

Fortificación de harina de maíz con nanopartículas de hierro sintetizadas con extracto de moringa (*Moringa oleifera*)

CARRILLO, María*†, TREJO, Jorge, REYES, Abigail y ZAVALA, Diana

Recibido Julio 05, 2016; Aceptado Septiembre 09, 2016

Resumen

La anemia ferropénica es uno de los padecimientos que en México aún no ha sido erradicado. Para contribuir a su tratamiento se propone el uso de la nanotecnología, que se aplica en diferentes áreas modificando moléculas biológicas. El objetivo de este trabajo fue fortificar harina de maíz con nanopartículas de hierro (FeNps) sintetizadas con extracto de hojas de moringa (*M. oleifera*), una planta con alto valor nutritivo, las cuales se obtuvieron a partir del extracto de *M. oleifera* y de una solución de FeSO₄. La formación de las FeNps se confirmó por espectrofotometría de absorción y por microscopía electrónica de barrido. Las FeNps se adicionaron a harina de maíz para elaborar tortillas, y se les cuantificó el contenido de cenizas, se determinó su vida útil y se evaluaron sensorialmente. El contenido de minerales en la tortilla elaborada con harina adicionada y sin adicionar FeNps fue de 2.1 y 1.6 % respectivamente. Éstas tuvieron buena aceptación sensorial e incrementaron su vida útil hasta por 23 días. La fortificación de harina de maíz con FeNps para elaborar tortillas es una alternativa viable para la prevención de la anemia ferropénica.

Anemia ferropénica, nanopartículas, síntesis verde, fortificación

Citación: CARRILLO, María, TREJO, Jorge, REYES, Abigail y ZAVALA, Diana. Fortificación de harina de maíz con nanopartículas de hierro sintetizadas con extracto de moringa (*Moringa oleifera*). Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias. 2016, 3-8: 39-45.

Abstract

Iron deficiency anemia is one of the conditions that Mexico has not yet been eradicated. To help treatment using nanotechnology, it applied in different areas proposes modifying biological molecules. The aim of this work was to fortify corn flour with iron nanoparticles (FeNps) synthesized with moringa leaf extract (*M. oleifera*), a plant with high nutritional value. The FeNps were obtained from *M. oleifera* extract and FeSO₄ solution. The formation of FeNps was confirmed by absorption spectrophotometry and by scanning electron microscopy. The FeNps were added to corn flour for tortillas, and they quantified the ash content, life was determined and evaluated sensorially. The mineral content in flour tortillas made with added without adding FeNps was 2.1 and 1.6% respectively. They had good sensory acceptance and increased life up to 23 days. Fortification of corn flour for tortillas FeNps is a viable option for the prevention of iron deficiency anemia alternative.

Iron deficiency anemia, nanoparticles, green synthesis

*Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: hmonroysalazar@gmail.com)

† Investigador contribuyente como primer autor.

Introducción

La anemia por deficiencia de hierro es uno de los problemas nutricionales de mayor magnitud en el mundo. La OMS estima que un 24.8% de la población mundial padece anemia (OMS, 2012). En México, a pesar de conocer su etiología y tener a disposición el conocimiento de cómo enfrentarla y de saber que las intervenciones son de bajo costo, aún no se ha podido superar este problema (De la Cruz-Góngora et al., 2013).

Aunque en el mercado existen alimentos como, cereales, leche y alimentos para lactantes que han sido fortificados con FeSO_4 , esta fortificación no ha ayudado a disminuir los niveles de anemia en la población, esto debido a que el hierro empleado no es fácilmente asimilado por el organismo y a que los alimentos fortificados no son de consumo general entre la población.

En los últimos años la industria alimentaria ha crecido, y dentro de este campo la nanotecnología, que ha empezado a encontrar aplicaciones modificando moléculas biológicas mediante ingeniería. Los nanomateriales permiten una mejor encapsulación y liberación de los ingredientes activos en comparación con los agentes tradicionales (Soto y López, 2011).

Debido al impacto que tiene la síntesis de nanomateriales en el medio ambiente, se están buscando nuevas alternativas para la producción de las nanopartículas (Nps) que sean más amigables con la naturaleza, también conocidas como síntesis verde, y que produzcan una menor cantidad de desechos tóxicos, extractos de plantas han sido empleados con éxito. *M. oleifera* es una planta que tiene uso alimenticio, y cuyas hojas, flores y raíces son altamente apreciados por su valor nutritivo (Martín et al., 2013).

