

Otimização da Síntese de Nanopartículas para Encapsulamento de Princípios Ativos Aplicados em Revestimento Pós-colheita

Optimization of the Synthesis of Nanoparticles for Encapsulation of Active Ingredients Applied in Post-harvest Coating

Cristina Barbosa da Silva¹; Arlan de Assis Gonsalves²; Ana Valéria Vieira de Souza³; Douglas de Britto⁴

Resumo

Polissacarídeos, como quitosana, são muito empregados para a obtenção de nanopartículas (NP), mas, a concentração e o tipo de ácido para solubilizar a quitosana pode influenciar na qualidade. Isto também influenciará na eficiência de encapsulação de princípios ativos, *e.g.*, óleo essencial e polifenóis. Assim, para otimizar os parâmetros de síntese de NP, foram feitas análises de condutividade, tamanho de partículas e morfologia em diferentes concentrações de ácido acético e clorídrico (1,0%; 0,5% e 0,1%). Com as análises de condutividade, observou-se que há excesso de ácido na concentração de 1% e isto demanda mais adição de tripolifosfato de sódio (TPP).

¹Química, IF Sertão PE, Petrolina, PE, bolsista de fixação de técnico (Facepe), Petrolina, PE.

²Farmacêutico, D. Sc. em química, pesquisador da Univasf, Petrolina, PE.

³Engenheira-agrônoma, D. Sc. em Horticultura, pesquisadora da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

⁴Químico, D. Sc. em Química, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, douglas.britto@embrapa.br.

NP, com tamanho desejável em torno de 200 nm, podem ser obtida empregando menos ácido (0,1%) e também menor quantidade de TPP.

Palavras-chave: quitosana, casca de uva, óleo essencial.

Introdução

Devido à sua biocompatibilidade, os polissacarídeos têm sido usados como matriz para preparar nanopartículas (NP) e encapsular proteína e diversas classes de materiais de aplicação potencial nas indústrias farmacológica e alimentícia (GEORGE; ABRAHAM, 2006). Particularmente, a quitosana tem sido estudada para a nanoencapsulação de compostos ativos com aplicação direta nas áreas alimentícias (ZHAO et al., 2011) e farmacológica (BAE et al., 2006; GARCIA-FUENTES; ALONSO, 2012) por causa, principalmente, de suas propriedades quelantes e de entrecruzamento.

A síntese de NP pode ser usada também para estabilizar e potencializar princípios ativos como óleos essenciais e polifenóis que apresentam atividade antifúngica muito desejada em revestimento de frutas pós-colheita. Plantas dos gêneros *Lippia* e *Croton* nativas da Caatinga e resíduos agroindustriais de cascas de frutas são alguns exemplos de fontes destes princípios ativos.

A preparação de NP de quitosana e seus derivados para o encapsulamento de substâncias pode ser feita em condições amenas por gelificação iônica, mediante uso de um agente de entrecruzamento como o tripolifosfato de sódio (TPP) (GEORGE; ABRAHAM, 2006).

No entanto, diversos parâmetros, de um lado, podem influenciar a formação das NP, como pH, razão polímero/entrecruzante, concentração etc. Alguns destes parâmetros já foram avaliados (GAN et al., 2005). Por outro lado, outros parâmetros, igualmente importantes, como a concentração do ácido e o tipo de ânion ácido ainda precisam ser avaliados. Assim, a influência destes parâmetros na formação das NP foi avaliada neste trabalho.

Material e Métodos

Para determinação da quantidade de ácido em excesso na solução de quitosana, foram preparadas soluções dessa substância a partir da adição de 150 mg de quitosana em 50 ml de solução aquosa de ácido acético a 1,0%; 0,5% e 0,1% (v/v). De modo similar, preparou-se também soluções de quitosana usando, entretanto, ácido clorídrico como meio solubilizador dessa substância. A dissolução por agitação magnética se estendeu por cerca de 3 a 4 horas. Solução padrão de hidróxido de sódio foi preparada a 0,5 M. Em seguida, as soluções de quitosana foram tituladas em condutivímetro, sob agitação magnética.

