

ISSN - 2175.8395



Anais do VIII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio

2014

Editores:
Luiz Henrique Capparelli Mattoso
Caue Ribeiro de Oliveira
Humberto de Mello Brandão
Marlene de Barros Coelho
Daniel Souza Corrêa
Maria Alice Martins

Embrapa

9. Cork, A.; De Souza, K.; Hall, D. R.; Jones, O. T.; Casagrande, E.; Krishnaiah, K.; Syed, Z., *Crop Protection* 27, 248 2008.
10. Vacas, S.; Alfaro, C.; Navarro-Llopis, V.; Zarzo, M.; Primo, J., *Journal of Economic Entomology* 102, 1094 2009.

PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS DAS NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA ENCAPSULADAS COM CLOREXIDINA

Isaque Jerônimo Porto¹, Allan Reis Albuquerque², Roberta Ferreti Bonan², Eliton Souto Medeiros¹, Luiz Henrique Capparelli Mattoso³, *Juliano E. Oliveira^{1*}

¹Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Engenharia de Materiais, PB. ²Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Odontologia, PB. ³Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, São Carlos, SP.
*juliano.materiais@gmail.com

Classificação: Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

Resumo

Os sistemas de liberação controlada têm como objetivo a manutenção da concentração de um fármaco no organismo em níveis terapêuticos por maiores períodos de tempo, maior biodisponibilidade e menor toxicidade da droga utilizada, tendo como consequência a redução dos efeitos colaterais. O desenvolvimento de sistemas carreadores de fármacos a partir de nanopartículas de quitosana possui inúmeras vantagens, pois associam os benefícios de um sistema de liberação controlada as características desejáveis presentes na quitosana tais como biodegradabilidade, biocompatibilidade e propriedades anti-inflamatórias. Neste trabalho objetiva-se analisar a influência da incorporação de clorexidina em nanopartículas de quitosana em diferentes concentrações. A síntese nas nanopartículas de quitosana incorporadas com clorexidina foi realizada pelo método de gelatinização ionotrópica e a avaliação microbiológica destas foi realizada medida dos halos de inibição do crescimento de microorganismos por difusão em Agar BHI caldo. As nanopartículas de quitosana incorporadas com clorexidina apresentaram inibição do crescimento de microorganismos. As nanopartículas de quitosana incorporadas com clorexidina podem representar uma alternativa no controle de *Staphylococcus aureus*.

Palavras-chave: Quitosana; Clorexidina; Nanopartículas Biopoliméricas; Encapsulamento, Liberação controlada.

ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF CHITOSAN NANOPARTICLES ENCAPSULATED WITH CHLOREXIDINE

Abstract

The controlled release systems are designed to maintain the concentration of a drug in the body at therapeutic levels for longer periods of time, greater bioavailability and less toxicity of the drug used, resulting in the reduction of side effects. The development of carrier systems for drugs based on chitosan nanoparticles has many advantages, as they associate the benefits of a controlled release system the desirable characteristics present in chitosan such as biodegradability, biocompatibility and anti-inflammatory properties. This work aims to analyze the influence of the incorporation of chlorhexidine into chitosan nanoparticles in different fractions. The nanoparticle synthesis of chitosan and chitosan/chlorhexidine was performed by the ionotropic gelation method and microbiological evaluation of these measurement of inhibition zones was performed the growth of microorganisms by agar diffusion BHI. Nanoparticles of chitosan incorporated chlorhexidine showed inhibition of the growth of microorganisms. The chitosan nanoparticles incorporated with chlorhexidine may be an alternative in the control of *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Chitosan; Clorexidine; Biopolymeric Nanoparticle; Encapsulation, Drug release

1 INTRODUÇÃO

Os sistemas de liberação controlada vêm se destacando pelo aperfeiçoamento da administração de fármacos. Estes possuem dois objetivos principais: manter o nível farmacológico em concentrações terapêuticas no organismo do paciente e redução dos efeitos colaterais, com isso se obtém melhor resposta do medicamento, eleva-se o número de pacientes que aderem ao tratamento e diminuição do número de dosagens [1, 2].

Atualmente vários sistemas de liberação controlada estão disponíveis comercialmente, estes diferem entre si em relação a tamanhos, vias de administração, concentrações, incompatibilidade, entre outros variáveis. Esta é uma consequência do fato de não existir um dispositivo ideal, de forma que para cada substância e concentração é preciso um novo dispositivo [1].

O desenvolvimento de sistemas carreadores de fármaco a partir de quitosana possui inúmeras vantagens, pois associam os benefícios da liberação controlada às características desejáveis presentes na quitosana tais como biodegradabilidade, biocompatibilidade e propriedades antiinflamatórias [2, 3]. Estes se tornam possíveis pelo encapsulamento de fármaco em nanopartículas de quitosana por métodos como o gelatinização ionotrópica [4].

