

Obtenção de Nanopartículas de Betacaroteno

RESUMO

Leticia Yumi Sugahara
leticia.sugahara@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Campo Mourão, Paraná,
Brasil

Felipe Rocha
felipe_rocha@live.it
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Campo Mourão, Paraná,
Brasil

Odinei Hess Gonçalves
odinei@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Campo Mourão, Paraná,
Brasil

OBJETIVO: Obter nanopartículas de betacaroteno pelo método da sonicação utilizando poli(vinil pirrolidona) como estabilizante coloidal, bem como, sua caracterização em termos de tamanho das partículas, índice de polidispersão, estabilidade e características estruturais. **MÉTODOS:** Foram utilizadas as técnicas de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), Espectroscopia de Infravermelho (FTIR), Dispersão Dinâmica de Luz (DLS) e Microscopia eletrônica de Transmissão (MET) para caracterização das nanopartículas obtidas. **RESULTADOS:** Os resultados indicam que houve a formação de nanopartículas cristalinas de betacaroteno com as mesmas propriedades térmicas (entalpia e temperatura de fusão) do betacaroteno convencional. Na análise de FTIR, foram encontrados os picos de absorção em 2950 cm^{-1} e 2913 cm^{-1} (alongamentos assimétricos e simétricos do CH_2 , respectivamente) e em 959 cm^{-1} (alqueno conjugado). Os nanocristais apresentaram tamanhos da ordem de $91 \pm 14\text{ nm}$ e índice de polidispersão dos tamanhos de $0,32 \pm 0,06$. **CONCLUSÕES:** Foi possível a transformação do betacaroteno em nanocristais pela aplicação de ultrassom e uso de poli(vinil pirrolidona) como estabilizante. O material apresentou estabilidade coloidal em água, resultante do seu reduzido tamanho e consequente aumento da área superficial total. A partir das análises térmica e espectroscópica foi possível observar que não houve alteração da estrutura química do betacaroteno após a nanoparticulização. Sendo assim, esse material pode ser utilizado em futuras aplicações como corante em produtos alimentícios.

PALAVRAS-CHAVE: Betacaroteno. Nanopartículas. Poli(vinil pirrolidona).

1. INTRODUÇÃO

O betacaroteno é um precursor da vitamina A, um pigmento natural que está presente em vários tipos de frutas, verduras, legumes e alguns animais. Este carotenoide contribui para a saúde humana, pois possui propriedades antioxidantes, reduz o risco de câncer, previne doenças cardíacas, além de fortalecer o sistema imunológico [1] [3]. O betacaroteno é pouco solúvel em água e muito sensível à luz e ao calor, por ser um composto apolar de cadeia longa com duplas ligações conjugadas e estruturas insaturadas [3].

Apesar de possuir diversas propriedades funcionais, a sua biodisponibilidade é baixa, pois o betacaroteno tem caráter hidrofóbico, o que faz com que a sua solubilidade em água seja pequena, diminuindo assim, sua absorção pelo organismo [3]. A transformação do betacaroteno em partículas de tamanho nanométrico é uma alternativa para aumentar a sua biodisponibilidade e a absorção intracelular pelos tecidos, devido à sua pequena dimensão e consequente grande área superficial total. A solubilidade é aumentada com o uso do polímero poli(vinil pirrolidona) que é solúvel tanto em compostos polares quanto apolares [3] [5]. Tachibana; Nakamura (1965) [5] usaram a técnica da dispersão do betacaroteno por poli(vinil pirrolidona) para fazer a encapsulação, obtendo como resultado uma solução coloidal, com partículas de 100 μm de diâmetro. Foi observado que praticamente não houve interação do betacaroteno com o PVP, ele agiu como um solvente sólido para o betacaroteno e ao mesmo tempo, um agente estabilizante para a solução coloidal aquosa. Pelo fato de o PVP possuir caráter hidrofílico e lipofílico, apresenta a capacidade de dissolver o betacaroteno no PVP e proteger as nanopartículas na dispersão aquosa.

Esse trabalho tem como objetivo obter nanopartículas de betacaroteno pelo método da dispersão do betacaroteno através da poli(vinil pirrolidona), que atua como estabilizante. Estas foram caracterizadas quanto ao tamanho das partículas, índice de polidispersão dos tamanhos, solubilidade a 25°C e cristalinidade.

