

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE, EM MEIO AQUOSO, DE VITAMINAS NANOENCAPSULADAS

Douglas de Britto¹, Flávia G. Pinola², Odílio B.G. Assis²

¹Embrapa Semiárido – Petrolina, PE – douglas.britto@embrapa

²Embrapa Instrumentação, LNN, São Carlos, SP – odilio.assis@embrapa.br

Classificação: Tecnologias de micro e nanoencapsulação de princípios ativos.

Resumo

Degradações de ordem natural podem reduzir significativamente as vitaminas e demais nutrientes presentes em alimentos. Para minimizar tais perdas o emprego de biopolímeros no encapsulamento desses ativos podem oferecer uma proteção adicional, elevando a estabilidade principalmente ao longo da estocagem ou sob condições ambientais não adequadas. O composto formado pelo entrecruzamento da quitosana com o tripolifosfato de sódio (Qui-TPP) tem sido largamente empregado na formação de matrizes de conservação para diversos compostos químicos e no presente estudo o sistema Qui-TPP foi empregado como material para a encapsulação de vitaminas C, B9 e B12. A estabilidade dessas vitaminas encapsuladas foi avaliada em suspensões aquosas indicando o efeito favorável em suas preservações, em particular da vitamina C, que resultou na conservação de 47% de sua concentração inicial quando medido no décimo dia e em torno de 28% após 17 dias. De modo oposto, os controles (não encapsulados) registraram perdas significativas, com medidas proporcionais de concentrações em torno de 13% no décimo dia e de somente 3% após 17 dias. As análises termogravimétricas das vitaminas no estado puro e encapsuladas indicaram comportamentos distintos que confirmam a viabilidade do sistema Qui-TPP como material apropriado para encapsulamento e proteção.

Palavras-chave: liberação controlada; nanoencapsulamento; degradação de vitaminas, quitosana.

EVALUATION OF THE STABILITY, IN AQUEOUS MEDIUM, OF NANOENCAPSULATED VITAMINS

Abstract

Natural degradation can reduce the vitamins and nutrients present in foods. To minimize such losses, the encapsulating of these actives into biopolymeric nanoparticles could offer an additional protection by extending the stability under unsuitable storage conditions. The composite formed by the ionic gelation process of chitosan and tripolyphosphate (Chi-TPP) has been widely used as encapsulating matrix for several chemical compounds and in the present study Chi-TPP was used for encapsulation of C, B9 and B12 vitamins. The stability of these vitamins in encapsulated and non-encapsulated conditions was evaluated in aqueous suspension, indicating a positive effect in preserving, in particular the vitamin C. The encapsulation of vitamin C preserved 47% of the initial concentration by the tenth day and around 28% after 17 days when in aqueous medium. Conversely in the non-encapsulated controls (diluted in neutral and acidic medium) losses were higher and measured proportional concentration of approximately 13% by the tenth day and almost 3% after 17 days of storage in both medium. The thermogravimetric analyses showed distinct thermal behavior confirming Chi-TPP as a proper encapsulation and protective material.

Keywords: controlled release; nanoencapsulation; vitamins degradation; chitosan.

Publicações relacionadas: BRITTO, D.; PINOLA, F.G.; MATTOSO, L.H.C.; ASSIS, O.B.G. Analysis of thermal and aqueous suspension stabilities of chitosan based nanoencapsulated vitamins. *Química Nova*, v.39, n.9, p. 1126-1130, 2016.

BRITTO, D.; MOURA, M.R.; AOUADA, F.A.; PINOLA, F.G.; LUNDSTEDT, L.M.; ASSIS, O.B.G.; MATTOSO, L.H.C. Entrapment characteristics of hydrosoluble vitamins loaded into chitosan and N,N,N-trimethyl chitosan nanoparticles. *Macromolecular Research*, v. 22, n.12, p. 1261-1267, 2014.

1 INTRODUÇÃO

A maioria dos nutrientes e em especial as vitaminas são susceptíveis a um rápido processo de degradação seja durante o processamento, armazenamento ou mesmo no consumo. A vitamina C (ácido ascórbico), por exemplo, é quimicamente estável em pHs ácidos mas instável quando em meio neutro ou alcalino. Diferentemente o ácido fólico (vitamina B9) apresenta estabilidade em meio alcalino, contudo se degrada rapidamente em meio ácido. A Vitamina B12 (cianocobalamina), por sua vez, é estável seja em meio ácido ou alcalino, embora seja bastante susceptível ao oxigênio e à luz.

