

Evaluación de la toxicidad de pigmentos de *Helianthus annuus* y *Comarostaphylis polifolia*: una perspectiva al etiquetado de alimentos.

Magdalena Díaz-Cruz¹, Jorge Emmanuel Mejía-Benavides², Carlos J. Cortés-García³,

Erik Díaz-Cervantes^{1*}

¹Departamento de alimentos, Centro Interdisciplinario del Noreste de la Universidad de Guanajuato, C.P.37975. Tierra Blanca, Guanajuato. * m.diazcruz@ugto.mx.

²Departamento de Enfermería y Obstetricia, Centro Interdisciplinario del Noreste de la Universidad de Guanajuato, C.P.37975. Tierra Blanca, Guanajuato.

³Laboratorio de Diseño Molecular, Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 58033 Morelia, Michoacán, Mexico

RESUMEN

Los principales componentes de las tintas son los colorantes y pigmentos, siendo estos últimos de mayor tamaño molecular, por lo tanto, son ideales para elaborar tintas de baja migración de partículas, para etiquetas. Dichos pigmentos, tienden a ser más eficaces, debido a que resisten a los factores externos en mayor proporción respecto a las tintas de colorantes. Las tintas más utilizadas para el impreso de etiquetas son base solvente, base agua y UV. Las tintas pigmentadas tienen mayor resistencia a los rayos ultravioleta y a todos los factores como alta temperatura y humedad, principalmente.

En el presente trabajo se realizó la evaluación de la migración de partículas o evaluación toxicológica de los componentes de una propuesta de tinta, basada en extractos *Helianthus annuus* y *Comarostaphylis polifolia*; lo anterior a partir de *docking* molecular utilizando el *Molegro Virtual Docker*, acoplando pigmentos, resina o monómeros en un fragmento del citocromo p450, para saber la posible reacción de las mismas en el organismo, pudiendo evaluar de manera implícita la toxicidad de estas. Se obtuvieron las interacciones de las energías entre los ligandos y la cavidad seleccionada de la enzima. Todas las poses se acoplaron en el sitio activo de la enzima. Se obtuvieron las eficiencias del ligando (LEs).

Palabras clave: Toxicidad, pigmentos, *H. annuus*, *C. polifolia*, *docking*, tintas.

Key words: Toxicity, pigments, *H. annuus*, *C. polifolia*, *docking*, inks.

INTRODUCCIÓN

En la industria de alimentos son de gran importancia los empaques, debido a que estos protegen los alimentos de la degradación por factores externos como temperatura, humedad y agentes contaminantes. La migración de sustancias del empaque hacia el alimento es un fenómeno de transferencia de masa que se produce por la difusión y convección. Los alimentos con alto contenido de ácidos grasos ponen en contacto los esterios en la parte superficial y esos migran hacia el material de empaque y hay migración de los componentes de las tintas (Avendaño et al., 2018). Los alimentos empacados que contienen etiqueta con impresión sobre el material de empaque regularmente son por impresión en off-set flexografía o huecograbado. Es importante que se utilice el material de empaque compatible con el tipo de tintas, además de que estas sean de grado alimenticio para evitar la transferencia de sustancias del etiquetado y tinta impresa al alimento (Pochteca, 2016).

La migración de compuestos de las tintas en los envases y siendo importantes las impresiones tipo set-off, esto puede provocar alteraciones en la inocuidad de los alimentos. La migración de compuestos químicos de los envases transfiere las partículas por proceso submicroscópico de transferencia de masa a causa de la tendencia al equilibrio en el sistema (Peiro, 2018).

En general, las tintas poseen una fase sólida y una líquida. La fase sólida es discontinua y la forman los pigmentos, mientras que la líquida es correspondiente a una fase continua más o menos viscosa, llamada vehículo, barniz o aglutinante. Las principales propiedades de las tintas son dadas por cualidades como: La viscosidad, el color, la intensidad, la tonalidad, brillo, poder cubriente, limpieza del tono (Vite, 2018).

Propiedades reológicas como: viscosidad, resistencia, tack y el secado de la tinta

Las tintas más empleadas son:

- Base solvente
- Base Agua
- UV

Tintas base solvente

El solvente es a base de alcohol y se compone de resinas naturales o sintéticas. Las más utilizadas poliamidas, la nitrocelulosa y poliuretano; plastificantes, aditivos, solventes, pigmentos y dispersantes.

