

ISSN 2175-8395

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

REDE DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO

ANAIS DO VI WORKSHOP – 2012

Maria Alice Martins
Morsyleide de Freitas Rosa
Men de Sá Moreira de Souza Filho
Nicodemos Moreira dos Santos Junior
Odílio Benedito Garrido de Assis
Caue Ribeiro
Luiz Henrique Capparelli Mattoso

Editores

Fortaleza, CE
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação

Rua XV de Novembro, 1452,
CEP 13560-970 – São Carlos, SP
Fone: (16) 2107-2800
Fax: (16) 2107-2902
<http://www.cnpdia.embrapa.br>
E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br

Embrapa Agroindústria Tropical

Rua Dra. Sara Mesquita, 2270,
CEP 60511-110 – Fortaleza, CE
Fone: (85) 3391-7100
Fax: (85) 3391-7109
<http://www.cnpat.embrapa.br>
E-mail: sac@cnpat.embrapa.br

Comitê de Publicações da Embrapa Instrumentação

Presidente: João de Mendonça Naime
Membros: Débora Marcondes Bastos Pereira Milori, Washington Luiz de Barros Melo, Sandra Protter Gouvêa, Valéria de Fátima Cardoso.
Membro suplente: Paulo Sérgio de Paula Herrmann Júnior

Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente: Antonio Teixeira Cavalcanti Júnior
Secretário-Executivo: Marcos Antonio Nakayama
Membros: Diva Correia, Marlon Vagner Valentim Martins, Arthur Cláudio Rodrigues de Souza, Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho, Adriano Lincoln Albuquerque Mattos e Carlos Farley Herbster Moura

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto

Capa: Mônica Ferreira Laurito, Pedro Hernandes Campaner

Imagens da capa:

Imagem de MEV-FEG de Titanato de potássio – Henrique Aparecido de Jesus Loures Mourão, Viviane Soares

Imagem de MEV de Eletrodeposição de cobre – Luiza Maria da Silva Nunes, Viviane Soares

Imagem de MEV de Colmo do sorgo – Fabrício Heitor Martelli, Bianca Lovezutti Gomes, Viviane Soares

Imagem de MEV-FEG de HPMC com nanopartícula de quitosana – Marcos Vinicius Lorevice, Márcia Regina de Moura Aouada, Viviane Soares

Imagem de MEV-FEG de Vanadato de sódio – Waldir Avansi Junior

Imagem de MEV de Fibra de pupunha – Maria Alice Martins, Viviane Soares

1ª edição

1ª impressão (2012): tiragem 300

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº. 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação na publicação.

Embrapa Instrumentação

Anais do VI Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao agronegócio 2012 – São Carlos: Embrapa Instrumentação; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012.

Irregular

ISSN: 2175-8395

1. Nanotecnologia – Evento. I. Martins, Maria Alice. II. Rosa. Morsyleide de Freitas. III. Souza Filho, Men de Sá Moreira de. IV. Santos Junior, Nicodemos Moreira dos. V. Assis, Odílio Benedito Garrido de. VI. Ribeiro, Caue. VII. Mattoso, Luiz Henrique Capparelli. VIII. Embrapa Instrumentação. IX. Embrapa Agroindústria Tropical.



NANOPARTÍCULAS DE N,N,N-TRIMETIL QUITOSANA COMO SUPORTE PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE VITAMINAS.

I. PROPRIEDADES MORFOLÓGICAS

Douglas de Britto*¹; Márcia R. de Moura²; Fauze A. Aouada³; Luiz H.C. Mattoso¹; Odilio B.G. Assis¹

¹Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação.

²Laboratório de Nanomedicina e Nanotoxicologia (LNN), Instituto de Física de São Carlos - USP.

³Instituto de Química, UNESP. * britto@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC3

Plano de Ação: 2

Resumo

Há um interesse considerável na incorporação e estabilização de vitaminas em nanopartículas para melhorar sua aplicação em áreas farmacêutica e alimentícia. Neste trabalho, nanopartículas de N, N, N-trimetil quitosana (TMC) foram sintetizadas por gelificação iônica com tripolifosfato (TPP). Combinações de concentrações de TMC e TPP resultaram em nanopartículas com diferentes tamanhos (potencial Zeta: 196 ± 8 nm). Três diferentes vitaminas (B9, B12 e C) foram incorporadas. Em geral, a incorporação de vitaminas aumentou o tamanho das partículas (534 ± 20 nm).

