trozos de lomo (*Longissimus dorsi*) de bovino se utilizó la técnica de fluorescencia. Los tamaños de las partículas del polvo sometido a reducción y selección de tamaño presentaron valores entre 50 y 100 nm y las de polvo de ajo normal entre 400 y 500 nm. En los espectros de FTIR se observaron los principales grupos funcionales y los difractogramas de rayos X permitieron concluir que se trata de materiales amorfos. Por su tamaño más reducido, las nanopartículas migran más rápido al interior del músculo del bovino que las micropartículas, lo que permite una mejor absorción y aprovechamiento de sus componentes y se constituye en un resultado innovador en el campo de la ciencia de los alimentos.

Palabras clave: Ajo, especia, nanopartículas, TEM, DRX, FTIR, fluorescencia, lomo bovino.

Abstract

To determine the optical and structural characteristics of garlic powder, garlic powder nanoparticles were obtained by size reduction and selection methods and their optical and structural characteristics were determined. The optical and structural response between commercial garlic powders and powders obtained by size reduction operations was compared. The particle size was determined using transmission electron microscopy (TEM) images; the optical characterization was determined using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) spectra and the structural characterization was made using X-ray diffraction (XRD). Bovine loin (*Longissimus dorsi*) samples were impregnated with garlic powder nanoparticles and the tissue was characterized by fluorescence technique. Powders obtained with size reduction and selection methods presented sizes values between 50 and 100 nm, while the normal garlic powder between 400 and 500 nm. FTIR spectra showed the presence of the main functional groups and X-ray diffractograms allowed to infer that the structure of garlic as an amorphous material.

Key words: Garlic, nanoparticles, TEM, DRX, FTIR, fluorescence, bovine loin.

Introducción

El ajo (*Allium sativum* L.) perteneciente a la familia de las liliáceas (García, 1998) presenta en su estructura carbohidratos, compuestos azufrados, proteínas, aminoácidos libres, derivados fenólicos, fibra, minerales, saponinas, niveles moderados de selenio, vitaminas A y C y complejo B; además es una fuente importante de antioxidantes (Lawrence, 2011). Las propiedades medicinales del ajo se atribuyen a grupos azufrados, como la alicina y el ajoene, compuestos biológicamente activos que se forman cuando los ajos son macerados, partidos o sometidos a cocción (Lanzotti, 2006). La acción antimicrobiana de la alicina se debe a que actúa como un potente inhibidor de algunas enzimas, entre ellas cistein-proteinasas y alcohol deshidrogenasas, responsables de las infecciones causadas por bacterias, hongos o virus. También se le atribuyen efectos preventivos y moderadores en hipocolesterolemia, problemas cardiovasculares, presión arterial alta; efectos anti-inflamatorios (Tsai *et al.*; 2012); posibles mecanismos de acción en el cáncer como inhibidor de mutagénesis y agregación plaquetaria, por lo que se considera como un material anti-trombótico y con efectos de inmuno-modulación (Chandrashekar y Venkatesh, 2009).

La nanotecnología se considera como la comprensión y el control de la materia en dimensiones del orden de 1 a 100 nm, donde ciertos fenómenos permiten nuevas aplicaciones (Chena y Yadab, 2011). En esta escala de medida, la física, la química y la biología difieren fundamentalmente de las propiedades de los átomos individuales, moléculas o materiales cuando son tratados a escalas superiores, afectando el comportamiento de las propiedades fisicoquímicas de los materiales. La capacidad de manipular la materia a escala nanométrica permite conducir a un mejor entendimiento de la diversidad biológica, física y de procesos químicos que conllevan al aprovechamiento de materiales mejorados, estructuras novedosas y dispositivos electrónicos, entre otros (Sastri *et al.*; 2011).

La nanotecnología también tiene un amplio campo de acción en ciencias como la medicina, la electrónica, los alimentos y la agricultura. Su aplicación ha fortalecido sis-

temas de control de enfermedades en animales, desinfección de aguas, seguridad de los sistemas de suministro de nutrientes, conversión de energía, tecnología de localización de plagas, avances en la detección rápida de los cambios morfológicos de las propiedades fisicoquímicas de los alimentos, aumento del valor nutritivo, control de calidad, seguridad alimentaria, desarrollo de nuevos productos y diseño de empaques (Mahendra *et al.*; 2009). La formación de nanopartículas, nanoemulsiones y nanocápsulas puede mejorar las propiedades funcionales de los productos alimenticios aumentando su absorción en el cuerpo (Trujillo *et al.*; 2013); su aplicación permite la elaboración de alimentos más saludables y nutritivos, con mejores características organolépticas, resistentes y de mayor durabilidad, proporcionando beneficios al consumidor, a la industria y abriendo nuevos campos de investigación.