Diversos estudos têm proposto a encapsulação biopolimérica desses nutrientes como uma forma de proteção e conservação contra processos degradativos naturais, sendo a técnica de gelatinização ionotrópica um processo relativamente simples e bastante referenciado como efetivo para este fim (BRITTO et al., 2012; BRITTO et al., 2016). A gelatinização ionotrópica tem por base o entrecruzamento entre um polieletrólito, como a quitosana (Qui) e um contra íon como o tripolifosfato de sódio (TPP) (CHEN et al., 2007).

A viabilidade de encapsulação de vitaminas C, B9 e B12 pelo sistema Qui/TPP foi previamente confirmada e a cinética de liberação caracterizada (BRITTO et al., 2012). No presente trabalho o foco é o de analisar a estabilidade desse sistema de encapsulação na redução da degradação dessas vitaminas submetidas a diferentes condições de temperatura, incidência luminosa e atmosfera oxidativa de O₂.

2 MATERIAL E MÉTODOS

TPP e quitosana de origem comercial (Aldrich) foram empregadas no entrecruzamento. Ácido ascórbico (vitamina C), ácido fólico (vitamina B9) e cianocobalamina (vitamina B12) também da Aldrich foram os nutrientes encapsulados. O processo de encapsulação seguiu procedimentos descritos em BRITTO et al, 2012, que compreende a adição contínua de TPP na solução de quitosana a 3gL⁻¹ com incorporação das vitaminas nas proporções de 0,7; 1,34 e 1,38 mg/cm³, (vitaminas B9, C e B12 respectivamente).

A degradação das vitaminas encapsuladas foi conduzida em meio aquoso em estufa sob a temperatura constante de 30°C, na ausência de luz por 3 semanas. Alíquotas (1.0 cm³) para análises eram retiradas duas vezes por semana e analisadas. Amostras similares foram expostas à incidência de luz natural e luz incandescente, sendo igualmente analisadas. A ação do oxigênio foi realizada pelo borbulhamento de O₂ diretamente nas soluções. A estabilidade foi expressa pela medida da concentração relativa das quantidades tendo por referencia a quantidade inicialmente solubilizada fazendo uso de espectroscopia no UV-Vis (Shimadzu), nos comprimentos de onda de 244, 283 e 362 nm para as vitaminas C, B2 e B12 respectivamente. A análise termogravimétrica foi conduzida em equipamento TGA-500 (TA Instruments) em amostra de 5,0 mg em atmosfera de nitrogênio, a uma taxa de aquecimento de 10.0°C/min até 500°C. Empregou-se o software Microcal Origin 9.0 para os ajustes matemáticos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada qualquer precipitação ou formação de aglomerados dos nanoencapsulados durante os experimentos indicando que o sistema Qui + TPP + vitamina é estável. Adicionalmente as análises demonstraram que as vitaminas B9 e B12 são também razoavelmente estáveis em ambas as condições avaliadas sem degradações intensas (quando em temperatura ambiente) ao longo de 15 dias de observação (Fig. 1). As variações nas concentrações podem ser adequadamente ajustadas ao modelo linear ($y = a + bx$), no qual b representa a inclinação da linha, fisicamente interpretada como a razão de concentração. A medida de b mostrou-se bastante pequena (da ordem de 10⁻⁴) indicando comportamento satisfatório com uma tendência mínima de perdas ao longo do tempo.

A análise indica que a vitamina C apresenta um comportamento diferente em meio líquido sob incidência de luz (Fig. 2) com pronunciada variação com o tempo. Neste caso o ajuste do mecanismo de degradação segue um modelo de decaimento exponencial do tipo $y = y_0 + Ae^{-(x/t)}$, sendo A o intercepto com o eixo das ordenadas, refletindo o número total de moléculas com energia suficiente para reação, e a potencia do exponencial $-(x/t)$ expressa a razão de reação, ou seja, quão rápido a curva

decai com o tempo (van BOEKEL, 2008, BRITTO et al., 2014)). As amostras encapsuladas também seguem uma exponencial porém de forma menos pronunciada (Figs 3 e 4). A velocidade de degradação ao longo de 17 dias pode ser determinada como 0,066 para as amostras encapsuladas e de 0,334 para as não-encapsuladas indicando uma deterioração aproximadamente 80% mais rápida na condição diluída do que no sistema Qui/TPP. Quando dissolvidas em ácido acético 1%, a potencia é de 0,230, ou seja, aproximadamente 70% mais rápida que as amostras encapsuladas, confirmando que a vitamina C apresenta diferentes comportamentos em meios diversos.

