

Propriedades de Nanopartículas de Quitosana Contendo Ácido Linoleico como Modelo para a Estabilização de Compostos Lipossolúveis

Dirliane Santo Duarte¹; Nataniel Franklin de Melo², Douglas de Britto³

Resumo

A preservação e estabilização de compostos lipossolúveis nutracêuticos, e. g., ômega-3 e ômega-6, em meio aquoso é um desafio e tem gerado diversos estudos. Uma das possibilidades para se obter tais suspensões estáveis é por meio da formação de nanopartículas de quitosana. Assim, tomando o ácido linoleico como modelo, este trabalho teve como objetivo identificar condições de encapsulamento que permitam estabilizar, preservar e proteger esses compostos lipossolúveis. Para isso, foram realizados cinco encapsulamentos, com diferentes proporções de surfactante (Tween-80) e tripolifosfato. Foram avaliados, também, dois tipos de soluções ácidas aquosas (HCl e acético) para solubilizar a quitosana a 0,1% (v/v). Os parâmetros para a determinação da suspensão mais estável foram tamanho de partículas, eficiência de encapsulamento, turbidez, estabilidade das fases (temperatura ambiente e a 10 °C) e morfologia. Verificou-se que a melhor condição para a preparação das NP foi a que continha 100 mg de surfactante. Quanto ao tripolifosfato, a melhor condição foi obtida com 20 mg e 15 mg em meio ácido acético e HCl, respectivamente.

Palavras-chave: encapsulamento, ácido linoleico, estabilidade.

¹Estudante de Licenciatura em Química, IF Sertão PE, Petrolina, Estagiária Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

²Biólogo, D. Sc. em Ciências Biológicas, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, Nataniel.melo@embrapa.br.

³Químico, D. Sc. em Química, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, douglas.britto@embrapa.br.

Introdução

Nanopartículas de materiais poliméricos têm atraído a atenção especialmente das indústrias farmacêuticas, cosméticas e alimentícias por causa das suas características funcionais. Nanopartículas vêm sendo utilizadas para encapsular e proteger compostos bioativos, preservando suas propriedades frente à exposição de agentes externos como a luz e o calor durante sua manipulação (MORADI et al., 2012).

Os ácidos graxos poli-insaturados são suscetíveis à oxidação durante o processamento e armazenamento, resultando em diminuição do valor nutricional e da qualidade sensorial. Desta forma, a encapsulação é uma alternativa para minimizar essas perdas (GOKMEN et al., 2011).

Por causa do seu caráter hidrofóbico, os ácidos graxos são frequentemente encapsulados por um agente encapsulante como os polissacarídeos, com o auxílio de um surfactante, formando assim uma nanoemulsão. Essas nanoemulsões são caracterizadas por micelas na faixa de nanômetros (SOLANS et al., 2005). Têm aplicações potenciais em áreas como agroindústria, solubilizando pesticidas (WANG et al., 2007) e alimentícia, encapsulando óleos essenciais com atividades antimicrobianas (DONSI et al., 2012).

Este trabalho teve como objetivo identificar condições de encapsulamento que permitam estabilizar e preservar compostos lipossolúveis como ômega-3 e ômega-6 em nanopartículas de quitosana, tomando o ácido linoleico como modelo.

Material e Métodos

A síntese das nanopartículas (NP) seguiu metodologia de Moura et al. (2011). Para isso, foram preparadas previamente soluções de quitosana a 3,0 mg/mL em meio ácido aquoso (HCl e acético, HAc) a 0,1% (v/v). Após a dissolução da quitosana, foi adicionado o

surfactante Tween 80, que variou, conforme se observa na Tabela 1. Posteriormente, 80 mg de ácido linoleico (AL) foi dissolvido em 4,0 mL de ciclohexano e adicionado à solução de quitosana pelo processo de emulsão, utilizando-se um homogeneizador a 12.000 r.p.m. Em seguida, as NP foram formadas pela adição do reticulante tripolifosfato de sódio, TPP (Tabela 1).

A suspensão de NP foi analisada quanto ao tamanho de partícula, à variação de turbidez por espectroscopia no UV-visível, com diluição de 1:4 em água, por 7 dias, em temperaturas ambiente e 10 °C e morfologia em microscópio óptico.

A eficiência de encapsulamento (EE) foi determinada centrifugando-se a suspensão de NP (20.000 r.p.m., 20 minutos, 8 °C) e o sobrenadante diluído em etanol (1:4) e quantificado por espectroscopia no UV-visível.