El objetivo general de este trabajo fue caracterizar óptica y estructuralmente nanopartículas obtenidas de polvos de ajo comercial y aplicadas sobre trozos de lomo (*Longissimus dorsi*) de bovino. Las nanopartículas se obtuvieron por los métodos de macerado y tamizado y la caracterización de las muestras por las técnicas de TEM, DRX y FTIR.

Materiales y métodos

Obtención de nanopartículas

Las nanopartículas de ajo fueron obtenidas por el método de reducción y selección de tamaño, a partir de 10 g de micro-partículas de polvo de ajo comercial 100% natural que fueron sometidos a los procesos siguientes: macerado durante 6 horas utilizando un micro-molino vibratorio compuesto por un conjunto de molienda (mortero y bola de ágata) y pase por tamiz Ro-tap model E test sieve shaker manteniendo la muestra en constante movimiento durante 15 min sobre una malla de 20 μm . Una vez que las partículas más finas fueron filtradas, se procedió, nuevamente, a macerar durante 2 horas.

Determinación de tamaño de partícula

La determinación del tamaño de partículas se realizó en la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira empleando la técnica de Mi-

croscopía Electrónica de Transmisión (TEM). Los polvos de ajo fueron dispersados en rejillas de cobre, colocados en porta-objetos de microscopio a 80 kilovoltios y observados con resoluciones de 120,000X y 300,000X. Las fotomicrografías fueron observadas en un monitor empleando una cámara digital.

Caracterización de la estructura

Consistió en hacer incidir un haz de rayos X monocromático sobre la muestra, la cual interactúa con la radiación y da información precisa sobre la composición y la estructura cristalográfica del material estudiado. Para ello se utilizó un difractómetro de rayos X (DRX) marca Bruker D8-Advance provisto de un tubo con ánodo de Cu que emite radiación de tipo $\text{CuK}\alpha$; un detector con un voltaje de 40 kV y una corriente de 40 mA. El polvo de ajo fue compactado en el porta-muestras del equipo y las mediciones se realizaron con un ángulo de $3 - 60^\circ$, donde cada 3 segundos se medían 0.02° , siendo el tiempo promedio de medida para cada muestra de 2.5 h.

Caracterización óptica

La caracterización óptica del polvo de ajo se hizo por Espectroscopia Infrarroja Transformada de Fourier (FTIR). En dicha técnica la radiación electromagnética en el rango del infrarrojo es utilizada para identificar la composición de un material. Las muestras fueron compactadas con un dado con KBr en proporción 1:10 que fue colocado en una celda adaptada en un espectrofotómetro marca IR Prestige 21 Shimadzu. Los espectros de las muestras se obtuvieron en rangos de números de onda comprendidos desde 4000 hasta 400/cm, que corresponden al rango espectral del infrarrojo medio (MIR).

Caracterización de muestras de lomo de bovino impregnadas con polvo de ajo

Para esta caracterización se tomaron trozos de lomo de bovino de $4 \times 5 \times 3$ cm. Una parte de ellos fueron impregnados con 0.1 g de polvo de ajo normal (μPa) y los restantes con nanopartículas de polvo de ajo (nPa),

mediante recubrimiento o frotado en todas sus superficies. El polvo es parcialmente disuelto y drenado por el efluente líquido de la carne, como consecuencia de mecanismos osmóticos y difusiones. Para determinar la fluorescencia en los trozos impregnados con μPa y nPa se empleó un microscopio invertido de fluorescencia marca EVOS; al mismo tiempo se caracterizaron muestras de lomo con y sin impregnación de ambos tipo de polvo de ajo almacenadas a 4°C durante 48 h. Las observaciones se realizaron en la superficie de cortes finos de las muestras de lomo colocadas en un porta-objetos y lectura a una resolución entre 200 y 400 μm .

Resultados y discusión

Tamaños de partículas

Con el Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM) utilizando un aumento de 120,000X se obtuvieron las Figuras 1a y 1b para el polvo de ajo normal (comercial) donde se observaron partículas hasta de 200 nm de ancho por 400 nm de largo, con formas irregulares y una alta rugosidad. Con un aumento de 300,000X se observaron las micrografías para las partículas obtenidas por maceración, alcanzando a medir nanopartículas hasta de 50 nm de ancho por 100 nm de largo (Figuras 1c y 1d).