Por lo anterior, este trabajo tuvo como objetivo fortificar tortillas de maíz mediante la adición de nanopartículas de hierro (FeNps) sintetizadas con extracto de *Moringa oleifera*, con la finalidad de contribuir al tratamiento de la anemia ferropénica.

Materiales y métodos

Obtención del extracto

Las hojas secas de *M. oleifera* se adquirieron con un productor local en Cd. Valles, S.L.P. Para obtener el extracto de *M. oleifera* se usó el método de maceración. Se colocaron 10 g de hojas secas y pulverizadas en 100 mL de agua desionizada y se mantuvieron a 30°C a 136 rpm durante 24 horas en un agitador de mesa digital *Shaker* Ika KS 4000 i control. El extracto se filtró en papel filtro de poro mediano (0.19 mm con retención de partículas de 8-12 μm), se esterilizó por filtración en membrana Whatman de 2 μm y se almacenaron a 4°C hasta su uso.

Síntesis verde de FeNps

Para la síntesis de las FeNps se hicieron algunas modificaciones a la técnica descrita por Eltayeb (2015). A 50 mL del extracto acuoso de hojas de *M. oleifera* se mezclaron con 50 mL de solución de FeSO_4 0.1 M en un matraz Erlenmeyer, y se dejaron en agitación a 40° durante 24 h (Figura 1). La solución de FeNps se almacenó a 4°C para su posterior análisis.

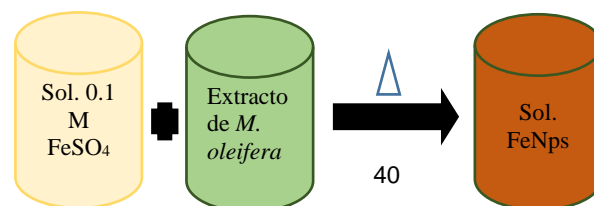


Figura 1 Esquema de la síntesis de nanopartículas de hierro

Caracterización fisicoquímica de la solución de FeNps

A la solución de FeNps se le determinó el pH y el potencial redox; se le realizó su espectro de absorción y se observó por microscopía electrónica de barrido.

pH y potencial redox

A la solución obtenida de FeNps se le midió el pH y el potencial redox con un potenciómetro OAKTON 2700, durante la reducción de los iones de Fe el pH disminuye, se le midió el pH en los 7 días posteriores para comprobar que éste no disminuye y que las Nps permanecen estables (Puiso et al., 2014).

Espectrofotometría UV-Vis.

Se realizó un espectro de absorción del extracto de *M. oleifera*, de la solución de FeSO_4 y de FeNps.

Para medir cada muestra 0.1 mL se diluyó con 2 mL de agua desionizada y se midió a absorbancia en un intervalo de 200-600 nm usando un espectrofotómetro marca Thermo modelo Genesis 10 UV se usó como blanco agua desionizada (Eltayeb, 2015).

Microscopía electrónica de barrido.

La morfología de las Nps se analizó mediante microscopía electrónica de barrido en un equipo de microscopía electrónica de barrido por efecto de campo (FE-SEM por sus siglas en inglés) marca FEI modelo INSPECT F-50.

Las FeNps se esparcieron sobre una cinta adhesiva de carbono, la cual fue montada sobre un disco de latón y se le tomó una foto al disco donde se encontraban las muestras con la intención de enfocar dentro de la cámara del microscopio.

Una vez que se cerró la cámara de la muestra se esperó para que se generara vacío con la intención de que no hubiera interferencias con la muestra. Se usó un voltaje de 2.00 y 5.00 kV y se seleccionó la opción de imagen por electrones retrodispersados.

Fortificación de harina de maíz con FeNps

A 100 g de harina de maíz nixtamalizado se le adicionaron 30 mL de la solución de FeNps y 15 mL de agua. Con la masa así preparada se elaboraron tortillas. La NOM-051-SSA-2010 considera que la ingesta diaria recomendada (IDR) de Fe para la población mexicana es de 17 mg, y Cervera et al. (2004) reportan que para los niños es de 15 mg. Considerando que una tortilla fortificada con FeNps contiene 3 mg, se recomienda ingerir tres tortillas diarias, ya que el consumo de otros alimentos que contienen Fe contribuirán también a alcanzar la IDR.

El consumo de tortillas puede variar dependiendo de los hábitos alimenticios de cada persona. También se elaboraron tortillas de la manera tradicional sin adición alguna. A las tortillas así elaboradas se les realizó análisis químico proximal. Todos los análisis se realizaron por triplicado. Así mismo, es importante recordar que la población a la que estará destinado este alimento, será la población infantil.