2. MÉTODOS

2.1 MATERIAIS

Betacaroteno (Sigma-Aldrich, 97%), poli(vinil pirrolidona) (PVP, Sigma-Aldrich, 99%) e etanol (99,8%) foram utilizados na obtenção das nanopartículas. Água destilada foi utilizada nos ensaios de solubilidade. KBr (Sigma-Aldrich, padrão espectroscópico) foi utilizado nas análises de Espectroscopia de Infravermelho.

2.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE BETACAROTENO

Para a produção das nanopartículas de betacaroteno, etanol (37,5 mL) e PVP (0,9 g) foram agitados magneticamente a fim de obter uma mistura de homogênea por aproximadamente 5 minutos. Após a homogeneização, foi adicionado betacaroteno (0,090 g, resultando em uma proporção em massa de PVP e betacaroteno de 10:1, respectivamente) ainda sob agitação magnética por 10 minutos. O surfactante Tween 80 (0,075 g) foi adicionado na solução por mais 5 minutos sob agitação constante.

A solução obtida foi colocada em um aparelho de sonicação (Fisher Scientific, 120W e ponteira de 1/8") em banho de gelo por 3 minutos, em pulsos de 30 segundos ligado e 10 segundos desligado. Em seguida, as nanopartículas foram levadas a uma estufa de circulação de ar para evaporação do etanol a 60°C por 24 horas.

O tamanho médio das partículas (D) foi calculado e o índice de polidispersão dos tamanhos (PDI, adimensional) foram determinados por Dispersão de Luz Dinâmica (DLS, Malvern Zetasizer – Nano Series) utilizando detecção a 173° em amostras sem diluição prévia. O PDI foi calculado utilizando o desvio padrão (σ) da curva de distribuição de tamanhos pela Equação 1:

$$PDI = \frac{\sigma^2}{D^2} \quad (\text{Equação 1})$$

A técnica de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC, Perkin Elmer, DSC4000) foi empregada para avaliar as características térmicas dos compostos utilizados na obtenção das nanopartículas de betacaroteno. As nanopartículas foram lavadas com o objetivo de retirar o PVP. O procedimento de lavagem foi realizado da seguinte forma: foram pesados 400 mg de nanopartículas e pipetado 1,5 mL de água destilada, as nanopartículas com a água destilada foram colocadas em um eppendorf e centrifugadas a 14500 rpm por 30 min, após a primeira centrifugação, o sobrenadante foi recolhido em dois eppendorfs e centrifugado novamente, o sobrenadante das próximas centrifugações foram descartadas, esse procedimento foi repetido até o sobrenadante se apresentar límpido. Por fim, o sobrenadante foi descartado e os eppendorfs tampados e liofilizados. Foram pesados 5 a 15 mg do analito em porta amostras de alumínio (PVP puro, betacaroteno puro, nanopartículas lavadas e das misturas físicas nas proporções de 2:1, 5:1, 10:1 e 15:1 em massa de PVP e betacaroteno, respectivamente) com fluxo de nitrogênio gasoso de 50 mL.min⁻¹ de 0 a 300°C e taxa de aquecimento de 20 °C.min⁻¹.

Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR, Frontier Perkin Elmer) foi empregada para caracterizar o composto e verificar as interações entre o PVP e o betacaroteno nas nanopartículas. As análises foram feitas com resolução de 1 cm⁻¹, de 4500 a 500 cm⁻¹ utilizando 32 scans cumulativos e pastilhas de KBr (1% em massa de analito).

A caracterização morfológica das nanopartículas foi feita utilizando Microscopia de Transmissão Eletrônica (TEM; JEOL model JEM 2100, 200 kV). Amostras diluídas foram gotejadas em grids de cobre cobertas de parlódio de 300 mesh e secas por 4 horas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE BETACAROTENO

A Figura 1 apresenta imagens de dispersões das nanopartículas e do betacaroteno em água na concentração de 500 µM.mL⁻¹. A Figura 2 apresenta os termogramas do PVP puro, do betacaroteno, da mistura física e das nanopartículas lavadas. Na Tabela 1 são apresentadas a entalpia e temperatura de fusão do betacaroteno puro, das misturas físicas PVP:betacaroteno (15:1, 10:1, 5:1 e 2:1 m:m) e das nanopartículas lavadas. A Figura 3 apresenta o termograma das misturas físicas citadas anteriormente.

