



## Encapsulação de *Lycium barbarum* em sistemas nanoparticulados

### Encapsulation of *Lycium barbarum* in nanoparticle systems

Isabella Salvat Luccas<sup>1</sup>, Caroline Casagrande Sipoli<sup>2</sup>, Rafael Oliveira Defendi<sup>3</sup>, Rúbia Michele Suzuki<sup>4</sup>

#### RESUMO

O *Lycium barbarum* é uma fruta vermelha que ganhou atenção na área medicinal, por apresentar compostos bioativos, uma vez que apresenta alta capacidade anti-inflamatória, anti-câncer e antioxidante. É passível de ser aplicado em indústrias farmacêuticas, cosméticas e em estudos antitumorais. Seus compostos podem ser extraídos e aplicados à sistemas nanoparticulados, estes podendo ser constituídos de polímeros naturais como a zeína, o caseinato de sódio e a quitosana. Este trabalho teve como objetivo a encapsulação do extrato de *Lycium barbarum* em nanopartículas de zeína-caseinato de sódio e zeína-caseinato de sódio-quitosana, utilizando diferentes concentrações do extrato de gojiberry, com extração realizada em ultrassom, durante 6,71 min e 45 °C, buscando uma posterior aplicação nas indústrias farmacêuticas e de cosméticos. O estudo visou entender como as nanopartículas carregadas de extrato se comportariam quando adicionado um revestimento de quitosana, analisando o tamanho de partículas, o índice de polidispersividade e o potencial zeta das mesmas, afim de viabilizar sua aplicação.

**PALAVRAS-CHAVE:** extração; nanopartículas; polímeros naturais.

#### ABSTRACT

*Lycium barbarum* is a red fruit that has gained focus in the medicinal area, as it contains bioactive compounds, as it has high anti-inflammatory, anti-cancer and antioxidant capacity. It can be applied in pharmaceutical and cosmetic industries and in antitumor studies. Its compounds can be extracted and applied to nanoparticle systems, which can be made up of natural polymers such as zein, sodium caseinate and chitosan. This work aimed to encapsulate *Lycium barbarum* extract in nanoparticles of sodium zein-caseinate and sodium zein-caseinate-chitosan, using different concentrations of gojiberry extract, with extraction carried out using ultrasound, for 6.71 min and 45 °C, seeking subsequent application in the pharmaceutical and cosmetics industries. The study aimed to understand how extract-loaded nanoparticles would behave when a chitosan coating was added, analyzing their particle size, polydispersity index and zeta potential, in order to enable their application.

**KEYWORDS:** extraction; nanoparticles; natural polymers.

#### INTRODUÇÃO

As frutas fornecem vitaminas e minerais indispensáveis à saúde humana, garantindo o bom funcionamento, além de hidratar e oferecerem sensação de saciedade (EDUCAÇÃO, 2015). Dentre todas, as frutas vermelhas têm ganhado grande destaque, uma vez que apresentam propriedades anti-inflamatórias e podem prevenir o envelhecimento precoce da pele e de doenças cancerígenas (NISHIKITO et al., 2023).

<sup>1</sup> Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil. E-mail: isabellasalvat@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 4550213018209855.

<sup>2</sup> Docente de Pós-Graduação em Engenharia Química (PPGEQ-AP). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil. E-mail: carolinesipoli@utfpr.edu.br. ID Lattes: 8845341087624651.

<sup>3</sup> Docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química (PPGEQ-AP). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil. E-mail: rafaeldefendi@utfpr.edu.br. ID Lattes: 7640642191763213.

<sup>4</sup> Docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química (PPGEQ-AP). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil. E-mail: rubiasuzuki@utfpr.edu.br. ID Lattes: 3718123505118681.



O gojiberry (*Lycium barbarum*) é um exemplo de fruta vermelha oriundo da China, com grande potencial antioxidante, que ganhou destaque como planta medicinal por apresentar alta capacidade de reagir com radicais livres e habilidade de quelar íons de ferro (SILVA et al., 2014; DEGÁSPARI et al., 2004), devido a presença de grupos fenólicos em sua composição.

A fim de aumentar a aplicabilidade dos extratos produzidos com gojiberry, bem como preservar o tamanho, características e dispersão de substâncias de interesse sem degradá-los, estuda-se a incorporação em sistemas nanoparticulados (GHARSALLAOUI et al., 2007; ZARBIN, 2007), sendo esses mais rentáveis quando utilizados polímeros naturais, como a zeína, caseinato de sódio e quitosana, uma vez que os mesmos apresentam ampla aplicação para encapsular compostos bioativos.