Tabela 1. Quantidade de surfactante Tween 80 e TPP utilizado a cada suspensão.

Amostras	Surfactante (mg)		TPP (mg)	
	HAc	HCl	HAc	HCl
1	100	100	30	30
2	150	100	20	30
3	200	200	20	20
4	50	50	20	20
5	100	100	15	20

Resultados e Discussão

A análise de tamanho mostrou distribuição de partículas em torno de .1000 nm. De um lado, para as NP sintetizadas a partir de solução de quitosana em HCl a distribuição foi bem heterogênea, com tamanhos variando de 100 nm a 3.000 nm. Por outro lado, para o HAc, as NP tiveram uma faixa de distribuição mais estreita entre 2.000 nm e 3.000 nm.

Foi possível observar que a amostra 3, obtida com 200 mg de surfactante e 30 mg de TPP, apresentou a maior concentração

de AL no sobrenadante, indicando, portanto, baixa eficiência de encapsulamento. As amostras 1 e 2 apresentaram valores de EE mais altos, porém, foram instáveis, por causa da formação de duas fases e precipitado após 48 horas (Tabela 2).

As amostras 4 e 5, embora apresentando um valor de EE ligeiramente inferior, permaneceram bem mais estáveis, principalmente para as amostras em HCl. Esses resultados indicam que quantidades mais baixas de surfactante (~ 100 mg) e TPP (15-20 mg) são ideais para a obtenção de NP de quitosana encapsulada com AL. Dessa forma, a condição 5 é a mais indicada para a aplicação futura.

Tabela 2. Concentração de ácido linoleico (AL) e eficiência de encapsulamento das amostras (EE).

Amostras	Conc. AL (mg/mL)		EE (%)	
	HAc	HCl	HAc	HCl
1	0,20	0,10	75,1	87,5
2	0,20	0,13	75,1	83,4
3	0,29	0,31	64,7	61,4
4	0,21	0,27	74,2	65,7
5	0,23	0,23	70,8	71,1

Ao analisar a turbidez da suspensão, foi observada a formação de precipitado ao longo de 5 dias (Figura 1). Observa-se que no tempo zero, tanto para as amostras em HCl (HCl_OD) como em HAc (HAc_OD), a transmitância ficou próxima de 0, ou seja, as suspensões estavam mais dispersas, logo a turbidez foi maior. No entanto, ao longo do tempo de avaliação a transmitância tendeu a 100%, indicando que as NP se aglomeraram, tornando-se maiores e causando a diminuição da turbidez.

Comparando-se as Figuras 1a e 1b, observa-se que as amostras preparadas com HAc e HCl armazenadas a 10 °C foram mais estáveis do que aquelas em temperatura ambiente (TA), pois apresentaram a maior percentagem de transmitância ao final do tempo de análise.