Tintas base acuosa

Se formulan a partir de resinas o barniz, se emplean acrílicas hidrosolubles.

Tintas UV

Empleo de un tipo de tintas que se secan mediante radiación ultravioleta. Las resinas empleadas son derivados acrílicos de alta viscosidad. Con este tipo de tintas no se desprenden compuestos volátiles orgánicos, y estas tintas se pueden imprimir en madera, vidrio y aluminio también (Vite, 2018).

En la tinta flexográfica que es un proceso de impresión empleado para diferentes sustratos de embalaje como cartón, papel y plástico. Las tintas se han mejorado continuamente, desde su MP, solventes y componentes, hasta su toxicidad. Para generar tintas más amigables con el medio ambiente se ha recurrido a tintas vegetales con bajo color, no metales pesados y baja migración de partículas (Avendaño et al., & Vite, 2018).

Las tintas de colorantes se componen de pigmentos solubles en agua, que pueden ser de origen natural (pigmentos de plantas) o de origen sintético (químicos o de materia inerte). Las tintas pigmentadas las cuales contienen pigmentos (moléculas de origen orgánico) encapsulados en una resina sintética y a continuación situados en suspensión en un líquido. Las moléculas de estos pigmentos son mucho más grandes que las de los colorantes. Esta es la denominación para el tipo de tintas de origen natural a partir de los extractos de pigmentos de flores y frutos. Entonces la tinta pigmentada genera una capa encima del sustrato y de esta manera es como trabaja este tipo de tintas, además de que este tipo de tintas soportan los rayos V y son más eficaces son resistentes al agua (Bilbink, 2020).

H. annuus conocido como girasol, su fruto tiene forma ovoide; esta semilla se forma a partir del pericarpio que encierra la almendra el pericarpio cáscara se compone por la epidermis, corcho y células esclerenquimáticas. Las células esclerenquima segregan sustancias de coloración negra que tienen alrededor del 76% de hidratos de carbono. Ya esto funciona como un medio de defensa ante la

polilla del girasol contiene flavonoides (Méndez, 2019). El color exterior del pericarpio es entre blanco gris negro marrón y el porcentaje de cáscara o fila en 3 de 40 al 20% (Rocca et al., 2017).

Comarostaphylis polifolia es también llamado como madroño o pingüica negra, es un arbusto que se caracteriza por un fruto que en realidad son inflorescencias que se concentran en unidades de 0.4 a 0.8 cm de largo y de 0.4 a 0.9 cm de diámetro, de color rojo en la etapa inmadura y púrpura oscuro o negro al madurar completamente y de acuerdo con otro tipo de frutos que sí han sido investigados este puede contener pigmentos como antocianinas. El madroño negro florece durante todo el año, pero su principal producción es de abril a octubre y fructifica entre junio y noviembre (González & González., 2014).

Los biactivos pigmentados de *Helianthus annuus* y *Comarostaphylis polifolia* se desaprovechan en la industria y en el campo. Por lo tanto, en el presente trabajo se plantea el futuro aprovechamiento para la extracción de pigmentos y formular tintas de baja migración de partículas. Al generar una tinta de grado alimentario para empaque y etiquetas de alimentos, caracterizándola para que cumpla con la mínima migración de partículas hacia el alimento por factores extrínsecos e intrínsecos y así evitar daños a la salud por ingesta de partículas ajenas al alimento como metales pesados, resinas, adhesivos y tintas.

Previo a dicho planteamiento, es necesario realizar la evaluación de la toxicidad de dichos componentes pigmentados, lo cual se realizará a partir de *docking* molecular de los componentes de la tinta; considerando que, si estos se unen al blanco (Citocromo p450), el cual actúa en el organismo como agente desintoxicante, metabolizante de fármacos y venenos con ayuda del oxígeno (Williams et al., 2004).