Para avaliar o efeito da concentração de ácido nas propriedades da nanopartículas, soluções de quitosana, nas mesmas concentrações acima, foram tituladas com o agente reticulante tripolifosfato de sódio (TPP). Para isso, preparou-se solução de 60 mg de TPP em 50 ml de água destilada. Após a adição do TPP, parte da suspensão foi analisada em um equipamento Analisador de Tamanho de Partícula para determinar o tamanho de partícula. O sobrenadante foi então centrifugado a 11000 rpm e o precipitado de nanopartículas liofilizado e, após seco, analisado em um equipamento de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos com a curva de titulação mostram que quando todo ácido acético em excesso é neutralizado a condutividade muda de inclinação e observa-se a precipitação da quitosana (Figura 1a). Isso acontece porque a quitosana é um polímero natural que possui grupamentos amino disponíveis para reações químicas. Tais grupamentos podem adquirir cargas positivas em presença de soluções aquosas de ácidos orgânicos e inorgânicos. No entanto, a partir da adição base (OH^-), as cargas positivas são anuladas e a quitosana se precipita. Fica claro, então, que a concentração de ácido acético de 1%, que é empregada na grande maioria dos trabalhos publicados, contém uma grande quantidade em excesso de ácido que pode influenciar na formação da NP (GAN et al., 2005).

A titulação condutimétrica da quitosana dissolvida em HCl mostrou também que a concentração acima de 1% de ácido tem grande excesso de ácido (Figura 1b). De fato, para quitosana dissolvida em HCl a 0,5%, é possível ver com clareza cada etapa da titulação da solução de quitosana, em que, para volume de NaOH $< V_1$ corresponde à neutralização do excesso de HCl; para $V_1 < \text{volume} < V_2$ corresponde à neutralização da quitosana e volume $> V_2$ corresponde ao excesso de NaOH adicionado.

Assim, estes resultados aqui obtidos são muito promissores, pois mostram que concentrações menores de ácido, como 0,1%, podem ser usadas, obtendo NP mais estáveis e, possivelmente, com melhor capacidade encapsulamento.

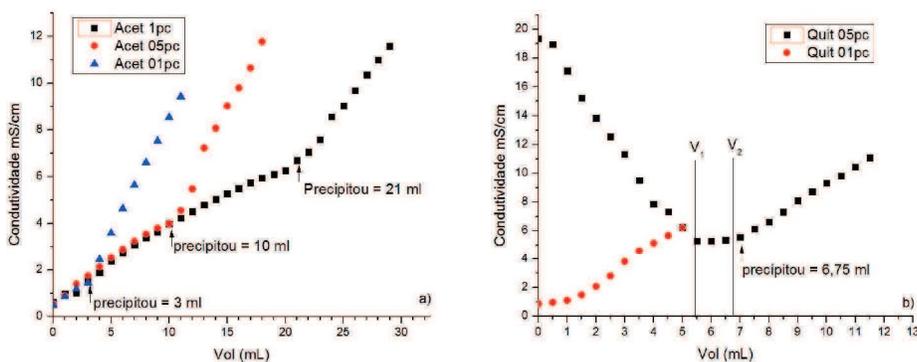


Figura 1. Curva de titulação condutimétrica da quitosana dissolvida em solução aquosa de a) ácido acético a 1,0%; 0,5% e 0,1% (v/v) e b) ácido clorídrico a 0,5% e 0,1% (v/v) e tituladas com NaOH 0,5M.

A análise do tamanho de partícula mostrou que, para estas concentrações de quitosana (3 mg/ml) e TPP (1,2 mg/ml), os tamanhos das partículas foram aumentando conforme a concentração do ácido diminui. Para a concentração de ácido a 1% a distribuição de tamanho ficou predominantemente em torno de 100-200 nm, enquanto que para a concentração de 0,1% a distribuição ficou por volta de 1000 nm (Figura 2). Por outro lado, quando a concentração de TPP foi decrescida pela metade (0,6 mg/ml), sendo a concentração de ácido de 0,1%, a distribuição de tamanho de partícula decresceu novamente para valores menores em torno de 200-400 nm. Isso mostra, claramente, que, quando se emprega soluções mais concentradas de ácido, é necessário utilizar maior quantidade de TPP para que as NP se formem.

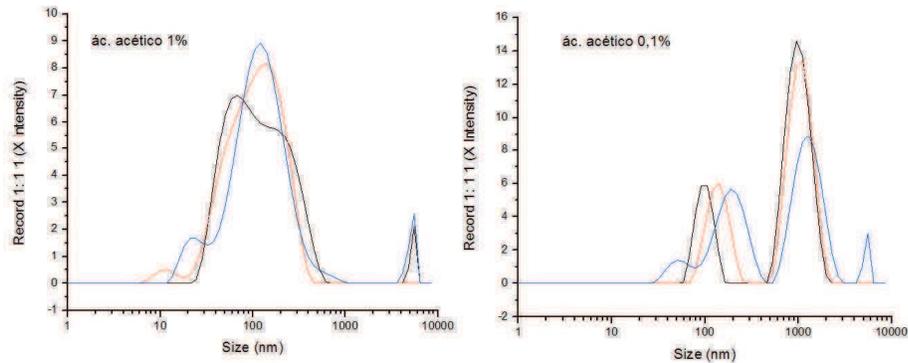


Figura 2. Distribuição do tamanho de NP obtida por quitosana (3 mg/ml) e TPP (1,2 mg/ml), sendo a quitosana dissolvida previamente em solução de ácido acético a 1,0% e 0,1% (v/v).