Palavras-chave: nanoparticles de trimetilquitosana-TPP; gelificação ionotrópica; incorporação de vitamina; propriedades morfológicas; caracterização espectroscópica

Publicações relacionadas

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, p.487 - 493, 2012.

BRITTO, D.; ASSIS, O.B.G. Hydrophilic and Morphological Aspects of Films Based on Quaternary Salts of Chitosan for Edible Applications. *Packaging Technology & Science*, v.23, p. 111-119, 2010.

Introdução

N,N,N-trimetil quitosana (TMC) é um polieletrólito catiônico obtido por metilação extensiva da quitosana [1]. O derivado resultante é um polissacarídeo solúvel em água útil para uma variedade de aplicações e particularmente adequado para o preparo de nanopartículas. A TMC é um polímero não-tóxico e biocompatível a partir do qual as partículas com tamanhos na faixa de 100-200 nm podem ser facilmente obtida através de um processo de gelificação iônica, usando tripolifosfato de sódio (TPP) como um contra-íon. Assim, eficiência de até 90% pode ser alcançada para o

aprisionamento de drogas, de acordo com a análise de albumina de soro bovino como uma droga modelo, como realizado por Xu et al. Em 2003 [2]. Várias outras aplicações surgiram para TMC como nanopartículas para liberação de vacina via nasal e oral, transportadora de proteína, liberação controlada de insulina e aplicações como aditivo alimentar.

Particularmente na área alimentícia, o uso de nanopartículas comestíveis como portadora ou para sistema de liberação tem muitas aplicações potenciais [3]. Sabores, antioxidantes, enzimas, antibióticos e vitaminas são capazes de ser encapsulada ou imobilizada em nanopartículas,

mantendo assim a sua atividade. Vitaminas, por exemplo, são compostos sensíveis e instáveis que perdem sua funcionalidade quando expostas a temperaturas inadequadas, luz, oxigênio e umidade. O encapsulamento de vitaminas pode ajudar a reduzir parcialmente algumas dessas limitações, proporcionando assim uma vida útil prolongada e estabilidade em um meio estranho. A incorporação de nutrientes em alimentos empregando nanopartículas é um campo tecnológico emergente com aplicações potenciais na área alimentícia. O objetivo do presente estudo é de produzir nanopartículas de TMC por crosslinking com TPP, avaliar a eficiência de encapsulamento destas nanopartículas com vitaminas e determinar sua genotoxicidade.

Materiais e métodos

Síntese das nanopartículas de TMC-TPP: A TMC foi obtida pela metilação da quitosana com dimetilsulfato a 70°C. A seqüência de reação consiste em agitar uma suspensão de 1,0 g de quitosana (0,005 mol) em 16 mL de dimetilsulfato e 4 mL de água deionizada em meio básico. Detalhes do processo de metilação estão disponíveis na literatura [1,4]. As nanopartículas foram obtidas pelo procedimento relatado por Moura et al. [5]. O processo consiste em uma adição contínua de sódio TPP (a uma taxa de 1 mL / min) em solução aquosa TMC. O processo ocorre à temperatura ambiente utilizando um homogeneizador a 6000 rpm.

Incorporação das vitaminas

A preparação das nanopartículas de TMC-TPP com vitaminas incorporadas B9, B12 e C, foi realizada de maneira similar. Previamente, soluções aquosas de vitaminas são preparadas pela dissolução de uma quantidade de vitamina. A solução aquosa de vitamina é então adicionada à solução de TMC. Nanopartículas são obtidas como descrito acima para a síntese de nanopartículas TMC-TPP.

Caracterização da nanopartículas

As nanopartículas foram caracterizadas por Microscopia de Força Atômica, Microscopia Eletrônica de Varredura e Potencial zeta (modelo Zen 3600, Malvern Zetasizer nano ZS).