Los resultados anteriores muestran que cuando las partículas de polvo de ajo comercial son sometidas al proceso de maceración reducen su tamaño inicial de 200 para 50 nm y presentan, por una parte, una menor rugosidad por efecto de la fuerza mecánica aplicada durante el proceso de preparación y, en los bordes, nanocanales de origen aún no determinado. En las observaciones con un aumento de 300,000X, las micrografías de las nanopartículas permiten identificar partículas con tamaños hasta 20 nm con una estructura irregular y desaparición de los nanocanales, lo que puede ser atribuido a efectos de la interacción electrostática entre las nanopartículas y el borde de la malla metálica del tamiz (Figuras 1e y 1f).

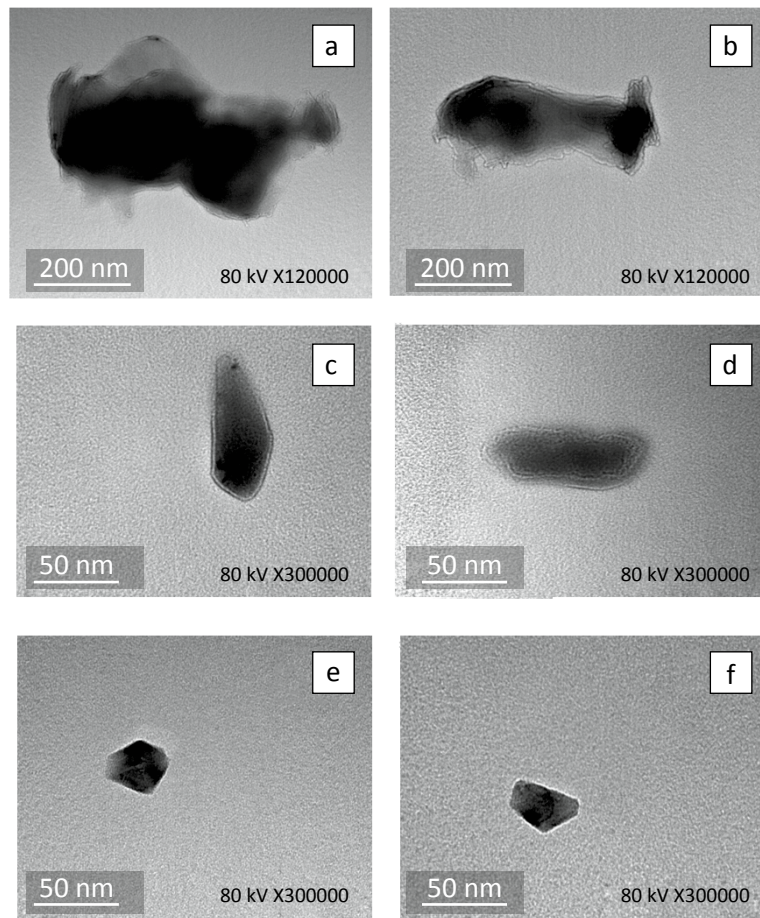


Figura 1. Micrografías TEM de la superficie de polvo de ajo: **(a)** y **(b)** partículas finas de ajo comercial, con un aumento de 120,000X. **(c)** y **(d)** partículas obtenidas por el método de macerado con un aumento de 300,000X. **(e)** y **(f)** nanopartículas seleccionadas por el método de tamizado y maceradas con un aumento de 300,000X.

Caracterización estructural por rayos X (DRX)

En los difractogramas de rayos X tomados a muestras de polvo de ajo comercial y polvo con reducción de tamaño (Figura 2) se observa un pico dominante ampliamente ensanchado, el cual es característico de materiales amorfos. En el Cuadro 1 se incluyen los valores del pico más alto y el ancho a la altura media donde se observa un leve desplazamiento del pico hacia valores mayores de ángulo y una reducción en el ancho entre los difractogramas de los polvos sometidos a procesos de reducción (macerado y tamizado) y el ajo comercial, lo que puede ser debido a la reducción del tamaño de las partículas.

Cuadro 1. Valores del pico principal y el ancho a la altura media (FWHM) obtenidos del análisis de los difractogramas para polvo de ajo.

