



Preparação de nanopartículas de quitosana-tripolifosfato estabilizadas por emulsões Pickering

Preparation of chitosan-tripolyphosphate nanoparticles stabilized by Pickering emulsion

Rafaela Raiane dos Santos, Lilian Dusman Tonin, Rubia Michele Suzuki, Caroline Casagrande Sipoli

RESUMO

Nas últimas décadas, a preparação de emulsões Pickering tem despertado considerável interesse devido à sua ampla aplicabilidade nas indústrias cosmética, alimentícia e farmacêutica. O objetivo deste estudo foi otimizar a preparação de emulsões Pickering estabilizadas com nanopartículas de quitosana-tripolifosfato (QUI-TPP) como um sistema de liberação de curcumina. As nanopartículas de QUI-TPP (NPs) foram preparadas por meio da técnica de gelificação iônica entre a quitosana e o tripolifosfato (TPP), apresentando uma ótima resposta de 150 nm. Avaliamos também o impacto das condições de preparação e do tempo de armazenamento na estabilidade da emulsão Pickering. Posteriormente, conseguimos com sucesso encapsular a curcumina na emulsão Pickering, demonstrando a viabilidade dessas técnicas. No geral, os resultados destacam a promissora eficácia dessas metodologias, representando avanços significativos na busca por melhorias nessa área.

PALAVRAS-CHAVE: emulsões Pickering; nanopartículas; quitosana.

ABSTRACT

In recent decades, the preparation of Pickering emulsions has garnered considerable interest due to its wide applicability in the cosmetic, food, and pharmaceutical industries. The aim of this study was to optimize the preparation of Pickering emulsions stabilized with chitosan-tripolyphosphate nanoparticles (CS-TPP) as a curcumin delivery system. The CS-TPP nanoparticles (NPs) were prepared using the ionotropic gelation technique involving chitosan and tripolyphosphate (TPP), resulting in an optimal size of 150 nm. We also assessed the impact of preparation conditions and storage time on the stability of the Pickering emulsion. Subsequently, we successfully encapsulated curcumin within the Pickering emulsion, demonstrating the feasibility of these techniques. Overall, the results highlight the promising effectiveness of these methodologies, representing significant advancements in the quest for improvements in this field.

KEYWORDS: Pickering emulsions; nanoparticles; chitosan.

INTRODUÇÃO

As emulsões Pickering são um tipo de emulsão que se diferencia das emulsões convencionais estabilizadas por surfactantes tradicionais, pois são estabilizadas por partículas sólidas (Schmitt; Destribats; Backov, 2014). Essas emulsões estão ganhando crescente interesse devido à sua ampla aplicação em setores como alimentos, produtos farmacêuticos e cosméticos. Elas oferecem diversas vantagens sobre as emulsões tradicionais, como a redução dos problemas relacionados à toxicidade, a facilitação do processo de eliminação e a minimização das mudanças na tensão superficial, entre outras. (Frelichowska; Bolzinger; Pelletier; Valor e Chevalier, 2009).

Com o intuito de mitigar a instabilidade em sistemas emulsionados, foram então desenvolvidas as emulsões Pickering. A estabilidade dessas emulsões é alcançada através da ocorrência de fenômenos de adsorção irreversível de partículas coloidais na interface entre dois fluidos não miscíveis. (Binks & Lumsdon, 2001). Para desenvolver as emulsões



Pickering, uma variedade de partículas coloidais tem sido utilizadas com sucesso, incluindo colóides inorgânicos e poliméricos, como a sílica. (Binks & Lumsdon, 2000). A quitosana (QUI) é um dos biopolímeros naturais mais abundantes, derivado do exoesqueleto de crustáceos, como camarões (Sogias, Williams e Khutoryanskiy, 2008). Possui diferentes propriedades, incluindo biodegradabilidade, biocompatibilidade, mucoadesividade e baixa toxicidade (Agnihotri; Mallikarjuna & Aminabhavi, 2004).

E umas das técnicas para a produção de nanopartículas de QUI é a gelificação iônica. Essa técnica forma nanopartículas QUI-TPP através de interações eletrostáticas, o tamanho das nanopartículas pode ser controlado variando a proporção entre QUI e TPP, massa molar da quitosana e as condições de reação são suaves em termos de temperatura e pH (Zhang; Oh; Allen e Kumacheva, 2004).