Resultados e discussão

O menor tamanho médio de nanopartículas (196 ± 8 nm; potencial zeta $31,6 \pm 0,6$ mV) foi obtida quando a combinação de menor TMC e menor a concentração de TPP foi usado. O aumento em

ambas as concentrações de TMC ou TPP provocou um aumento considerável na dimensão das nanopartículas (606 ± 25 nm; potencial zeta $12,7 \pm 0,4$ mV). Tal formação de nanopartículas é regida pela relação de neutralização entre a TMC carregada positivamente e o TPP carregado negativamente. Por conseguinte, as concentrações utilizadas de TMC e TPP desempenham um papel importante na estrutura de nanopartículas.

Da mesma forma, o potencial zeta foi influenciado também pela relação de TMC e TPP (dados acima). Como se sabe, os valores positivos encontrados para potencial zeta para as nanopartículas de quitosana e TMC são devidos à natureza catiônica destes materiais. Por conseguinte, uma redução nos valores do potencial zeta indica alterações na carga superficial das nanopartículas. Evidentemente, para adição elevada de espécies carregadas negativamente (TPP) à cadeias carregadas positivamente (TMC), a carga superficial catiônica das nanopartículas irá diminuir de um modo perceptível, em conformidade com os dados apresentados aqui.

Para as nanopartículas sintetizadas na presença de vitaminas houve um aumento significativo no seu tamanho (TMC-TPP-VitB12: 227 ± 51 nm, $25,3 \pm 1,5$ mV; TMC-TPP-VitB9: 363 ± 35 nm, $24,8 \pm 0,5$ mV e TMC-TPP-VitC: 534 ± 20 nm, $36,3 \pm 0,7$ mV, respectivamente para tamanho de partícula e potencial zeta). Tal resultado indica que a incorporação das vitaminas foi bem sucedida.

Uma imagem representativa de AFM da amostra TMC-TPP esta na Fig. 1. Em geral, o filme de NP depositado exibe uma distribuição regular sobre a superfície de vidro polar (Fig. 1a e 1c). No entanto, estas NP parecem variar em diâmetro de amostra para amostra, o que pode ser medido pela secção transversal como na Fig. 1a (linhas retas "1" e "2") e ilustrado na Fig. 1b. Nanopartículas com intervalos de diâmetro de 200 nm a 600 nm foram observados. Uma diferença na distribuição de tamanho destes valores, quando comparado com as medidas de dispersão de luz é esperado, uma vez que na última técnica o volume hidrodinâmico é tomado como tamanho de partícula. Também durante a evaporação do solvente a NP se reúnem em aglomerados de conformações diferentes.

A análise da superfície conduzida por SEM também revelou uma distribuição regular das NPs sobre a superfície de vidro (Fig. 2). As imagens de MEV mostraram a morfologia das NPs como forma esférica e lisas (Fig. 2a). Análise por SEM foi importante também para confirmar a distribuição de tamanho de partículas muito similar à encontrada na AFM análise (Fig. 2b).