El citocromo P450 elimina xenobióticos por medio de biotransformaciones que aumentan la hidrofilia en molécula para agilizar la excreción. La reacción se da en 2 fases en la primera modifica el xenobiótico por oxidación, reducción o hidrólisis polarizando los grupos de la molécula. en la segunda fase el sustrato que puede ser un xenobiótico o un metabolito de la reacción de la primera fase se combina con un endógeno y esto eficiente el transporte hasta su excreción. El citocromo se distribuye en los tejidos del organismo por las funciones que estos ejecutan. se encuentran principalmente en tejidos extrae hepáticos (Gallegos et al., 2011).

Los ligandos seleccionados fueron: monómero DPGDA que presenta baja volatilidad y la resina colofonia de extracción de pino que se emplea ampliamente en formulación de tintas de impresión (Telleira et al., 2018 & Alibaba, 2021).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se buscaron en la literatura los principales componentes fitoquímicos de extractos de las plantas de interés, *Helianthus annuus* y *Comarostaphylis polifolia*, y su estructura química. De las estructuras encontradas en los pigmentos de *Comarostaphylis polifolia* y *Helianthus annuus*, se generaron sus estructuras y se modelaron, para posteriormente realizar acoplamiento moleculares a través del programa *Molegro Virtual Docker* y así, reproducir la interacción de los componentes de la tinta (pigmentos, resinas y monómeros) (Bitencourt-Ferreira & de Azevedo, 2019). Para la evaluación de la migración de partículas se utilizó como blanco el Citocromo p450 código PDB:1W0G (Williams et al., 2004).

El acoplamiento de los ligandos (delfinidina, cianidina, ácido fenólico, monómero DPGDA y la resina colofonia) con el blanco se ejecutó por combinaciones distintas dockeando en la cavidad 1 de vol=385 Å.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del *docking* fueron interesantes, pues se esperaba que la interacción Enzima-Pigmentos fuera mejor, pero hubo mejor eficiencia del ligando entre enzima-monómero (**ver Tabla 1**).

	Molécula	E	Hbond	Electro	VdW	LE
	E_M	-110.05	-2.00	-0.79	-0.02	-6.47
	E_M_R	-97.48	-3.03	-0.34	-9.97	-4.64
A	_E_M_R_P	-61.64	-3.25	-1.30	-1.24	-6.84
C		-120.34	-5.51	-1.26	-4.97	-5.73
D		-102.49	-10.72	-0.97	126.56	-4.65
	E_R	-99.34	0.00	0.03	-10.01	-4.73
	E_R_M	-118.12	0.00	0.35	-0.49	-6.94
A	_E_M_R_P	-70.04	-2.19	0.00	-9.05	-7.78
C		-123.83	-6.57	-1.07	-3.85	-5.89
D		-67.39	-5.25	0.64	225.51	-3.06

Tabla 1. Principales interacciones entre los ligandos modelados y la enzima Citocromo p450. Interacción toxicológica blanco ligando. E=enzima, M=Monómero DPGDA, R= resina colofonia, P=pigmentos de los cuales C=Cianidina, D=Delfinidina y A=Ácido fenólico.

De acuerdo con los valores de LE, hay mejor acoplamiento de la enzima con el monómero, en comparación con la interacción enzima-resina (E-R). No se considera como el mejor acoplamiento el de pigmentos con la enzima y que la proporción de pigmento es mínima respecto al monómero o la resina (**ver tabla 1**).

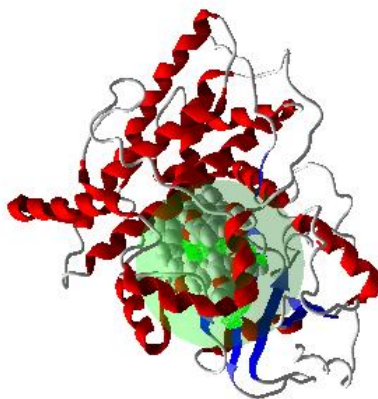


Fig. 1. *Docking* enzima-resina

Sobre la enzima citocromo p450 en la cavidad de mayor volumen se acoplaron los pigmentos (cianidina, delphinidina, ácido fenólico), la resina y el monómero. De los cuales, resultó que, es más eficiente el ligando cuando se une a la enzima directamente con la resina y posteriormente los demás componentes (**Fig. 1**). La eficiencia del ligando E_R_M es eficiente con -6.94 kcal/mol y para solo E_R solo es de -4.73 kcal/mol.