Baseado neste resultado preliminar, foi feita a síntese de NP a partir de quitosana dissolvida em HCl a 0,1% e concentração de TPP a 0,6 mg/ml. Os resultados foram melhores, resultando em tamanho de partícula em torno de 100-200 nm. Esta é uma condição promissora a ser usada síntese futura com princípios ativos.

Da mesma forma, a análise morfológica mostrou que as NPs, depois de liofilizada, tiveram aspectos bem diferentes, em função da concentração do ácido usado inicialmente. As NPs obtidas em ácido a 1% apresentaram um aspecto mais denso, com partículas aglomeradas, não se distinguindo a morfologia individual das NP (Figura 3a). Por outro lado, para as NP obtidas a 0,1%, o material não apresenta adensamento de partículas, podendo-se distinguir estruturas isoladas (Figura 3b).

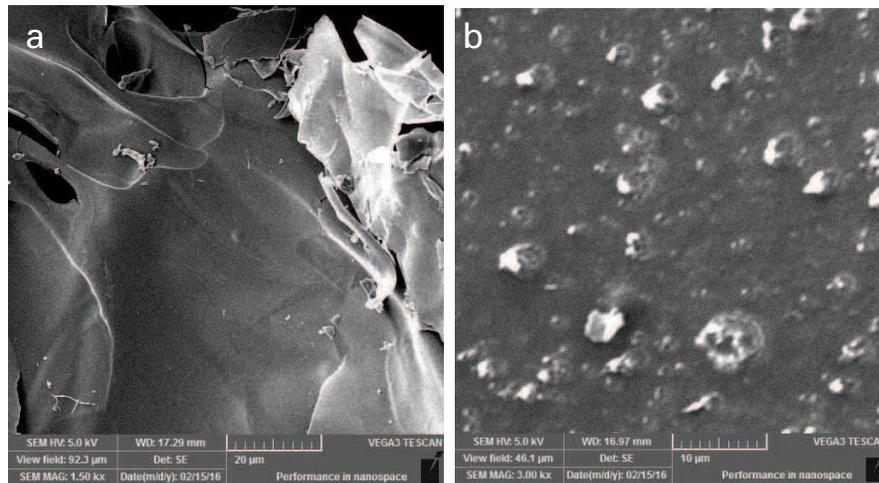


Figura 3. Imagem obtida por MEV para NP de quitosana e TPP liofilizada, sendo a quitosana dissolvida previamente em solução de ácido acético a) 1,0% e b) 0,1% (v/v).

Conclusões

A concentração e o tipo de ácido empregado para solubilizar a quitosana para obter NP influencia muito sua estrutura. A melhor condição de obtenção de NP é aquela que emprega menor concentração de ácido e, também, menor quantidade de TPP, gerando economia de reagentes.

Agradecimentos

Os autores são gratos às agências de fomento pelo suporte financeiro, Facepe, Rede Agro-Nano, Capes e CNPq e a Ginetton Ferreira Tavares (CPGCM – Univasf) pela operação do equipamento MEV.

Referências

- BAE, J. W.; GO, D. H.; PARK, K. D.; LEE, S. J. Thermosensitive chitosan as injectable carrier for local drug delivery. *Macromolecular Research*, New York, v. 14, n. 4, p. 461-465, 2006.
- GAN, Q.; WANG, T.; COCHRANE, C.; MCCARRON, P. Modulation of surface charge, particle size and morphological properties of chitosan-TPP nanoparticles intended for gene delivery. *Colloids and Surfaces: B Biointerfaces*, Amsterdam, v. 44, n. 2/3, p. 65-73, 2005.
- GARCIA-FUENTES, M.; ALONSO, M. J. Chitosan-based drug nanocarriers: Where do we stand? *Journal of Controlled Release*, Amsterdam, v. 161, n. 2, p. 496-504, 2012.
- GEORGE, M.; ABRAHAM, T. E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan - a review. *Journal of Controlled Release*, Amsterdam, v. 114, n. 1, p. 1-14, 2006.
- ZHAO, L.-M.; SHI, L.-E.; ZHANG, Z.-L.; CHEN, J.-M.; SHI, D.-D.; YANG, J.; TANG, Z.-X. Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers. *Brazilian Journal of Chemical Engineer*, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 353-362, 2011.