Figura 1 – Dispersão em água (a) de nanopartículas de betacaroteno e (b) de betacaroteno convencional



Os resultados indicam um acréscimo da solubilidade na encapsulação do betacaroteno com PVP, como pode ser visto na Figura 1, onde a mesma quantidade de betacaroteno (concentração de 500 µM.mL⁻¹) na forma de nanopartículas e na forma convencional foi dispersa em água, pois as nanopartículas formaram uma estrutura coloidal estável em água.

Figura 2 – Termogramas do PVP puro, betacaroteno (BC), mistura física 15:1 (proporção mássica PVP:BC) e nanopartículas (NP) lavadas

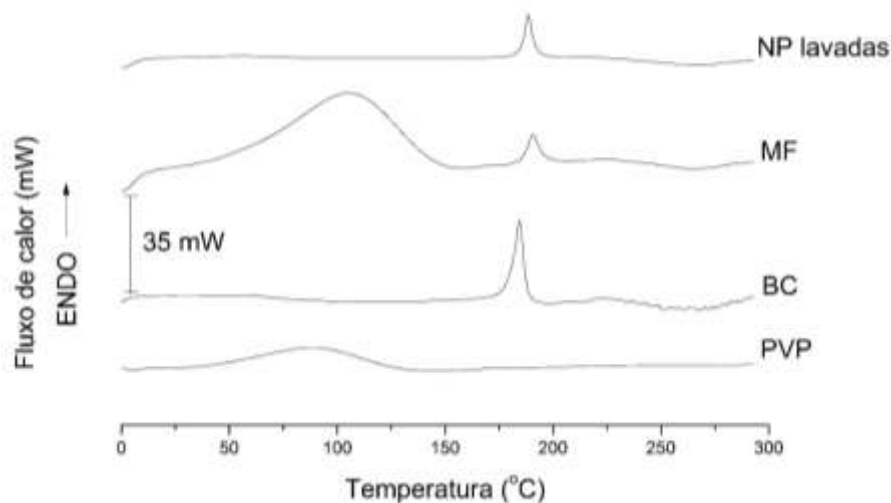
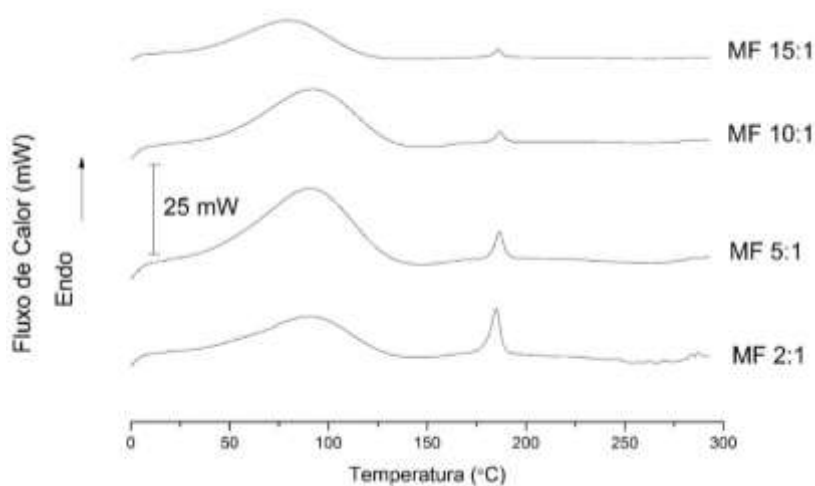


Tabela 1 – Entalpia e temperatura de fusão do betacaroteno puro, misturas físicas (2:1, 5:1, 10:1, 15:1 na proporção PVP:betacaroteno em massa) e nanopartículas lavadas

Composto	$\Delta H_{\text{fusão betacaroteno}} (\text{J.g}^{-1})$	T(°C)
Betacaroteno puro	103,9	184,6
Mistura física 2:1	167,1	185,1
Mistura física 5:1	231,6	186,6
Mistura física 10:1	202,6	186,8
Mistura física 15:1	192,5	190,5
Nanopartículas lavadas	158,9	188,6

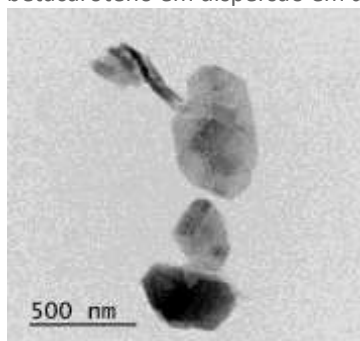
Figura 3 - Termograma das misturas físicas 15:1, 10:1, 5:1 e 2:1 (proporção PVP:betacaroteno em massa).