Análisis químico proximal

Con la finalidad de conocer el cambio en el contenido de nutrientes, a la tortilla con y sin solución de FeNps se les realizó el análisis químico proximal (humedad, cenizas, fibra, proteínas, lípidos y carbohidratos) (AOAC, 2012).

Determinación de cenizas.

Para la determinación de cenizas se pusieron a peso constante 3 crisoles, para esto se colocaron en una estufa Marca Binder a 100°C por 24 h, posterior a éste se sacaron y colocaron en un desecador y se pesaron en una balanza semianalítica marca OHAUS modelo Pioneer cada hora hasta que no hubiera una diferencia mayor de 0.05 g en cada medición. Posteriormente se pesaron 5 g de la muestra en cada crisol y se colocaron en una mufla a 550 °C por 24 h. Se anotó el peso final de cada crisol y se calculó el contenido de cenizas presentes (Ecuación 1).

$$\% \text{ de cenizas} = \frac{\text{Peso final} - \text{Peso inicial}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100 \quad (1)$$

La información nutrimental y el contenido energético se obtuvieron de acuerdo a lo indicado en la NOM-051-SCFI/SSA1-2010, especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados. . Estos se determinaron a partir de las tablas de valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México (Ledesma et al., 2010).

Estudio de vida útil

La vida útil de las tortillas adicionadas con y sin FeNps, se estableció a partir de su análisis microbiológico y su evaluación sensorial. Cada tercer día se realizó el análisis microbiológico. La muestra se almacenó en bolsas plásticas oscuras con la intención de proteger de la luz, en refrigeración a una temperatura de 4°C. El fin de su vida útil se consideró como el tiempo en que se excedieron los límites microbiológicos que especifica el Proyecto de calidad microbiológica de alimentos potencialmente peligrosos, que emite la Secretaría de Salud. El número de días de vida útil se consideró aquel en el que los evaluadores detectaron un cambio en el producto almacenado adicionado con y sin FeNps y uno recién elaborado.

Se elaboraron dos lotes de tortillas. Un lote con FeNps y otro lote sin FeNps. Cada lote constó de 7 paquetes con 15 tortillas cada uno. Cada tercer día se sacó un paquete en refrigeración a 4 °C y se le hicieron análisis microbiológicos (*S. aureus* y coliformes totales).

Evaluación sensorial

A las personas que participaron en estas pruebas firmaron una carta de consentimiento informado. En una primera etapa, la evaluación sensorial se llevó a cabo en las instalaciones de la Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Huasteca de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Además de una prueba de aceptación usando una escala hedónica, se usó una prueba de comparación por pares no direccionada. A un panel de 25 jueces no entrenados (n=25). Se proporcionaron dos muestras de tortilla: una que fortificada con la solución de FeNps y otra que no. Las muestras se codificaron con números aleatorios y a cada juez se le proporcionaran por escrito las instrucciones para la prueba (Anexo 4). Los resultados de la prueba se analizaron mediante la prueba de χ^2 con un intervalo de confianza de 95 % (Carrillo y Zavala, 2012).

Análisis estadístico

Para determinar si existen diferencias significativas entre las muestras se aplicó un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía. A un nivel de significancia del 5 % ($p= 0.05$). Los parámetros estadísticos se calcularon empleando el paquete PASW Statics 18 (PASW, 2009). Las características descriptivas de las muestras se presentaron como frecuencias (%) con sus respectivos intervalos de confianza al 95 %. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Discusión de resultados

Síntesis de FeNps

Debido al proceso de biorreducción se observó un cambio de coloración en las soluciones de extracto de *M. oleifera* y la de FeSO_4 0.1 M.

En la solución de FeNps se apreció un cambio de coloración después de 24 h en agitación a 40 °C, lo que sugiere la formación de Nps coloidales de Fe en la solución.

El proceso de reducción en este caso fue rápido debido a que este se lleva en horas, como el proceso de biorreducción de las nanopartículas de plata, las cuales se pueden encontrar a partir de las 6 hrs (Roy et al., 2015).

En este tipo de procesos se espera que los átomos de Fe se arreglen por si solos y pasen de un estado de oxidación Fe^{2+} a Fe^0 (Ullah et al., 2015).

En el Gráfico 1 el pico observado a una longitud de onda de 450 nm en el espectro de absorbancia de la solución de FeNps 50:50 se atribuye a la excitación del plasmón, lo que indica la posible presencia de la FeNps.