Tipo de partícula	Pico (grados)	FWHM (grados)
Ajo comercial (μ Pa)	18.46	11.84
Ajo macerado (μ Pa)	19.47	10.76
Ajo tamizado y macerado (nPa)	19.14	11.17

Caracterización óptica por FTIR

La caracterización óptica del polvo de ajo normal se realizó usando la espectroscopia infrarroja transformada de Fourier, FTIR, siguiendo los protocolos establecidos por Skoog *et al.* (2001) para la identificación de grupos

funcionales. En la Figura 3 se presentan los espectros de polvos de ajo normal y sometido a procesos de reducción y selección de tamaño. Se puede observar que la estructura de los espectros es independiente de los procesos de reducción de tamaño y los grupos funcionales están localizados en el pico correspondiente a una longitud de onda de 3377/cm, lo que puede ser atribuido al estiramiento del grupo hidroxilo O-H; mientras que el pico a 2931/cm corresponde a un estiramiento de enlaces C-H de hibridación sp^3 , la banda en 1643/cm se asigna a carbonilos de diferentes grupos funcionales y el pico en la longitud de onda 1406/cm se asigna a un grupo -O-H de una curva de carboxilatos. Los grupos funcionales

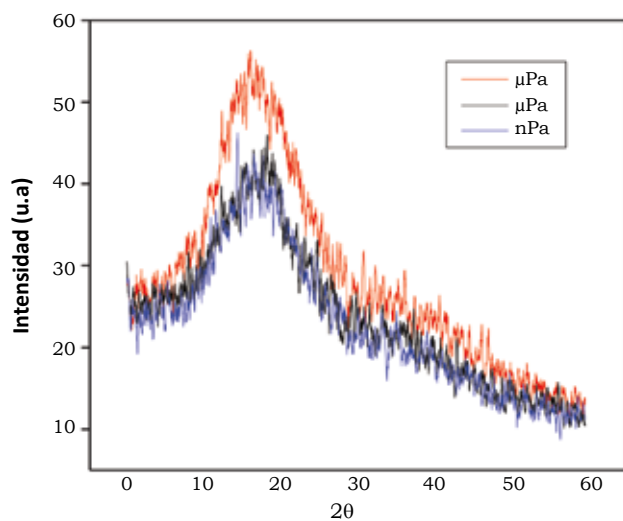


Figura 2. Difractogramas de rayos X tomados a las muestras de polvo de ajo.
 μ Pa = partículas de polvo de ajo comercial.
 nPa = nanopartículas de polvo de ajo tamizado y macerado.

Imágenes de fluorescencia

Las partículas de polvo de ajo normal (nPa) y la nanopartículas (μ Pa) emitieron una alta fluorescencia (Figuras 4a y 4b, respectivamente). Debido a la cantidad de componentes presentes en el ajo, entre ellos, minerales y grupos azufrados, este material presenta una alta fluorescencia lo que permite determinar el grado de impregnación y penetración cuando se aplica sobre la superficie del lomo de bovino (Figuras 4c a 4h). En las Figuras se observa que el tejido impregnado con nPa presenta una leve fluorescencia, mientras

anteriores son debidos, posiblemente, a la alta concentración de lípidos presentes en el ajo. Por otra parte, las bandas a 1130 y 1107/cm pueden ser atribuidas, respectivamente, a la absorción de sulfóxidos S=O y a las vibraciones de estiramiento de aminas primarias C-N, las cuales se atribuyen a compuestos azufrados como la aliína y sus derivados; el pico en 933/cm se puede asignar a γ -C-H deformación de $=CH_2$, mientras que en 819/cm a curva de aminas primarias N-H los cuales se deben al grupo amino de la aliína. Finalmente, el pico 605/cm se puede asociar con la curva de alquinos C-H de hibridación sp^3 , tal como lo sugieren Rastogi y Arunachalam (2011).