A Figura 4 apresenta uma imagem obtida pela Microscopia de Transmissão Eletrônica. Foi observado cristais nanométricos de betacaroteno de formato esférico. Reksamunandar et al. (2017) [3] também encontraram formato esférico para nanopartículas de betacaroteno com PVP produzidas pela técnica de *electrospinning* em todas as proporções em massa de PVP e betacaroteno utilizadas. Foi encontrado um tamanho médio de partículas de 91 ± 14 nm e um índice de polidispersão de $0,317 \pm$

0,065. Reksamunandar et al. (2017) [3] encontraram um tamanho médio de partículas de betacaroteno encapsuladas com polivinilpirrolidona (PVP) por *electrospinning* de 306 nm. A diferença pode ser explicada pela técnica de obtenção utilizada influencia a morfologia final das nanopartículas.

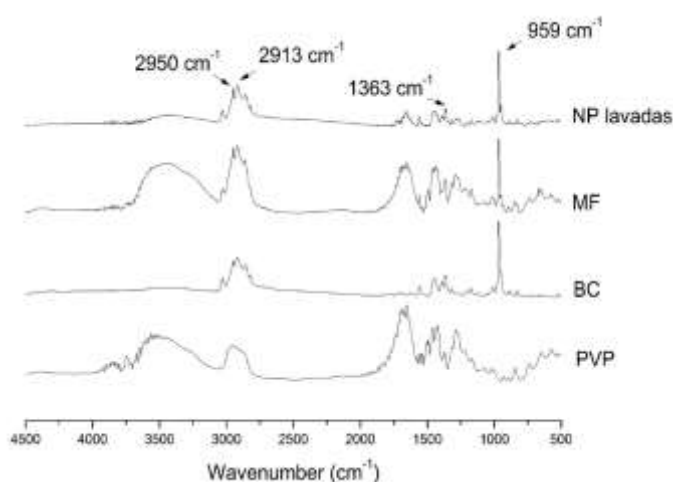
Figura 4 – Imagens obtidas por microscopia de transmissão eletrônica de nanopartículas de betacaroteno em dispersão em água



Foi encontrada uma temperatura de fusão para o betacaroteno puro de 184,6°C. Yi et al. (2015) [6] determinaram uma temperatura de fusão de 192,6°C para esse composto. As temperaturas de fusão do betacaroteno para a mistura física e para as nanopartículas lavadas foram 190,5°C e 188,6°C, respectivamente. As temperaturas obtidas são ligeiramente maiores que a encontrada para o betacaroteno puro, possivelmente pela interação entre o composto e o agente encapsulante. É possível notar que a cristalinidade do betacaroteno não foi afetada na produção de nanopartículas. Nas misturas físicas de PVP e betacaroteno foram observados os picos de ambos os compostos para todas as proporções analisadas, com pontos de fusão ligeiramente próximos para o betacaroteno.

A Figura 5 apresenta o espectro infravermelho com transformada de Fourier do PVP, do betacaroteno, da mistura física 10:1 (proporção PVP: betacaroteno), e das nanopartículas lavadas.

Figura 5 - Espectro infravermelho do PVP, betacaroteno (BC), mistura física 10:1 (proporção mássica PVP: betacaroteno), e nanopartículas lavadas



No espectro FTIR do betacaroteno puro, os picos indicados em 2950 cm⁻¹ e 2913 cm⁻¹ são os alongamentos assimétricos e simétricos do CH₂, respectivamente. O pico representado no número de onda de 959 cm⁻¹ indica o alqueno conjugado. A banda em 1363 cm⁻¹ é característica dos anéis de β-ionona do betacaroteno [4]. O espectro encontrado do betacaroteno puro foi similar aos espectros obtidos por Rubio-Diaz et al.

(2010), Yi et al. (2015) e Jain et al. (2016) [4] [6] [2]. Em relação às nanopartículas de betacaroteno, não foram encontradas alterações nos picos de absorção após a produção das nanopartículas, indicando a formação de um coloide entre o PVP e o betacaroteno. Ainda, para as misturas físicas (gráficos não apresentados) foram encontrados os picos característicos do betacaroteno e do PVP para todas as proporções analisadas.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi demonstrado que a transformação do betacaroteno em nanocristais é possível pela aplicação de ultrassom e utilizando poli(vinil pirrolidona) como estabilizante. O material apresentou estabilidade coloidal em água devido à diminuição do tamanho das partículas e consequente aumento da área superficial total. As análises térmicas e espectroscópicas mostraram que não houve alteração da estrutura química do betacaroteno. Esse material pode ser utilizado em futuras aplicações como, por exemplo, seu uso como corante em produtos alimentícios.