Através então, dessa nova vertente das emulsões, o presente trabalho teve como objetivo a preparação de nanopartículas de quitosana-tripolifosfato, preparadas através da técnica de gelificação iônica, para encapsulamento de curcumina, através da emulsão de Pickering estabilizada, pois a curcumina apresenta consideráveis benefícios fisiológicos, como efeito antioxidante, anticâncer, anti-inflamatório e antienvhecimento (Pan; Wu et al., 2019), que juntamente com a técnica apresenta, evidencia perspectivas promissoras para os setores alimentício, farmacêutico e cosmético.

METODOLOGIA

PREPARO DOS RIZOMAS

Para o preparo da amostra, os rizomas (parte da planta utilizada do açafreão-daterra), foram obtidos no comércio local, na cidade de Apucarana - PR. Deste modo, foram adequadamente lavados, cortados em fatias finas, como demonstrado na Figura 1 abaixo e secos em estufa com circulação e renovação de ar (Solab SL-102) na temperatura de 40 °C, durante 24 h. Após a secagem, os rizomas foram triturados em um mini processador (Black & Decker) para obtenção do pó de rizoma, o qual foi embalado e mantido sob refrigeração (2 – 8 °C) e isolado da interferência de luz para futuras análises.

PREPARO DAS NANOPARTICULAS QUI-TPP

As nanopartículas QUI-TPP foram preparadas através da adaptação do método de gelificação iônica, conforme descrito por Konecni, Low e Nickerson (2012), com pequenas modificações. Em resumo, diferentes soluções de QUI (0,2% e 0,5% em peso) contendo 0,4 g e 1 g, respectivamente, foram preparadas dissolvendo a QUI em uma solução de ácido acético de 0,6 mL e 1,5 mL, que foram então diluídas com água desionizada para atingir um volume total de 200 mL. Essa mistura foi agitada por 8 horas à temperatura ambiente (cerca de 25°C). Uma solução de TPP na concentração de 1,0 mg/ mL foi preparada dissolvendo o pó de TPP em água ultrapura. As partículas foram então



preparadas em diferentes razões QUI:TPP de 5:1, 5:2, adicionando solução de TPP gota a gota, lentamente por um período de 30 minutos, à solução de QUI sob agitação mecânica em 1000 rpm constante. A formação de uma suspensão opalescente indica a formação das partículas.

PREPARAÇÃO DE EMULSÃO PICKERING

Foram preparadas emulsões com teores fixos de ácido N- Caprilico, sendo 5% e 10%, e suspensões aquosas de diferentes concentrações de NPs QUI-TPP (100%, 95%, 90%, 85% e 80% em volume). A mistura foi submetida a homogeneização usando um agitador mecânico a uma velocidade de 10.000 rpm por 10 minutos, e posteriormente, passou por uma homogeneização adicional com um equipamento banho ultrassônico (SSBu) por 5 minutos. A emulsão resultante foi então transferida para frascos âmbar e armazenada em temperatura ambiente, aproximadamente 25°C, para futuros estudos no equipamento DLS (Dynamic Light Scattering) Litesizer 500 (Anton Paar).

ENCAPSULAMENTO DE CURCUMINA NA EMULSÃO PICKERING

A curcumina foi adicionada à fase oleosa em uma concentração determinada com base nos melhores resultados obtidos na etapa anterior. Essa mistura foi aquecida em banho-maria e agitada por 2 horas usando uma agitação magnética para assegurar a completa dissolução da curcumina no ácido N- Caprilico. Em seguida, a mistura foi submetida a uma centrifugação a 14.000 g por 10 minutos para sedimentar qualquer curcumina não dissolvida. As emulsões Pickering com curcumina foi obtida posteriormente, combinando a fase oleosa contendo curcumina com a fase aquosa (NPs QUI-TPP), seguindo o método descrito no parágrafo anterior, novos estudos foram realizados no do equipamento DLS (Dynamic Light Scattering) Litesizer 500 (Anton Paar).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Entre os resultados observados, destacam-se três características físico-químicas que fornecem informações importantes sobre a estabilidade de uma emulsão: o diâmetro hidrodinâmico, o índice de polidispersão (PDI) e o potencial zeta (ζ). O diâmetro hidrodinâmico representa o tamanho das partículas, o PDI indica a distribuição de tamanho das nanopartículas e, geralmente, suspensões coloidais com valores de PDI em torno de 20% são consideradas indicativas de boa estabilidade (Lemarchand et al., 2003).