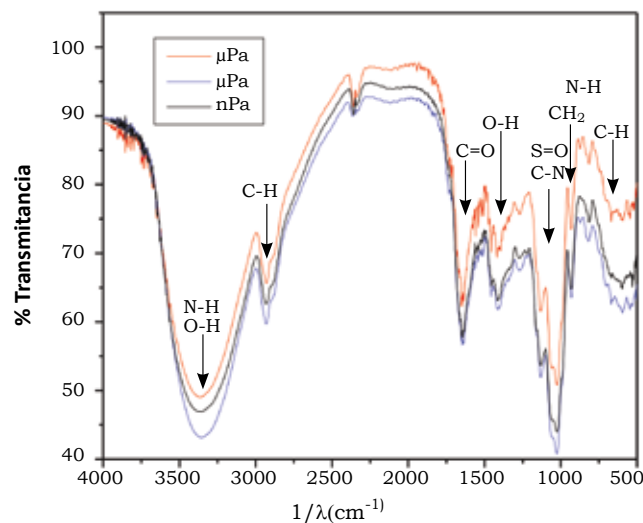


Figura 3. Caracterización de grupos funcionales por la técnica de FTIR.
 μ Pa = partículas de polvo de ajo comercial.
 nPa = nanopartículas de polvo de ajo tamizado y macerado.

que en el tejido muscular impregnado con μ Pa ésta no se observa. Lo anterior se debe a que las nPa penetran en el tejido muscular después de 48 h de almacenamiento en refrigeración, lo que permite una mayor absorción y cambios en las propiedades organolépticas del tejido muscular del bovino como sabor, aroma y ternesa.

Los trabajos sobre obtención y caracterización sistemática de nanopartículas de ajo son escasos, por lo que el presente es uno de los primeros reportes sobre el tema. La incorporación de nanopartículas en los ali-

mentos se inició hace unos pocos años y en la actualidad existe poca información especializada, lo cual constituye un campo abierto de investigación. No obstante, existen algunos trabajos relacionados, entre ellos el uso de nanopartículas de polietilen-glicol recubiertas con aceite esencial de ajo con tamaños de 240 nm como insecticida contra *Tribolium castaneum* adulto (Feng-Lian *et al.*, 2009). Los resultados del presente trabajo muestran que

es posible mediante procesos de reducción y selección de tamaño obtener nanopartículas de polvo de ajo. La reducción de tamaño, puede incrementar el área específica de las partículas y la capacidad de absorción de las mismas, lo que representa una innovación en el campo de los alimentos para potenciar los efectos benéficos del ajo, que debe ser bien aprovechado por sus interesantes propiedades nutricionales y medicinales.