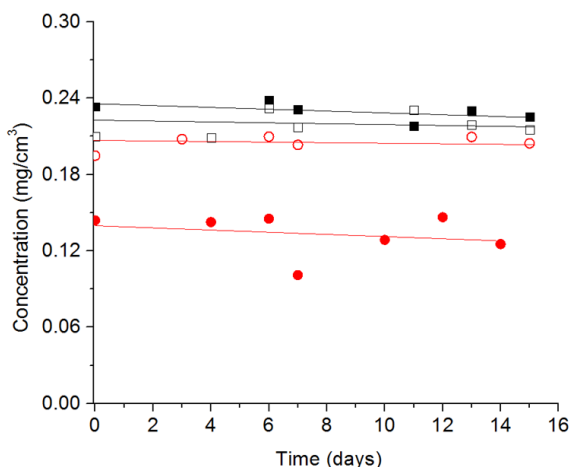


Figura 1. Variação da concentração de vitaminas B9 (●) e B12 (■) encapsulada comparadas com amostras B9 (○) e B12 (□), não encapsuladas em meio aquoso durante 15 dias a 30°C no escuro.

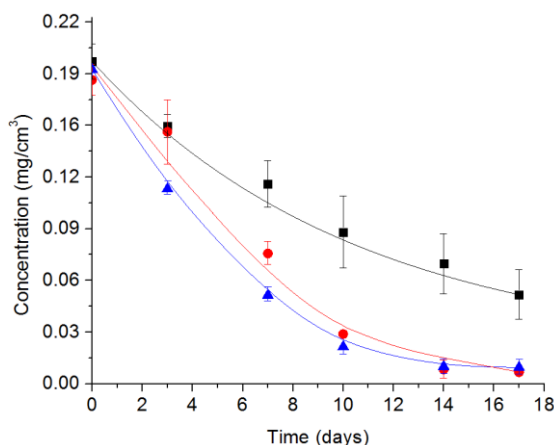


Figure 2. Variação da concentração de vitamina C encapsulada (■) e não-encapsulada (●) em água e em 1% ácido acético (▲), durante 15 dias a 30°C na presença de luz.

Embora o mecanismo de degradação em fase aquosa seja distinto do que ocorre em meio sólido, as análises termogravimétricas proveem informações adicionais da estabilidade quando complexadas na matriz biopolimérica. A evolução da decomposição sob ação da temperatura pode ser acompanhada pela Figura 5. Temos que para as vitaminas B12 e B9 puras, as perdas de massa iniciam próximas as temperaturas de 40°C e 92°C respectivamente, correspondendo a desorção de água ligada química e fisicamente. Essa desidratação não é observada para a vitamina C e está em concordância com dados que indicam que a degradação térmica da vitamina C é decorrência da geração simultânea de H₂O, CO₂, CO, HCOOH e CH₄ formando como produto o furfural C₅H₄O₂ (JINGYAN et al., 2013). Para a vitamina B9, a degradação térmica ocorre pela clivagem das moléculas de folato com perdas de glutâmica e agrupamentos ácidos e para a B12 as degradações térmicas estão associadas à remoção de grupos cianido e amônia, que agem como agentes estruturantes da vitamina.

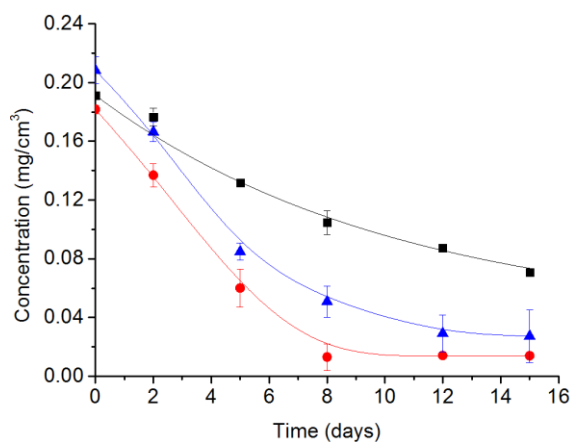


Figura 3. Variação da concentração de vitamina C encapsulada (■) e não-encapsulada em água (●) e em meio 1% ácido acético (▲) na presença de luz.