Obtention of beta-carotene nanoparticles

ABSTRACT

OBJECTIVE: Obtain nanoparticles of beta-carotene by sonication using poly(vinylpyrrolidone) as a colloidal stabilizer, as well as their characterization in terms of particle size, polydispersity index, stability and structural characteristics. **METHODS:** Differential Calorimetry (DSC), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Dynamic Light Scattering (DLS) and Transmission Electron Microscopy (TEM) was used to characterize the obtained nanoparticles. **RESULTS:** The results indicate the formation of crystalline beta-carotene nanoparticles with the same thermal properties (enthalpy and melting temperature) of conventional beta-carotene. In the FTIR analysis, the absorption peaks were found at 2950 cm^{-1} and 2913 cm^{-1} (asymmetric and symmetric stretches of CH_2 , respectively) and at 959 cm^{-1} (conjugated alkene). The nanocrystals had sizes of the order of $91 \pm 14\text{ nm}$ and polydispersion index of the sizes of 0.32 ± 0.06 . **CONCLUSIONS:** It was possible to convert beta-carotene into nanocrystals by applying ultrasound and poly(vinyl pyrrolidone) as stabilizer. The material presented colloidal stability in water, resulting from its reduced size and consequent increase of the total surface area. From the thermal and spectroscopic analyzes it was possible to observe that there was no change in the chemical structure of beta-carotene after nanoparticularization. Therefore, this material can be used in future applications as a dye in food products.

KEYWORDS: Betacarotene. Nanoparticles. Poly(vinylpyrrolidone).

REFERÊNCIAS

- [1] GORAJANA, A.; RAJENDRAN, A.; YEW, L. M.; DUA, K. Preparation and characterization of cefuroxime axetil solid dispersions using hydrophilic carriers. **International journal of pharmaceutical investigation**, v. 5, n. 3, p. 171–8, 2015. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4522867&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>.
- [2] JAIN, A.; THAKUR, D.; GHOSHAL, G.; KATARE, O. P.; SHIVHARE, U. S. International Journal of Biological Macromolecules Characterization of microcapsulated β -carotene formed by complex coacervation using casein and gum tragacanth. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 87, p. 101–113, 2016. Elsevier B.V.
- [3] REKSAMUNANDAR, R. P.; EDIKRESNHA, D.; MUNIR, M. M.; DAMAYANTI, S.; KHAIRURRIJAL. Encapsulation of β -carotene in poly(vinylpyrrolidone) (PVP) by Electrospinning Technique. **Procedia Engineering**, v. 170, p. 19–23, 2017. The Author(s). Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1877705817311098>>.
- [4] RUBIO-DIAZ, D. E.; DE NARDO, T.; SANTOS, A.; et al. Profiling of nutritionally important carotenoids from genetically-diverse tomatoes by infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 120, n. 1, p. 282–289, 2010. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.060>>.
- [5] TACHIBANA, T.; NAKAMURA, A. A Methode for Preparing an Aqueous Colloidal Dispersion of Organic Materials by Using Water-Soluble Polymers: Dispersion of β -Carotene by Polyvinylpyrrolidone. **Kolloid-Zeitschrift und Zeitschrift für Polymere**, p. 130–133, 1965.
- [6] YI, J.; LAM, T. I.; YOKOYAMA, W.; CHENG, L. W.; ZHONG, F. Beta-carotene encapsulated in food protein nanoparticles reduces peroxy radical oxidation in Caco-2 cells. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 31–40, 2015. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.04.028>>.

Recebido: 31 ago. 2017.

Aprovado: 02 out. 2017.

Como citar:

SUGAHARA, L. Y. et al. Obtenção de Nanopartículas de Betacaroteno. SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA UTFPR, 22., 2017, Londrina. **Anais eletrônicos...** Londrina: UTFPR, 2017. Disponível em: <<https://eventos.utfpr.edu.br/sicite/sicite2017/index>>. Acesso em: XXX.

Correspondência:

Leticia Yumi Sugahara

Via Rosalina Maria Dos Santos, 1233, Campo Mourão, Paraná, Brasil.

Direito autoral:

Este resumo expandido está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição-Não Comercial 4.0 Internacional.

