

Obtenção e caracterização de nanopartículas contendo luteína

Production and characterization of nanoparticles containing lutein

RESUMO

Byanca Pereira Moreira de Oliveira
byancaoliveira@alunos.utfpr.edu.br
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

Os carotenoides compõem um grupo de pigmentos naturais que trazem inúmeras vantagens à saúde humana. A luteína pertence a esse grupo e possui uma coloração amarela intensa, além de inúmeras atividades biológicas como antioxidantes, anti-inflamatória, entre outras. A nanoencapsulação é necessária, dependendo da aplicação final a que se destina, pois, a luteína é um composto pouco solúvel em água, muito sensível e com baixa disponibilidade. Este trabalho teve como objetivo obter nanopartículas de luteína em matrizes de Poloxamer 407 ou em poli(vinil pirrolidona), além de realizar a caracterização das partículas por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR). Foi demonstrado que a afinidade pela água da luteína foi grandemente aumentada após a sua encapsulação. Os dados obtidos nessa etapa servirão de base para estudos subsequentes onde a luteína nanoencapsulada deverá ser aplicada na formulação de fármacos e de alimentos nutracêuticos.

PALAVRAS-CHAVE: Carotenoides. Nanoencapsulação. Fármacos. Nutracêuticos.

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



ABSTRACT

Carotenoids are natural pigments with a wide range of beneficial properties to the human health. Lutein belongs to this group and presents an intense yellow color as well as biological activity such as antioxidant and antiinflammatory properties. Depending on the required application, nanoencapsulation is necessary because lutein is poorly water-soluble, very sensitive presents low availability. The objective of this work was to obtain nanoparticles containing lutein using Poloxamer 407 or poly (vinyl pyrrolidone) as encapsulating matrices. The nanoparticles were also characterized by Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). Results demonstrated that water affinity was greatly improved due to the encapsulation. The following studies will focus on the application of the nanoencapsulated lutein in drug delivery technology and also on the formulation of nutraceutical foods.

KEYWORDS: Carotenoids. Nanoencapsulation. Nutraceutical. Drug encapsulation.

INTRODUÇÃO

Os carotenoides correspondem a um grande grupo de pigmentos lipofílicos, além disso, eles são bioativos e responsáveis por muitas cores (RODRIGUES; MERCADANTE; MARIUTTI, 2018), apenas 50% desses pigmentos fazem parte da dieta humana e a luteína está entre essa porcentagem. A flor de calêndula tem sido utilizada pela indústria para a produção de corantes ou suplementos alimentares, por ser uma fonte natural de carotenoide, dela é extraída a luteína.

A luteína está dentro de um grupo de carotenoides, que a denomina xantofila (STEINER; MCCLEMENTS; DAVIDOV-PARDO, 2018), pois nela contém oxigênio em sua estrutura química. Ela está associada à saúde ocular, principalmente, por ser encontrada na retina, sendo responsável pela visão central e por proteger a retina da luz azul, que pode causar vários danos, como a ionização. Mas ela também traz benefícios ao coração, é conhecida por prevenir a formação de aterosclerose, um conjunto de placas que restringem o fluxo sanguíneo para o músculo cardíaco. Quando a luteína já está no sangue, ela atua como potente antioxidante sobre o colesterol, evitando que ele se acumule nas artérias.

Logo, nota-se o quanto a luteína é benéfica à saúde, contudo existe uma barreira em relação ao uso dela, pois trata-se de um composto hidrofóbico e hidrofílico, completamente insolúvel em água (CALABRÒ et al., 2012). A encapsulação é uma tecnologia na qual os componentes bioativos são completamente envolvidos, cobertos e protegidos por uma barreira física, ou seja, é um processo para aprisionar agentes ativos dentro de um material transportador a fim de melhorar a entrega de moléculas bioativas e células vivas em alimentos (KALUSEVIC et al., 2012). Após a sua encapsulação, é necessário comprovar se o composto se encontra realmente inserido na matriz encapsulante, o que pode ser realizado através de análises físico-químicas como a Calorimetria Diferencial de Varredura e a Espectroscopia de Infravermelho. Além disso, a escolha do sistema de encapsulamento é crucial para o resultado e para o rendimento do processo como um todo.