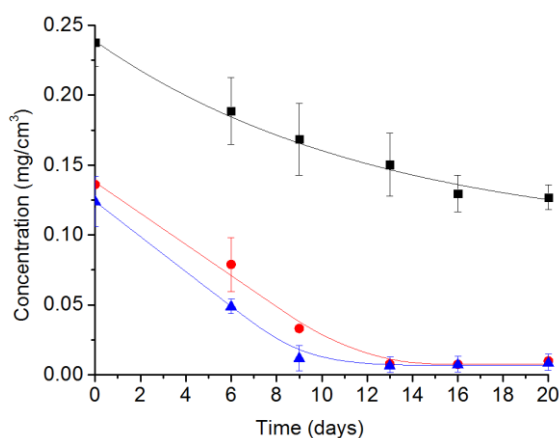


Figura 4. Variação de concentração de vitamina C encapsulada (■) e não-encapsulada (●) em água e (▲) em ácido acético 1% na presença de O₂.

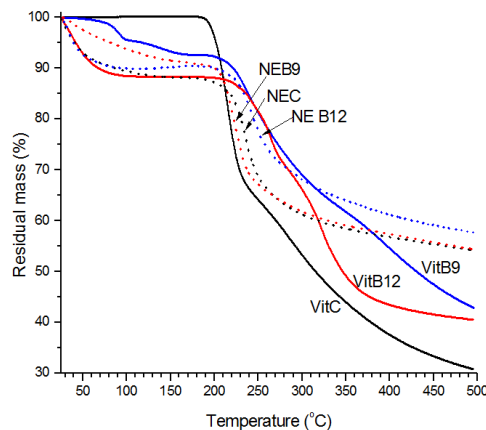


Figura 5. Curva termogravimétrica geradas para varreduras em vitaminas C, B9 e B12, puras e nanoencapsulada (NE) em ensaio sob atmosfera de N_2 e taxa de aquecimento de $10.0^\circ C/min$

4 CONCLUSÃO

Os resultados indicam que a nanoencapsulação de vitaminas pelo sistema quitosana/TPP promove a estabilização mesmo sob a ação degradadora da luz e do O_2 . As vitaminas B9 e B12 apresentaram uma maior imutabilidade sob as condições analisadas, nas quais a encapsulação teve pouca influência sobre as variações. Os resultados obtidos para a vitamina C (a mais susceptível) reforçam o potencial do sistema Qui/TPP como material apropriado para sua proteção, com potencial aplicação na área de cosméticos, farmacêutica e de alimentos. Adicionalmente as análises da degradação térmica demonstraram que a presença das vitaminas promove uma redução geral da estabilidade, provavelmente em consequência do estabelecimento de ligações fracas entre esses agentes e os polímeros que formam as capsulas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Rede AgroNano (Embrapa) por apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- BRITTO, D.; MOURA, M.R.; AOUADA, F.A.; MATTOSO, L.H.C.; ASSIS, O.B.G. *N,N,N*-trimethyl chitosan nanoparticles as a vitamin carrier system. *Food Hydrocolloids*, v.27, n.2, p.487-493, 2012.
- BRITTO, D.; MOURA, M.R.; AOUADA, F.A.; PINOLA, F.G.; LUNDSTEDT, L.M.; ASSIS, O.B.G.; MATTOSO, L.H.C. Entrapment characteristics of hydrosoluble vitamins loaded into chitosan and *N,N,N*-trimethyl chitosan nanoparticles. *Macromolecular Research*, v.22, n.12, p.1261-1267, 2014.
- BRITTO, D.; PINOLA, F.G.; MATTOSO, L.H.C.; ASSIS, O.B.G. Analysis of thermal and aqueous suspension stabilities of chitosan based nanoencapsulated vitamins. *Química Nova*, v.39, n.9, p. 1126-1130, 2016.
- CHEN, F.; ZHANG, Z.-R.; HUANG, Y. Evaluation and modification of *N*-trimethyl chitosan chloride nanoparticles as protein carriers. *International Journal of Pharmaceutics*, v.336, n.1, p. 166-173. 2007.
- JINGYAN, S.; YUWEN, L.; ZHIYONG, W.; CUNXIN, W. Investigation of thermal decomposition of ascorbic acid by TG-FTIR and thermal kinetics analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.77, p. 116-119, 2013.
- van BOEKEL. M.A.J.S. Kinetic modeling of food quality: A critical review. *Comprehensive. Review on Food Science and Food Safety*, v.7, n.1, p.144-158, 2008.