Dos polímeros naturais possíveis, temos a Zeína, proteína hidrofóbica encontrada no milho, tendo como principal vantagem o seu baixo custo e sua facilidade em formar nanopartículas (LUO; WANG, 2014). O Caseinato de Sódio, por sua vez, caracteriza-se como um estabilizador para nanopartículas de Zeína (PATEL et al., 2010), sendo formado pela dissolução de caseína numa solução básica, que tem capacidade emulsificante, estabilizante e de controle de retenção de água (HOVEN, 1987).

Como forma de dar estabilidade às nanopartículas propostas, pode-se adicionar um revestimento de Quitosana, que é caracterizado por ser um polímero atóxico, biodegradável, biocompatível, produzido por fontes naturais renováveis e de baixo custo (AZEVEDO et al., 2007; SILVA et al., 2006).

Desse modo, este trabalho buscou realizar a encapsulação do extrato de gojiberry em nanopartículas de zeína-caseinato de sódio e zeína-caseinato de sódio-quitosana e a caracterização das nanopartículas sintetizadas, quanto ao tamanho de partícula, potencial Zeta e índice de polidispersividade (PDI), testando a sua estabilidade.

## METODOLOGIA

### AMOSTRAGEM

O *Lycium barbarum* foi comprado em loja de produto natural da cidade de Apucarana, no estado do Paraná, já em sua forma desidratada. O gojiberry passou pelo processo de liofilização, trituração e peneiramento, até que se obtivesse uma mistura homogênea. As amostras foram mantidas refrigeradas e fora do alcance da luz.

### PREPARO DAS AMOSTRAS

Os extratos foram preparados em duplicata com 5,0 g de gojiberry em 50,0 mL do solvente etanol:água, na proporção (v/v) 60:40, segundo estudos descritos na literatura (PEIXOTO, 2023). A extração foi realizada usando banho ultrassônico (Lavadora Ultrassônica L-200, 36000 Hz), à 45 °C por 6,71 min, segundo a literatura (PEIXOTO, 2023). Os extratos foram filtrados a partir da filtração simples e o volume foi ajustado para 50,0 mL, armazenados em frasco âmbar sob refrigeração e ao abrigo da luz.

### PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

Para o preparo das nanopartículas utilizou a metodologia modificada baseada no método de separação antissolvente (LIU et al., 2019; ZHANG & HAN, 2018). Dissolveu-se zeína em uma solução etanol:água (85:15, v/v) na concentração de 20 mg mL<sup>-1</sup>, mantida em agitação magnética por 1h, por aproximadamente 6000 rpm. Separadamente, preparou-



se uma solução aquosa de caseinato de sódio na concentração  $0,0053 \text{ g mL}^{-1}$ , mantida sob agitação magnética por 45min. Para o revestimento, preparou-se uma solução de quitosana baixo peso molecular 0,1% (0,2 g de quitosana em solução 2 mL de ácido acético em 198 mL de água), mantida sob agitação mecânica por 6 h.

A solução de zeína foi gotejada lentamente na solução de caseinato de sódio e mantida sob agitação magnética por 2 h e posteriormente rotaevaporada e centrifugada por 20 min a 9000 rpm, tendo seus volumes ajustados para 100 mL. Para adição do revestimento de quitosana, separou-se um volume da solução de quitosana igual ao volume obtido na produção das nanopartículas revestidas com caseinato de sódio. A solução de zeína + caseinato foi gotejada lentamente na solução de quitosana, mantida sob agitação magnética por 2 h, em aproximadamente 6000 rpm.

Preparou-se nanopartículas carregadas com extrato do gojiberry nas proporções (m/m) de 0, 5, 10 e 20%. A incorporação do extrato ocorreu no mesmo recipiente que continha zeína. A caracterização das nanopartículas foi realizada em aparelho DLS (Dynamic Light Scattering) Litesizer 500 (Anton Paar) quanto ao Diâmetro Hidrodinâmico, Índice de Polidispersividade (PDI) e Potencial Zeta.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo Kim e Xu (2008), as moléculas de zeína tendem a agregar-se dependendo da composição do solvente, o que pode gerar problemas na estabilidade da suspensão coloidal aquosa formada. As nanopartículas de zeína tendem a formar agregados devido à alta hidrofobicidade superficial (DAVIDOV-PARDO et al., 2015), o que pode ser amenizado por um recobrimento com materiais que aumentem a repulsão eletrostática destas partículas. Utilizou-se, para isso, o caseinato de sódio. Os resultados das nanopartículas contendo zeína, caseinato e carregadas pelo extrato de gojiberry foram expressos na Tabela 1.