O objetivo deste trabalho foi a síntese de nanopartículas de quitosana com e sem a incorporação de clorexidina pela técnica de gelatinização ionotrópica para avaliação da atividade antibacteriana frente a bactéria *Staphylococcus aureus*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais utilizados para a síntese das nanopartículas de quitosana e quitosana encapsuladas com clorexidina foram: Quitosana (QS) de baixo peso molecular com 75% de desacetilação, Tripolifosfato de sódio (TPP) e Digluconato de Clorexidina (CHX) obtidos através da Sigma Aldrich Chemical Company (USA) e ácido acético obtido através da Vertec (Brasil).

As nanopartículas de quitosana foram sintetizadas pelo método de gelatinização ionotrópica conforme reportado por Moura et al. [4]. O processo consiste na solubilização da quitosana em ácido acético (1%) e do TPP em água destilada. Na sequência as soluções de quitosana são mantidas sob intensa agitação magnética e temperatura ambiente à medida que as soluções de TPP são gotejadas a taxa de 1000 μ L/min. Após o fim do gotejamento as soluções permaneceram em agitação por 15 minutos. Foram preparadas três nanopartículas de clorexidina em concentrações diferentes denominadas de S1, S2 e S3.

A síntese das nanopartículas de quitosana incorporadas com clorexidina foi realizada de maneira similar, porém, após a solubilização da quitosana em ácido acético (1%) e previamente ao gotejamento do TPP, foi adicionada uma solução aquosa de clorexidina a 4% em cada solução de QS de modo que a concentração final do antibiótico na solução foi de 0,12%. As soluções permaneceram sob agitação magnética por 10 min. e em seguida o TPP foi adicionado de modo similar ao processo das nanopartículas de quitosana. Foram preparadas três nanopartículas de clorexidina incorporadas com quitosana em concentrações diferentes denominadas de S4, S5 e S6.

A Tabela 1 apresenta as concentrações de quitosana, TPP e clorexidina utilizadas nas sínteses das nanopartículas de quitosana (S1, S2 e S3) e quitosana com a incorporação de clorexidina (S4, S5 e S6).

Tabela 1. Concentrações utilizadas nas sínteses das nanopartículas de quitosana e quitosana incorporadas com clorexidina

Soluções	Concentração (mg/ml)		
	QS	TPP	CHX
S1	3,38	0,48	0,00
S2	2,42	0,28	0,00
S3	1,65	0,14	0,00
S4	3,28	0,47	0,12
S5	2,35	0,27	0,12
S6	1,60	0,13	0,12

A avaliação microbiológica foi realizada por difusão em Agar BHI. Para o cultivo bacteriano foram diluídos 1000 μL do microorganismo em 7 ml BHI caldo, e armazenados em jarra anaeróbica por 24 horas em estufa bacteriológica a 37°C. Em seguida, os inóculos foram padronizados pela escala McFarland (10^8 células/mL) e semeados em placas de Petri.

O teste foi realizado para as nanopartículas de quitosana com e sem incorporação de clorexidina. Como controle positivo foi utilizado digluconato de clorexidina, na concentração de 2%. Como controles negativos foram utilizados as soluções de ácido acético (1%) e TPP (2%), utilizados na produção das nanopartículas.

Em cada placa de petri foram feitos 6 poços e para cada poço foi colocada uma alíquota de 100 μL de cada solução testada, sendo feito em triplicata. As amostras foram distribuídas nas placas da seguinte maneira: placa 1: S1 e S2, placa 2: S3 e S4, placa 3: S5 e S6 e placa 4: ácido acético, TPP e clorexidina.

Após preenchimento dos poços, as placas foram armazenadas por 24 h em estufa bacteriológica a 37°C. Na sequência a inibição do crescimento bacteriano foi determinada pela medida dos halos de inibição formados ao redor dos poços. O halo foi expresso como a média de 5 determinações \pm o desvio padrão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta os resultados obtidos no ensaio de atividade antimicrobiana por difusão em Agar. Pode-se observar que as amostras de nanopartículas de quitosana (S1, S2 e S3) não apresentam atividade antimicrobiana significativa. As amostras de nanopartículas de quitosana incorporadas com clorexidina (S4, S5 e S6) apresentaram formaram halos de inibição em todas as concentrações estudadas. Dos testes realizados como controle positivo (clorexidina) e controle negativo (ácido acético e TPP), apenas a clorexidina mostrou atividade antimicrobiana