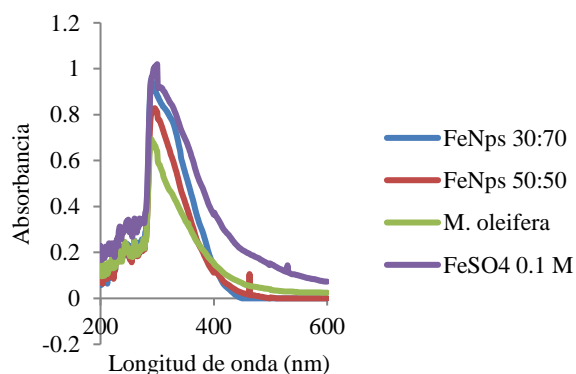


Gráfico 1 Espectro de absorción de FeNps

Microscopía electrónica de barrido

En parte superior de la Figura 2, se observan agregados de nanomaterial con una coloración blanca esto se observó a una magnificación de 40 000 x, sin embargo se encontraron partículas separadas de éstos, las cuales al ser medidas por el software mostraron tamaños desde 50 nm a 95 nm evidenciando la presencia de nanomateriales, esto debido a que se considera como nanopartículas a aquellas con un tamaño menor de 100 nm de diámetro que exhiben propiedades nuevas y mejoradas (Syed et al., 2013). Las Nps observadas no mostraron una estructura circular, ya que fueron estructuras irregulares o cristalinas, lo que hace pensar que son agregados de Nps. Esta formación de agregados fue muy similar a la producción de FeNps mediante *Lawsonia inermis* realizada por Nassem y Akhyar (2015).

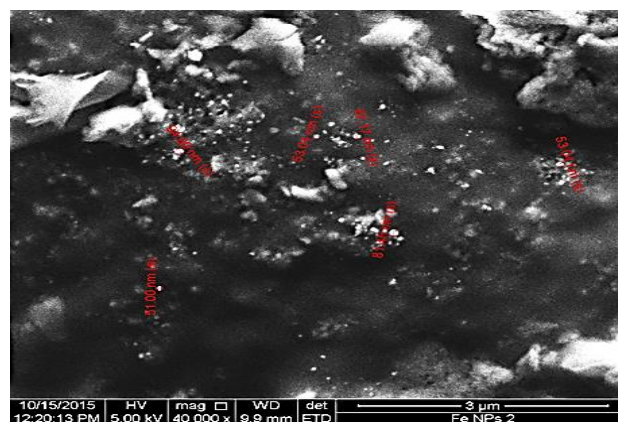


Figura 2 Microscopía electrónica de barrido de nanopartículas de Fe con aumento a 40,000 x y 5.00 kV (HV: Alto voltaje, kV: kilovoltios, Mag: Magnificación, WD: Distancia de trabajo, µm: micrómetros)

Análisis químico proximal

La solución de FeNps se adicionó a la harina de maíz nixtamalizado. Los resultados del análisis químico proximal de la tortilla (Tabla 1) mostraron un incremento en el contenido de minerales en la tortilla fortificada con FeNps.

El consumo de tres tortillas aportará 9 mg de Fe, mientras que la Ingesta Diaria Recomendada es de 15 mg de Fe para niños.

Macronutriente	Tortillas de maíz con FeNps	Tortillas de maíz sin fortificar
Proteínas (%)	3.9	3.9
Lípidos (%)	1.5	1.5
Carbohidratos (%)	39.6	39.6
Cenizas (%)	2.1	1.6
Fibra cruda (%)	1.2	1.2

Tabla 1 Composición química de tortillas elaboradas con harina de maíz fortificada con FeNps y sin fortificar

Evaluación sensorial y vida útil de tortillas de maíz

Se llevó a cabo la evaluación sensorial de tortillas de maíz fortificadas y tortillas sin fortificar. Las tortillas fortificadas se evaluaron por un panel no entrenado (n=25) mediante una prueba de nivel de agrado, usando una escala hedónica; el 45 % de los evaluadores expresó que las tortillas gustan mucho. Hubo una preferencia mayor hacia las tortillas fortificadas con FeNps en comparación a las tortillas que no las contenían, 11 de los evaluadores indicaron que las tortillas elaboradas con la harina fortificada les gustó mucho, mientras que solo 5 de los panelistas indicaron que les gustó mucho la tortilla con harina sin fortificar. No hubo panelistas que indicaran que las tortillas elaboradas con harina fortificada con FeNps les disgustaran.

La vida útil de las tortillas fortificadas con FeNps (23 días) fue tres veces mayor que la de las tortillas sin fortificar (7 días). La vida útil se evaluó de acuerdo a lo establecido en la NOM-187-SSA1/SCFI-2002, Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan.