**Tabela 1 – Nanopartículas de Zeína - Caseinato**

Proporção	Diâmetro (nm)	PDI (%)	Zeta (mV)
0%	$213,00 \pm 8,64$	$19,2 \pm 2,6$	$-32,0 \pm 0,7$
5%	$218,60 \pm 15,72$	$19,7 \pm 4,0$	$-31,3 \pm 0,5$
10%	$249,70 \pm 11,62$	$20,3 \pm 5,3$	$-30,0 \pm 1,0$
20%	$239,50 \pm 23,85$	$22,4 \pm 2,7$	$-30,4 \pm 0,2$

Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

O Diâmetro Hidrodinâmico representa o tamanho médio das partículas contidas na suspensão e informa sobre a estabilidade da nanopartícula formada. O Índice de Polidispersividade (PDI) representa a homogeneidade do tamanho das partículas. O Potencial Zeta indica a carga superficial de partículas, onde valores inferiores a -30 mV e superiores a 30 mV sugerem estabilidade na suspensão, uma vez que a carga superficial impede a agregação de partículas (CHEN, MOHANRAJ & PARKIN, 2003).

Percebe-se um valor discrepante para as nanopartículas de 10 e 20%, uma vez que o tamanho de partícula aumenta de forma desproporcional conforme a proporção de extrato aumenta. Para a nanopartícula carregada em 5%, tantos os valores de diâmetro, quando PDI e potencial zeta se mostram condizentes ao que a literatura sugere. Segundo



Bhattacharjee (2016), o PDI entre 10 e 40%, são considerados moderadamente polidispersos, com partículas estáveis (zeta inferior a -30 mV).

Afim de aumentar a estabilidade das nanopartículas e sua possível aplicabilidade na indústria farmacêutica, foi adicionado um revestimento de quitosana às nanopartículas inicialmente descritas. Os resultados das nanopartículas contendo zeína, caseinato, quitosana e carregadas pelo extrato de gojiberry foram expressos na Tabela 2.

**Tabela 2 – Nanopartículas de Zeína – Caseinato - Quitosana**

Proporção	Diâmetro (nm)	PDI (%)	Zeta (mV)
0%	307,10 ± 16,49	10,7 ± 5,9	43,9 ± 1,0
5%	355,10 ± 16,32	15,9 ± 3,0	48,1 ± 2,3
10%	422,40 ± 12,22	14,5 ± 2,0	47,8 ± 0,9
20%	405,80 ± 17,38	24,5 ± 0,8	46,4 ± 1,6

Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

O Diâmetro Hidrodinâmico para as nanopartículas revestidas de quitosana aumentou consideravelmente. Esse aumento é explicado pela adição da quitosana como revestimento em nanopartículas já formadas, formando camadas adicionais (HIDALGO et al., 2017).

Aliando os fatores diâmetro hidrodinâmico, PDI e Potencial Zeta, a nanopartícula zeína-caseinato-quitosana carregada com 5% de extrato, apresentou maior estabilidade, tendo menor tamanho de partícula e maior potencial zeta. No entanto, o revestimento das partículas com quitosana gerou um aumento considerável de aproximadamente 60% para todas as proporções testadas.

Utilizando a mesma metodologia descrita, Pauluk et al., (2019), encontraram para nanopartículas de zeína-caseinato de sódio revestidas com quitosana carregadas de resveratrol, diâmetro hidrodinâmico de 295 ± 38 nm, PDI de 20% ± 0.04, Potencial Zeta de +29.7 ± 1.2 mV.

## CONCLUSÃO

A caracterização das nanopartículas propostas mostrou que a proporção de 5% de extrato gerou nanopartículas mais estáveis para o sistema zeína-caseinato de sódio, tanto com e sem revestimento de quitosana. A estabilidade da partícula e seu diâmetro hidrodinâmico tornam possível e viável sua aplicação nas indústrias farmacêuticas, cosméticas, bem como em estudos antitumorais.

## Agradecimentos

A Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro. Ao Laboratório Multiusuário do Campus Apucarana (LAMAP), pela estrutura fornecida para realização das análises.

## Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.



## REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, V. V. C. et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. *Revista eletrônica de Materiais e processos*, [S. L], v. 2, n. 3, p. 27-34, 2007. Disponível em: [https://www2.ibb.unesp.br/Museu\\_Escola/4\\_diversidade/alimentacao/Textos/Quitina\\_Quitosana.pdf](https://www2.ibb.unesp.br/Museu_Escola/4_diversidade/alimentacao/Textos/Quitina_Quitosana.pdf). Acesso em: 6 set. 2023.
- BHATTACHARJEE, S. (2016) DLS and Zeta Potential-What They Are and What They Are Not? **Journal of Controlled Release**, 235, 337-351. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017>
- CHEN, Y., MOHANRAJ, V.J., PARKIN, J.E., Chitosan dextran sulfate nanoparticles for delivery of an anti angiogenesis peptide, *Lett. Peptide Sci.* 10, 627, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10989-004-2433-4>. Acesso em: 7 set. 2023.
- DAVIDOV-PARDO, G.; JOYE, I. J.; ESPINAL-RUIZ, M.; MCCLEMENTS, D. J. Effect of Maillard Conjugates on the Physical Stability of Zein Nanoparticles Prepared by Liquid Antisolvent Coprecipitation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 38, p.8510–8518, 30 set. 2015.
- DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades Antioxidantes de compostos Fenólicos. *Visão Acadêmica*. Curitiba: v.5, n.1, p.1-8, 2004
- EDUCAÇÃO, Governo do Estado de São Paulo - Secretaria de. **Nutriinformativo**. 2015. Disponível em: <http://www.educacao.sp.gov.br/cise/wp-content/uploads/2015/01/Nutrinformativo-Janeiro-e-Fevereiro2015.pdf>. Acesso em: 1 set. 2023.
- GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food research international*, [S. L], v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996907001238>. Acesso em: 9 set. 2023.
- HIDALGO, T.; et al. Chitosan coated mesoporous MIL 100(Fe) nanoparticles as improved bio compatible oral nanocarriers. **Scientific Reports**, 7(January), 1–14, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep43099>. Acesso em: 7 set. 2023.
- HOVEN, M. Van den. Functionality of dairy ingredients in meat products. **Food Technology** [S.l.] p. 72-77, et. 1987.
- KIM, S.; XU, J. Aggregate formation of zein and its structural inversion in aqueous ethanol. **Journal of Cereal Science**, v. 47, n. 1, p. 1-5, 2008.
- LIU, Q. et al. Encapsulation of curcumin in sodium zein/caseinate/alginate nanoparticles with enhanced physicochemical and controlled release properties. **Food Hydrocolloids**, [S. L], v. 93, p. 432-442, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X18316187>. Acesso em: 9 set. 2023.
- LUO, Y.; WANG, Q. Zein-based micro- and nano-particles for drug and nutrient delivery: A review. **Journal of Applied Polymer Science**. v.131. p.1-12. 2014.



NISHIKITO DF, BORGES ACA, LAURINDO LF, OTOBONI AMMB, DIREITO R, GOULART RA, NICOLAU CCT, FIORINI AMR, SINATORA RV, BARBALHO SM. Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Other Health Effects of Dragon Fruit and Potential Delivery Systems for Its Bioactive Compounds. *Pharmaceutics*. 2023 Jan 3;15(1):159. doi: 10.3390/pharmaceutics15010159. PMID: 36678789; PMCID: PMC9861186.

PATEL, A. R.; BOUWENS, E. C.; VELIKOV, K. P. Sodium caseinate stabilized zein colloidal particles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, [S. L], v. 58, n. 23, p.12497-12503, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21077613/>. Acesso em: 2 set. 2023.

PAULUK, D. et al. Chitosan-coated zein nanoparticles for oral delivery of resveratrol: Formation, characterization, stability, mucoadhesive properties and antioxidant activity. *Food hydrocolloids*, [S. L], v. 94, p. 411-417, 2019. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/332015485\\_Chitosan-coated\\_zein\\_nanoparticles\\_for\\_oral\\_delivery\\_of\\_resveratrol\\_Formation\\_characterization\\_stability\\_mucoadhesive\\_properties\\_and\\_antioxidant\\_activity](https://www.researchgate.net/publication/332015485_Chitosan-coated_zein_nanoparticles_for_oral_delivery_of_resveratrol_Formation_characterization_stability_mucoadhesive_properties_and_antioxidant_activity). Acesso em: 8 set. 2023.

PEIXOTO, Fernanda Barroso. Otimização da extração de compostos bioativos do gojiberry e incorporação em nanolipossomas para aplicação em células tumorais. 2023. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, 2023.

SILVA, H. et al. Chitosan: water-soluble derivatives, pharmaceutical applications and advances. *Química Nova*, [S. L], v. 29, p. 776-785, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/b7yv8vDNz3H7nQSjrSHkbpj/abstract/?lang=en>. Acesso em: 1 set. 2023.

SILVA, Juno Ceniz Fernandes; DEGÁSPARI, Cláudia Helena. NUTRITIONAL PROPERTIES AND ADVERSE EFFECTS OF "GOJI BERRY" - (*Lycium barbarum* L.). *Visão Acadêmica*, [S.I.], v. 15, n. 3, set. 2014. ISSN 1518-8361. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/academica/article/view/39992/24440>>. Acesso em: 1 set. 2023. doi:<http://dx.doi.org/10.5380/acd.v15i3.39992>

ZARBIN A.J. G. Química de (nano) materiais. *Quim. Nova*, Vol. 30, No. 6, 1469-1479, 2007.

ZHANG, S.; HAN, Y. Preparation, characterisation and antioxidant activities of rutin-loaded zein-sodium caseinate nanoparticles. *PLoS One*, [S. L], v. 13, n. 3, p. 194, 2018. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0194951>. Acesso: 5 set. 2023.