O índice de polidispersidade ocorre devido à variação no tamanho das partículas em uma amostra, seja por aglomeração ou agregação durante o isolamento ou análise. O PDI é frequentemente determinado usando instrumentos que utilizam a técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS), que foi empregada neste estudo. O valor do PDI é expresso em uma escala de 0 a 1 ou em porcentagem de 0 a 100%. Por outro lado, o



potencial zeta é um parâmetro que reflete a carga superficial das partículas e valores (em módulo) (Mohanraj e Chen, 2006).

E nesta análise, foi possível obter os seguintes resultados, com as devidas concentrações de QUI-TPP e variações de 0,4g e 1g. A Tabela 1 abaixo apresenta os resultados obtidos no DLS, para diâmetro, índice de polidispersão e potencial zeta.

Tabela 1- QUI-TPP.

Varição	Diâmetro (nm) ±DP	Índice de Polidispersão (%) ±DP	Potencial Zeta (mV) ±DP
QUI:TPP - 5:1 (1 g)	1920,93 ± 697,53	28,66 ± 7,32	36,03 ± 1,38
QUI:TPP - 5:2 (1 g)	607,13 ± 121,04	28,36 ± 4,94	23,9 ± 0,59
QUI:TPP - 5:1 (0,4 g)	554 ± 24,67	26,56 ± 2,33	24 ± 0,64
QUI:TPP - 5:2 (0,4 g)	153,73 ± 0,60	23,63 ± 0,33	20,96 ± 0,19

Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

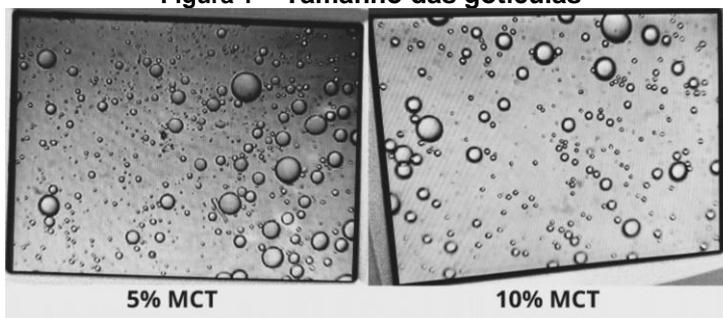
Com base nos resultados apresentados na Tabela 1, observou-se que a melhor performance foi alcançada com a relação QUI:TPP de 5:2, evidenciada pelo diâmetro hidrodinâmico mais satisfatório em comparação com outras proporções. Todos os valores do índice de polidispersão das nanopartículas permaneceram entre 20% e 30%, o que indica uma distribuição estreita e homogênea de tamanhos (Sipoli et al., 2015). Além disso, os valores de potencial zeta, que representam as cargas de superfície das partículas, mantiveram-se em torno de 30 mV, indicando estabilidade na suspensão. É relevante notar que até mesmo os desvios padrão da relação QUI:TPP de 5:2 são consistentes.

Neste estudo, a pesquisa concentrou-se na preparação e na estabilidade da emulsão de Pickering estabilizada com NPs QUI-TPP em diversas condições, com o objetivo de identificar as melhores condições de preparação. Inicialmente, a emulsão foi criada com uma baixa concentração de QUI em peso e várias proporções de emulsificante. Em seguida, aumentou-se a concentração de em peso, e a concentração de emulsificante foi ajustada diluindo a suspensão aquosa de NPs QUI-TPP com água ultrapura para obter diferentes quantidades de emulsificante para a formação da emulsão (Ai Mey; Takashi; Isao e Mitsutoshi, 2009).

A microestrutura das gotículas na emulsão foi analisada e ilustrada na Figura 1 para fins de compreensão do sistema. As gotículas apresentaram uma forma esférica, e visualmente foi observado que o tamanho das partículas aumentou à medida que a quantidade de emulsificante aumentou. Vale ressaltar que, devido à falta de uma barra de escala no Microscópio Biológico BEL (Photonics Technical), não foi possível realizar uma medição precisa do diâmetro das gotas.



Figura 1 – Tamanho das gotículas



Fonte: (Ai Mey, Takashi, Isao e Mitsutoshi, 2009).