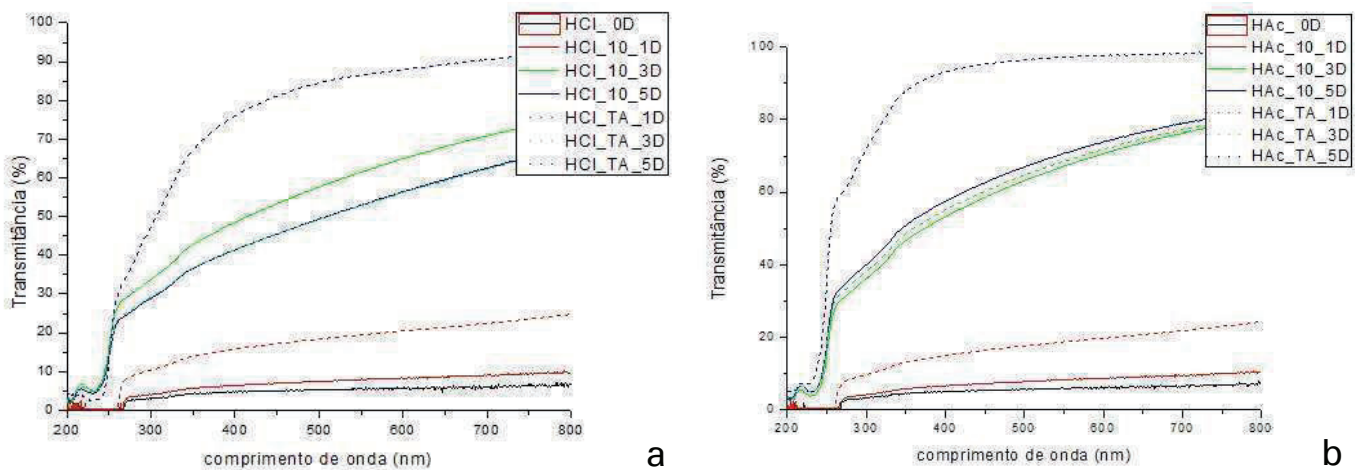


Figura 1. Variação da transmitância indicativa de turbidez das suspensões de NP com AL obtidas em meio (a) HCl e (b) ácido acético, armazenados em temperatura ambiente (TA) e a 10 °C durante 5 dias (5D).

As suspensões contendo AL encapsulado tendem a formar duas fases tanto em temperatura ambiente, quanto a 10 °C. No início, a suspensão apresentou aparência leitosa, mas ao longo do tempo se dividiu em uma parte menos densa, com aspecto opaco e coloração branca e outra mais densa de aspecto mais transparente (Figura 2).

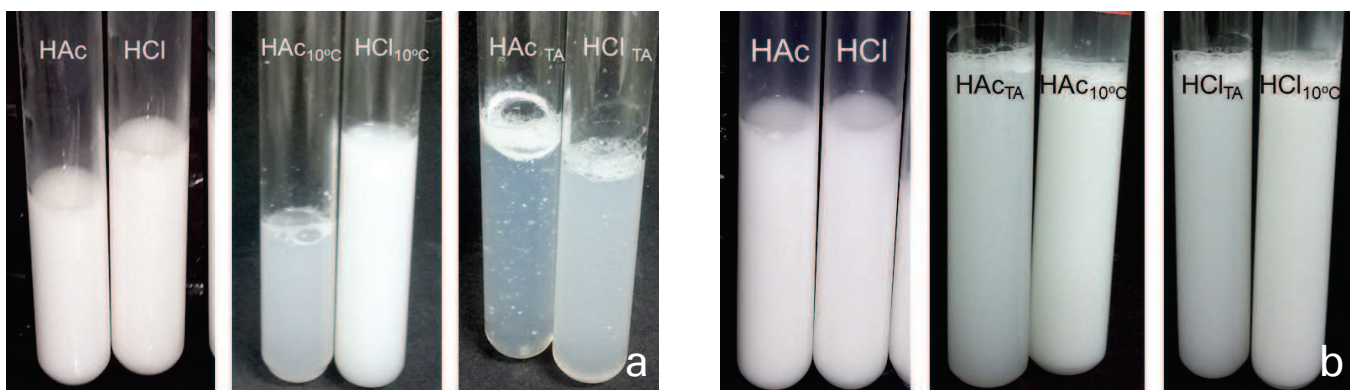


Figura 2. Aspectos das amostras 4 (a) e 5 (b) armazenadas por 20 dias a 10 °C e ambiente (TA).

Quanto ao aspecto visual, as amostras 1 a 4 tiveram comportamentos semelhantes. No geral, formou-se precipitado ao longo do tempo de armazenagem, sendo mais estáveis a 10 °C. Em exemplo típico, para a amostra 4 (Figura 2a), observa-se que em meio HCl armazenada por 20 dias a 10 °C a amostra permaneceu estável (HCl10 °C), possuindo semelhança com a suspensão inicial, mas se desestabilizou, formando duas fases quando armazenada em temperatura ambiente (HCITA). Para

o HAc, nessa condição, a formação de fases ocorreu mesmo quando armazenada a 10 °C (HAc10°C), sendo a formação de fases mais intensa em temperatura ambiente (HAcTA).

Para a amostra 5 (Figura 2b), praticamente não se observou essas transformações quando armazenadas por 20 dias em temperatura ambiente e a 10 °C. Assim, essa condição parece ser a mais adequada para o encapsulamento de AL.

Ao analisar as imagens das suspensões de NP depositadas em lâminas de vidro, verificou-se que houve formação de NP na ordem de nanômetros. No entanto, apresentando diferenças entre as amostras em HAc e HCl (Figura 3). No geral, as NP em HCl apresentaram tamanho menores do que a suspensão de HAc.