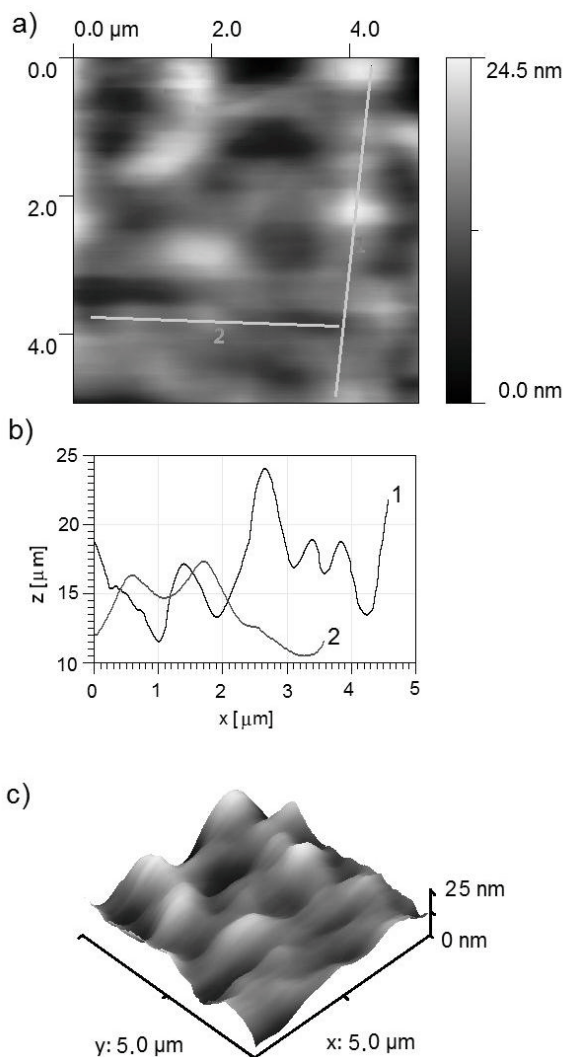


Figura 1. Imagem de AFM de NPs depositada sobre vidro. a) visão 2D; b) perfil e c) visão 3D.

Na realidade, estas imagens mostram claramente a esfericidade das partículas, as quais variam de 100 a 600 nm. Nota-se que a grande maioria das NPs tem uma distribuição de tamanho inferior a 200 nm. A Fig. 2b mostra claramente que as NPs se aglutinam, formando aglomerados de nanopartículas de vários tamanhos. Imagens em ampliação (Fig. 2c) dão mais detalhes sobre essa morfologia.

Conclusões

Na preparação de NPs de TMC-TPP, a menor distribuição de tamanho de partícula (196 nm) foi obtida quando a mais baixa concentração de TMC e TPP foi usada. A análise morfológica mostrou NPs com forma esférica e distribuição de tamanho estreita, de acordo com as técnicas de dispersão de luz.

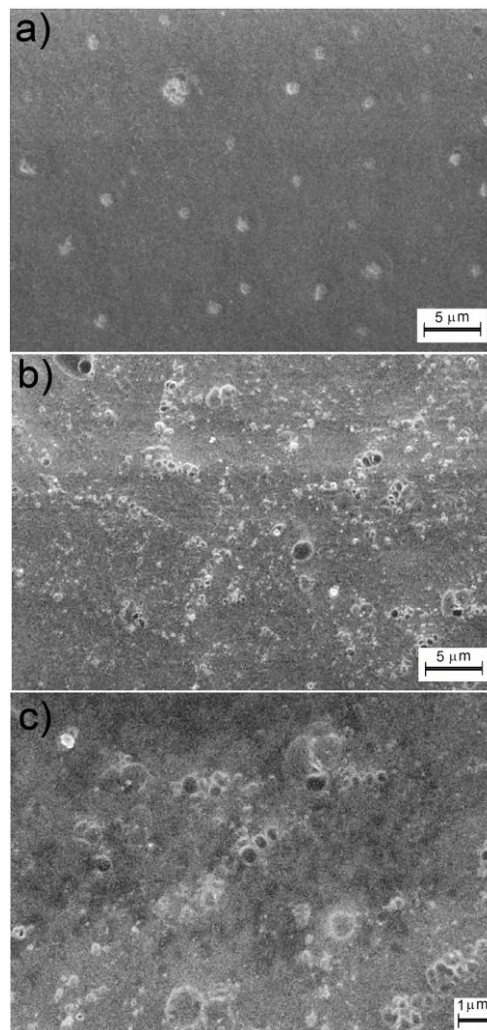


Figura 2. Imagem de SEM de NPs depositada sobre vidro. (a, b) 10.000 X e (c) 20.000 X.

Agradecimentos

CAPES, CNPQ, FINEP, EMBRAPA e FAPESP.

Referências

1. D. de Britto; O.B.G. Assis *Intern. J. Biol. Macromolecules*, 2007, 41(2), 198-203.
2. Y. Xu; Y. Du; R. Huang; L. Gao, L. *Biomaterials*, 2003, 24(27), 5015-5022.
3. A. Matalanis; O.G. Jones; D.J. McClements *Food Hydrocolloids*, 2011, 25(8) 1865-1880.
4. D. de Britto; R.C. Goy; S.P. Campana-Filho; O.B.G. Assis. *Intern. J. Carboh. Chem.* 2011, 2011, 1-11.
5. M.R. Moura; F.A. Aouada; R.J. Avena-Bustillos; T.H. McHugh; J.M. Krochta; L.H.C. Mattoso *J. Food Engin.* 2009, 92(4), 448-453.