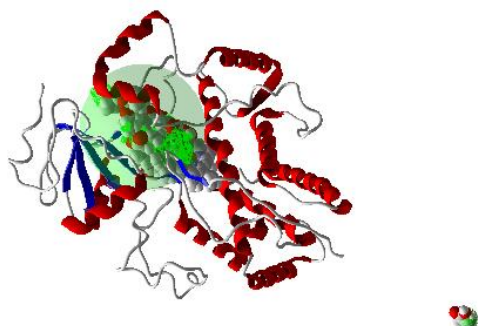


Fig. 2. Docking enzima-monómero-resina-pigmento.

Sobre la enzima citocromo p450 en la cavidad de mayor volumen se encuentran unidos los pigmentos (cianidina y delphinidina), la resina y monómero. El ácido fenólico está fuera de la cavidad de la enzima (**Fig. 2**). La eficiencia del ligando es mejor cuando la unión es entre E_M_R_P cuando el pigmento es el ácido fenólico.

CONCLUSIÓN

La enzima p450 se acopla con fármacos y venenos, actuando como defensa ante sustancias químicas del organismo. En el presente trabajo, los pigmentos, resina y monómero se acoplaron a la enzima de manera eficiente, por lo tanto, esto puede indicar que la enzima seleccionada puede co-adyuvar en la detoxificación de los mismos. De lo anterior, se concluye que, se acopla mejor el monómero a la enzima que los propios pigmentos.

BIBLIOGRAFÍA

- Avendaño, E. A., Castillo, E., Sinuco, D. C., Avendaño, E., Castillo, E., & Sinuco, D. (2018). Ensayo de migración global en empaques para alimentos: evaluación de patrones internos alternativos. *Revista Colombiana de Química*, 47(1), 34–40. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v47n1.63859>
- Barragán, M., Aro, J. M., Muñoz, A. E., & Rodríguez, J. (2020). Determinación de antocianinas y capacidad antioxidante en extractos de (*Muehlenbeckia volcánica*). *Rev. de Investigaciones Altoandinas*, 22, 161–169.
- Bilbink. (2020). *Diferencia entre tinta colorante y pigmentada*.
- Bitencourt-Ferreira, G & de Azevedo, W.F. Jr. (2019). Molegro Virtual Docker for Docking. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 149-167. doi:https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9752-7_10

- Gallego, A. , Sande, M. A., Marín, A. M., Blanco, S., & González, M. (2011). *Aspectos fundamentales del Citocromo P450* (F. Bandrés, Ed.).
- González, M. S., & González, M. (2014). *Flora del bajío y de regiones adyacentes* (Instituto de Ecología, Ed.).
- Méndez, L. Esperanza. (2019). *Experimentación con colorantes naturales en seda potosina y su posible uso en textiles de Santa María del Río, S.L.P.*
- Peiro, T. (2018). *Determinación de la migración set-off de tinta en vasos de cartón de uso en máquinas expendedoras de café.*
- Pochteca, P. (2016). *Materiales y tintas para empaques alimenticio.*
- Portalfrutícola. (2018). *Los colores de las plantas: en frutos, flores y semillas.*
- Rocca, P., Martino, L., Rausch, A., & Zuil, S. G. (2017). Variabilidad genotípica y ambiental del peso, tamaño y aceite del grano de girasol (*Helianthus annuus* L.) en el Noreste argentino. *Agrotecnia* , 26, 5–16.
- Telleira, N., Villanueva, S., & Henriquez, M. (2018). Estudio de tendencia: Aplicaciones de la Colofonia y sus derivados. *Rev. Ing. UC*, 25.
- Vite, J. C. (2018). *Obtención de Tintas Flexo Screen, para impresión de forma artesanal en fundas de polietileno, a partir de Tintas Flexográficas Base Solvente.*
- Williams, P. A., Cosme, J., Vinkovic, D. M., Ward, A., Angove, H. C., Day, P. J., Vornrhein, C., Tickle, I. J., & Jhoti, H. (2004). 1W0e Crystal structure of human cytochrome P450 3A4. In *RCSB PDB*.