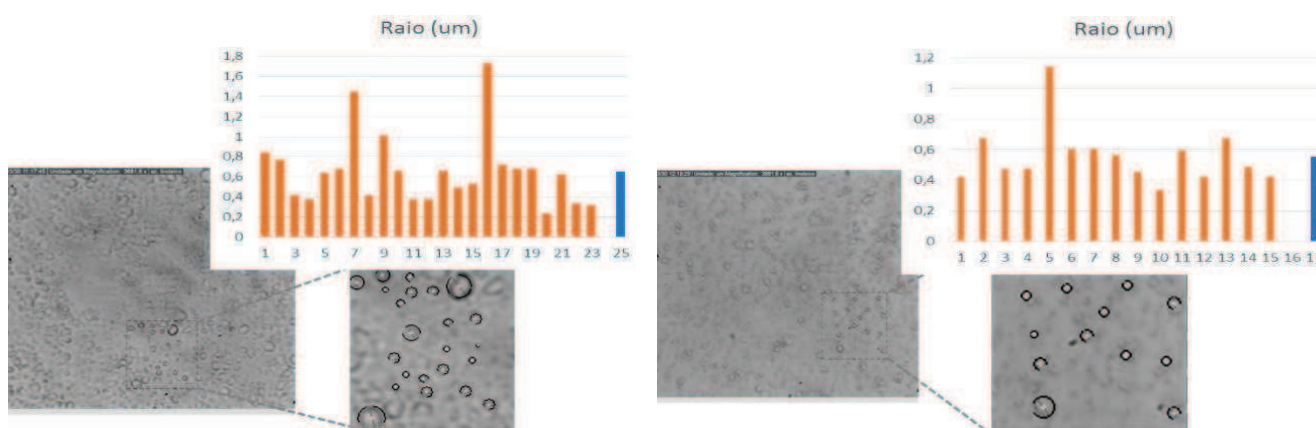


Figura 3. Imagem em microscopia óptica de NP depositadas em lâminas de vidros para (a) HAc e (b) HCl. No detalhe, distribuição do tamanho de partículas.

Conclusão

A quantidade de surfactante e TPP têm influência significativa na estabilidade das suspensões. A melhor condição para que as suspensões de nanopartículas encapsulada com ácido linoleico se mantivessem estáveis por maior intervalo de tempo foi obtida com 100 mg de surfactante e a menores quantidade de TPP (15 mg para o HCl e 20 mg de HAc). Estes resultados fornecem subsídios para estudos futuros com compostos lipofílicos mais complexos como ômega-3, ômega-6 ou óleos nutracêuticos.

Agradecimentos

À Rede AgroNano, ao Laboratório Pós-colheita (CPATSA) e Adriana C. Thomazi (CNPDIA).

Referências

DONSI, F.; ANNUNZIATA, M.; VINCENSI, M.; FERRARI, G. Design of nanoemulsion-based delivery systems of natural antimicrobials: Effect of the emulsifier. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 159, p. 342-350, 2012.

GOKMEN, V.; MOGOL, B. A.; LUMAGA, R. B.; FOGLIANO, V.; KAPLUN, Z.; SHIMONI, E. Development of functional bread containing nanoencapsulated omega-3 fatty acids. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 105, n. 4, p. 585-591, 2011.

MORADI, M.; TAJIK, H.; ROHANI, S.M.R.; OROMIEHIE, A.R.; MALEKINEJAD, H.; ALIAKBARLU, J.; HADIAN, M. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. **LWT - Food Science and Technology**, Oxford, v. 46, n. 2, p. 477-484, 2012.

MOURA, R. S.; PIRES, K. M. P.; FERREIRA, T. S.; LOPES, A. A.; NESI, R. T.; RESENDE, A. C.; SOUSA, P. J. C.; SILVA, A. J. R.; PORTO, L.C.; VALENCA, S. S. Addition of açai (*Euterpe oleracea*) to cigarettes has a protective effect against emphysema in mice. **Food and Chemical Toxicology**, Amsterdam, v. 49, p. 855-863, 2011.

SOLANS, C.; IZQUIERDO, P.; NOLLA, J.; AZEMAR, N.; GARCIA-CELMA, M. J. Nanoemulsions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, [Amsterdam], v. 10, p. 102-110, 2005.

WANG, L.; LI, X.; ZHANG, G.; DONG, J.; EASTOE, J. Oil in water nanoemulsions for pesticide formulations. **Journal of Colloid and Interface Science**, Oxford, v. 314, n. 1, p. 230-235, 2007.