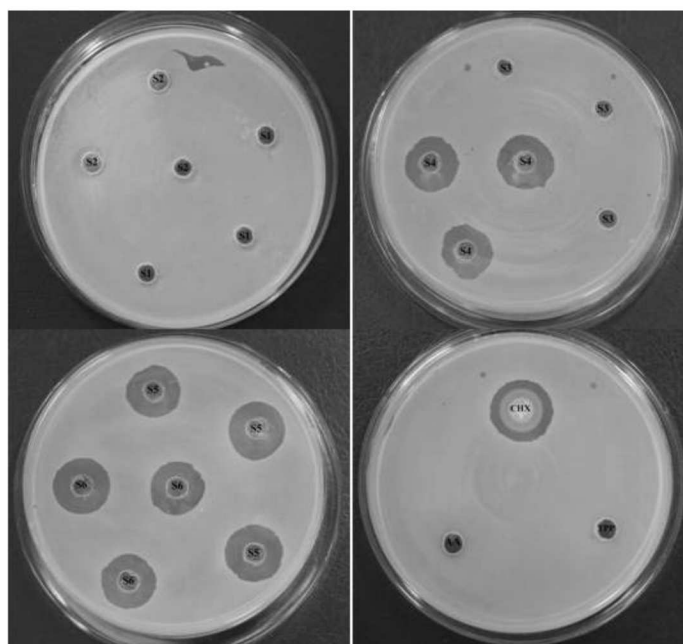


Figura 1. Resultado obtido para ensaio de atividade antimicrobiana para as nanopartículas de quitosana com e sem incorporação de clorexidina e controles positivo e negativo. Siglas (AA-ácido acético, TPP-tripolifosfato, CHX-clorexidina, S-solução de nanopartículas de quitosana)

A medida do diâmetro médio (mm) dos halos de inibição e desvio padrão (mm) obtidos para as amostras S4, S5, S6 e CHX estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Medida dos halos de inibição de S4, S5 e S6

Halo	S4	S5	S6	CHX
Media (mm)	5,10 \pm 0,46	5,56 \pm 0,34	5,19 \pm 0,27	6,5 \pm 0,3

4 CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que as nanopartículas de quitosana estudadas, S1, S2 e S3 não apresentam atividade antimicrobiana. No entanto, as nanopartículas de quitosana incorporadas com clorexidina mostram maior eficiência quando comparadas com o controle positivo, podendo representar uma significativa alternativa no controle de *Staphylococcus aureus*, um importante patógeno humano.

A variação da concentração de quitosana, nos valores estudados, não apresenta alteração significativa na medida dos valores dos halos de inibição.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa, Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio e CNPq (Processo 409955/2013-2).

REFERÊNCIAS

1. Henrique, J.S., R.S. Falcare, and P.S. Lopes, Sistemas de Liberação Controlada. Pharmacia Brasileira, 2006. **56**: p. 22.
2. RUBENS, S.-N., et al., Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e odontológica: revisão de literatura. Revista de Odontologia da UNESP, 2008. **37**(2): p. 155-161.
3. Azevedo, V., et al., Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais. Revista eletrônica de Materiais e processos, 2007. **2**(3): p. 27-34.
4. MOURA Aouada, M.R., Aplicação de nanopartículas em filmes utilizados em embalagens para alimentos. 2009.

HETEROESTRUTURAS DE WO₃:TiO₂ APLICADAS NA FOTODEGRADAÇÃO DE CORANTES

*Oliveira, J.A.¹, Castro, I. A.², Paris, E. C.³, Ribeiro, C.³, Giraldi, T. R.¹, Poirier, G. Y.¹

¹Universidade Federal de Alfenas, Campus Avançado de Poços de Caldas, Poços de Caldas, MG.

²Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. ³Embrapa CNPDIA, São Carlos, SP.

*jessicarianeoliveira@hotmail.com

Classificação: Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

Resumo

Em trabalhos anteriores (OLIVEIRA, 2014), partículas de TiO₂, WO₃ e heteroestruturas de TiO₂:WO₃ foram sintetizadas pelo Método dos Precursores Poliméricos e usadas na fotodegradação do corante Rodamina B (RhB). Diversas composições foram avaliadas e a amostra que teve a maior atividade fotocatalítica foi 50%TiO₂:50%WO₃ (m/m) (W50). Portanto, essa composição foi utilizada no presente estudo para degradar diferentes corantes: RhB, Azul de Metileno e Alaranjado de Metila. As heteroestruturas foram caracterizadas por DRX, BET, FEG, PL. DRX detectou em W50 picos de difração não muito bem definidos, indicando que as partículas são amorfas. Por BET, constatou-se que a maior área superficial foi a de W50 (107.6 m².g⁻¹). Por FEG, verificou-se morfologia mais homogênea em W50. Por PL, W50 demonstrou a menor taxa de recombinação eletrônica. Assim, W50 possivelmente tem a melhor atividade catalítica porque suas partículas apresentam alta área superficial, estrutura amorfa, menor taxa de recombinação eletrônica e formação de heteroestrutura mais eficiente. Os ensaios fotocatalíticos foram realizados na região UVC a temperatura ambiente. Foi observado que a presença dos catalisadores acelera a degradação dos três corantes analisados. Devido aos perfis exponenciais observados para a cinética de degradação dos corantes sob luz UV, pode-se sugerir que a reação é de primeira ordem em relação aos corantes. Logo, conclui-se que W50 é eficiente na fotodegradação de diferentes compostos.

Palavras-chave: TiO₂; WO₃; Heteroestruturas; Fotodegradação; Corantes.