Em etapas subsequentes, após a encapsulação da curcumina nas emulsões Pickering e a variação da quantidade de curcumina nas NPs, o resultado mais promissor foi obtido com a formulação que continha 90% de ácido N-Caprílico e 10% de curcumina incorporada, apresentando um diâmetro de 747 nm, e índice de polidispersão de 19%. Diversas combinações de curcumina com o ácido N-Caprílico foram testadas, apresentando diâmetros de até 3865 nm, mas proporção de 90% de ácido N-Caprílico e 10% de curcumina demonstrou ser a mais eficaz com base nos parâmetros descritos na literatura (Li et al., 2013).

CONCLUSÃO

Realizamos uma otimização na preparação da emulsão Pickering estabilizada com NPs QUI-TPP. Inicialmente, as partículas foram preparadas com diferentes razões de QUI-TPP. Para aprimorar a formulação da emulsão, experimentamos diferentes condições de preparação. Durante o armazenamento, observou-se uma variação significativa no diâmetro das gotas.

Além disso, conseguimos encapsular com sucesso a curcumina no sistema de emulsão Pickering estabilizada com NPs QUI-TPP. Em conjunto, esses resultados indicam que a emulsão Pickering estabilizada por NPs QUI-TPP. No entanto, é importante destacar que são necessários estudos adicionais, especialmente no que diz respeito à estabilidade da emulsão ao longo do tempo, para avaliar ainda mais sua viabilidade e eficácia como sistema de entrega.

Agradecimentos

Agradeço ao Núcleo de professores da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) pelo suporte na realização dos experimentos e na análise dos dados.

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.



REFERÊNCIAS

- Agnihotri, SA, Mallikarjuna, NN, & Aminabhavi, TM (2004). Avanços recentes em micro e nanopartículas à base de quitosana na entrega de drogas. **Jornal de Liberação Controlada**, v. 100, p. 5-28.
- Ai Mey, C., Takashi, K., Isao, K., & Mitsutoshi, N. (2009). Efeito da quitosana na estabilidade e propriedades da emulsão monodispersa óleo-em-água estabilizada com lecitina modificada preparada por emulsificação de microcanais. **Hidrocolóides alimentares**, v. 23, p. 600-610.
- Binks, BP, & Lumsdon, SO (2000). Efeitos do tipo de óleo e fase aquosa composição em óleoemisturas de água contendo partículas de hidrofobicidade intermediária. **Físico-Químico**, v. 2, p. 2959-2967.
- Frelichowska, J., Bolzinger, MA, Pelletier, J., Valor, JP, & Chevalier, Y. (2009). Entrega tópica de drogas lipofílicas a partir de emulsões de Pickering o/w. **International Journal of Pharmaceutics**, 371, p. 56-63.
- LEMARCHAND, C., COUVREUR, P., VAUTHIER, C., COSTANTINI, D., GREF, R., 2003. Estudo da estabilização de emulsões por copolímeros de enxerto utilizando o analisador óptico Turbiscan. **Jornal internacional para farmacêuticos**, v. 254, p. 77-88.
- Li, M., Ma, Y., & Cui, J. (2014). Nanoemulsões estabilizadas com proteína de soro de leite como um sistema de entrega potencial para curcumina insolúvel em água. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 59, p. 49-58.
- Mohanraj, V.J. and Chen, Y. (2006). Nanopartículas - A Revisão. **Jornal Tropical de Pesquisa Farmacêutica**, v. 5, p. 561-573.
- Pan, Y., & Nitin, N. (2013). Destino da curcumina encapsulada em sílica Emulsão de Pickering estabilizada com nanopartículas durante o armazenamento e digestão simulada. **Food Research International**, v. 51, p. 370-377.
- Schimitt, V.; Destribats, M.; Backov, R. Colloidal particles as liquid dispersion stabilizer: Pickering emulsions and materials thereof. **Comptes Rendus Physique**, v. 15, p. 761-774, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.crhy.2014.09.010>. Acesso em: 03 ago. 2019.
- Sipoli, C. C., Radaic, A., Santana, N., de Jesus, M. B., & de la Torre, L. G. (2015). Chitosan nanoparticles produced with the gradual temperature decrease technique for sustained gene delivery. **Biochemical Engineering Journal**, v. 103, p. 114-121.
- Sogias, IA, Williams, AC, & Khutoryanskiy, VV (2008). Por que a quitosana muco adesivo? **Biomacromoléculas**, v. 9, p. 1837-1842.
- Zhang, H., Oh, M., Allen, C., & Kumacheva, E. (2004). Quitosana monodispersa nanopartícula para liberação na mucosa. **Biomacromoléculas**, v. 5, p. 2461-2468.