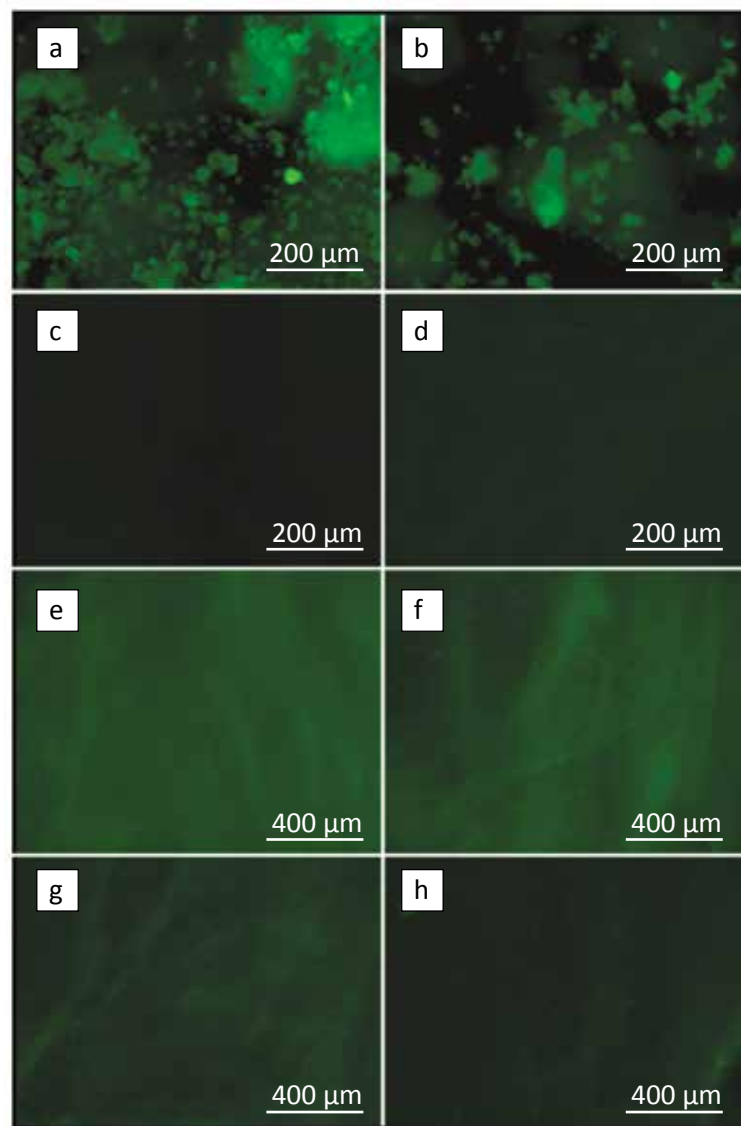


Figura 4. Fluorescencia de polvo de ajo. (a) nanopartículas de ajo; (b) micropartículas de ajo; (c) y (d) muestras de lomo de bovino; (e) corte superficial de muestras de lomo de bovino impregnado con nPa; (f) corte superficial de muestras de lomo de bovino impregnado con μ Pa; (g) corte interno de muestras de lomo de bovino impregnado con nPa; (h) corte interno de muestras de lomo de bovino impregnado con μ Pa. μ Pa = partículas de polvo de ajo comercial. nPa = nanopartículas de polvo de ajo tamizado y macerado.

Conclusiones

- Por tratarse de procesos físicos, la reducción y selección de tamaño no alteraron la composición química de las nanopartículas obtenidas a partir de polvos de ajo comercial.
- Las imágenes de microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) permitieron identificar la formación de nanopartículas de polvo de ajo que se obtuvieron por los métodos de reducción y selección de tamaños.
- Los difractogramas de rayos X (DRX) mostraron que las nanopartículas conservan la estructura amorfa del ajo comercial.
- Las nanopartículas de polvo de ajo, por su menor tamaño, migran hacia el interior del músculo de bovino más rápido que las micropartículas de polvo de ajo comercial, permitiendo una mejor absorción y aprovechamiento de sus componentes.

Agradecimientos

Al Instituto Interdisciplinario de las Ciencias de la Universidad del Quindío, Armenia, y a la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, por su apoyo para el desarrollo de esta investigación.

Referencias

- Chandrashekar, P. y Venkatesh, Y. 2009. Identification of the protein components displaying immunomodulatory activity in aged garlic extract. *J. Ethnopharm.* 124(3):384 - 390.
- Chena, H. y Yadab, R. 2011. Nanotechnologies in agriculture: New tools for sustainable devel-

- opment. *Trends Food Sci. Techn.* 22(11):585 - 594.
- Feng-Lian; Xue-Gang, Fen; y Chao-Liang. 2009. Structural characterization of nanoparticles loaded with garlic essential oil and their insecticidal activity against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera:Tenebrionidae). *Agric. Food Chem.* 57(21):10156 - 10162.
- García, C. R. 1998. El ajo: cultivo y aprovechamiento. Madrid. Grupo Mundi-Prensa. 205 p.
- Lanzotti, V. 2006. The analysis of onion and garlic. *J. Chromat.* 1112(1-2):3 - 22.
- Lawrence, R. 2011. Antioxidant activity of garlic essential oil (*Allium sativum*) grown in north Indian plains. *Asian Pacific J. Trop. Biom.* 1(1):51 - 54.
- Mahendra, S.; Li, Q.; Lyon, D.; Brunet, L.; y Alvarez, P. 2009. Nanotechnology-enabled water disinfection and microbial control: merits and limitations. *Nanotechnology Applications for clean water.* Chapter 12. 1(1):157 - 166.
- Rastogi, L. y Arunachalam, J. 2011. Sunlight based irradiation strategy for rapid green synthesis of highly stable silver nanoparticles using aqueous garlic (*Allium sativum*) extract and their antibacterial potential. *Materials Chemistry and Physics.* 129(1 - 2):558 - 563.
- Sastry, K.; Rashmi, H.; y Rao, N. 2011. Nanotechnology for enhancing food security in India. *Food Policy* 36(3):391-400.
- Skoog, D.; Holler, J.; y Nieman, T. 2001. Principios de análisis instrumental. McGraw-Hill. 5ª Edición. España. 997 p.
- Trujillo, S.; Qian, C.; Belloso, M.; y McClements, D. 2013. Modulating β -carotene bioaccessibility by controlling oil composition and concentration in edible nanoemulsions. *Food Chem.* 139(1 - 4):878 - 884.
- Tsai, C.-W.; Chen, H.-W.; Sheen, L.-Y.; y Lii, C.-K. 2012. Garlic: Health benefits and actions. *Biom.*:17 - 29.