Al realizar los análisis microbiológicos se encontró que las tortillas fortificadas con FeNps el proceso de crecimiento de microorganismos era más lento, encontrándose bacterias hasta el día 11 y superando el límite establecido por la norma (<30 UFC/g) hasta el día 23, mientras que la tortilla sin fortificar tuvo un periodo de vida de 7 días y un crecimiento de microorganismos más rápido (Gráfico 2).

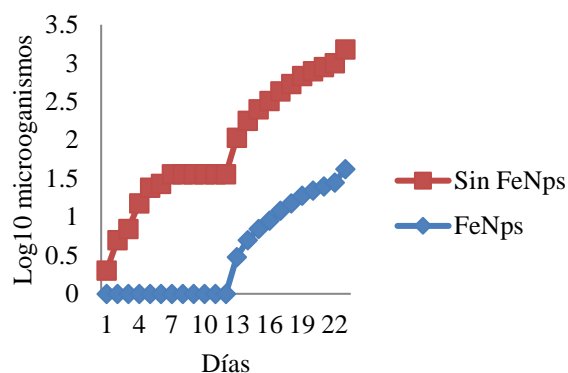


Gráfico 2 Crecimiento de coliformes totales en tortillas fortificadas con FeNps y tortillas sin fortificar

Conclusiones

Al adicionar FeNps sintetizadas con extracto de *M. oleífera* a la harina de maíz nixtamalizado se incrementó el contenido de minerales en la tortilla, además de que se extendió su vida útil. Aunque faltan estudios por realizar, los resultados obtenidos en este trabajo constituyen un punto de partida para la implementación de políticas públicas para la fortificación de alimentos.

Referencias

AOAC (2012). Official Methods of Analysis of AOAC International (Décimo novena ed.). AOAC International.

Carrillo Inungaray, M. L., & Zavala Cuevas, D. (2012). Gestión de la calidad en el área química biológica. Porrúa Personal Print.

CARRILLO, María, TREJO, Jorge, REYES, Abigail y ZAVALA, Diana. Fortificación de harina de maíz con nanopartículas de hierro sintetizadas con extracto de moringa (*Moringa oleífera*). Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias. 2016

De la Cruz G, V., Villalpando, S., Mundo Rosas, V., & Shamah Levy, T. (2013). Prevalencia de anemia en niños y adolescentes mexicanos: comparativo de tres encuestas nacionales. *Salud pública de México*, 55(2).

Diario Oficial de la Federación. (2010). NOM-051-SCFI/SSA1-2010, especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados. México.

Eltayeb M, A. (2015). Green synthesis, antimicrobial and cytotoxic effects of silver nanoparticles mediated by *Eucalyptus camaldulensis* leaf extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 382-386.

Ledesma S, J. A., Chávez V, A., Pérez G, R. F., Mendoza Martínez, E., & Calvo Carrillo, C. (2010). *Composición de Alimentos (Segunda ed.)*. México: McGraw-Hill.

Martín, C., Martín, G., García, A., Fernández, T., Hernández, E., & Puls, J. (2013). Potenciales aplicaciones de *Moringa Oleifera*. Una revisión crítica. *Pastos y forrajes*, 36, 137-149.

Naseem, T., & Akhyar F, M. (2015). Antibacterial Activity of Green Synthesis of Iron Nanoparticles Using *Lawsonia inermis* and *Gardenia jasminoides* Leaves Extract. *Journal of Chemistry*.

Organización Mundial de la Salud. (2012). Strategic approach to operationalizing selected end decade goals: reduction of iron deficiency anemia. Ginebra.

Roy, K., Sarkar C, K., & Ghosh C, K. (2015). Single-step novel biosynthesis of silver nanoparticles using *Cucumis sativus* fruit extract and study of its photocatalytic and antibacterial activity. *Digest Journal of Nanomaterial and Biostructures*, 10(1), 107-115.

Soto Chilaca, G., & López Malo, A. (2011). Nanotecnología en alimentos. *Temas selectos de Ingeniería en Alimentos*, 11-21.

Syed, B., Devaraju, R., Kumara S, K., Parthasarathy, S., Holalu U, K., Yashavantha, R., & Sreedharamurthy, S. (2013). Plants: Emerging as Nanofactories towards Facile Route in Synthesis of Nanoparticles. *BioImpacts*, 3(3), 111-117.

Ullah, N., Li, D., Xiandong, S., Yasin, S., Muhammed U, M., Van E, S. S., & Wei, Q. (2015). Photo-irradiation based biosynthesis of silver nanoparticles by using an ever green shrub and its antibacterial study. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 10(1), 95-105.