MATERIAL E MÉTODOS

Luteína (20%, Kemin), etanol (99,8%, Neon), Kolliphor® Poloxamer 407 (massa molar de 12.000 g/gmol, Sigma-Aldrich), poli (vinil pirrolidona) (PVP, 40.000 g/gmol, Sigma-Aldrich) e Tween 80 (Dinâmica) foram usados na nanoencapsulação de luteína. Brometo de potássio (KBr, Sigma-Aldrich, grau espectroscópico) foi usado nas análises de Espectroscopia de Infravermelho (FTIR).

Tween 80 e o encapsulante (Poloxamer 407 ou PVP) foram dissolvidos em etanol por 5 minutos em banho de ultrassom. Foi então adicionado o composto bioativo, a luteína, sob agitação branda por 5 minutos. A solução foi sonicada (Fisher scientific, 120W, ponteira de 1/8") em banho de gelo por 3 minutos (30 segundos ligado e 10 segundos desligado). Após esse tempo, o etanol foi evaporado em estufa de circulação fechada a 50°C. O sólido resultante foi armazenado a 10°C sob abrigo de luz.

A tabela 1 apresenta as formulações utilizadas em cada um dos experimentos.

Tabela 1 – Formulação utilizada nos experimentos de obtenção das nanopartículas.

Compostos	F1	F3	F4	F5	F6	F7	F8
Etanol(mL)	30,0	120,0	120,0	120,0	120,0	120,0	720,0
PVP (g)	0,250	0,762	1,089	0	0	0	0
P407 (g)	0	0	0	0,500	0,749	1,003	4,517
Luteína (g)	0,250	0,255	0,252	0,250	0,252	0,250	1,494
[Luteína] (g-gsólidos)	0,497	0,249	0,185	0,331	0,250	0,198	0,247
Tween 80 (g)	0,003	0,006	0,018	0,006	0,008	0,010	0,036

Fonte: Autoria própria.

Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC, Perkin Elmer 4000) foi empregada para avaliar o estado físico da luteína e das nanopartículas. Cerca de 5 a 10 mg do analito foram alocadas em porta-amostras de alumínio fechadas e aquecidas de 0 a 300°C com taxa de 20°C.min⁻¹ e fluxo de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹.

Análises de Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR, Shimadzu-IRAffinity-1) foram realizadas para observar a existência de possíveis interações químicas entre os reagentes utilizados no processo da produção de nanopartículas de luteína. Para as análises, utilizou-se cerca de 3 mg de composto para produção de pastilhas de brometo de potássio (100 mg). Foram então analisadas com resolução de 2 cm⁻¹ entre 4750 e 450 cm⁻¹ com 32 *scans* cumulativos. Os picos foram normalizados para possibilitar a comparação entre as amostras.

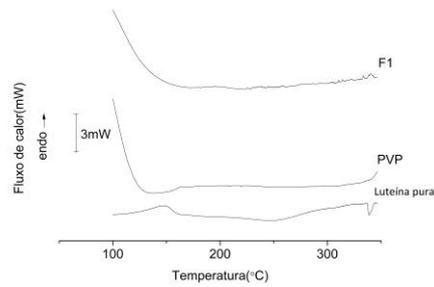
A morfologia das nanopartículas obtidas foi avaliada por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET, equipamento JEOL, modelo JEM-1011) operando a 100 kV, com faixa de magnificação de 50 a 600.000 vezes. Para a análise, algumas gotas da dispersão aquosa da amostra foram depositadas sobre uma grade de cobre de 300 mesh, estando esta previamente recoberta por um filme de parlódio. As grades foram secas a temperatura ambiente e em seguida analisadas.

Em alguns casos, uma mistura física entre a luteína e os encapsulantes foi obtida pela simples mistura manual desses componentes em cadinho para comparação com as nanopartículas.

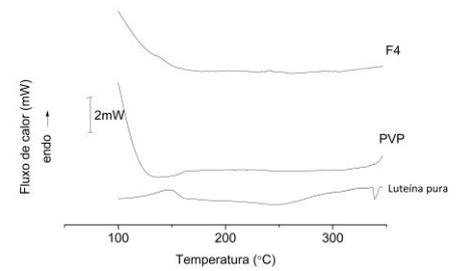
RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 1 representa os gráficos resultantes das análises de DSC para as amostras F1 e F4 (contendo PVP como encapsulante), e F5 e F8 (contendo P407 como encapsulante) na faixa de temperatura de 100°C a 350°C.

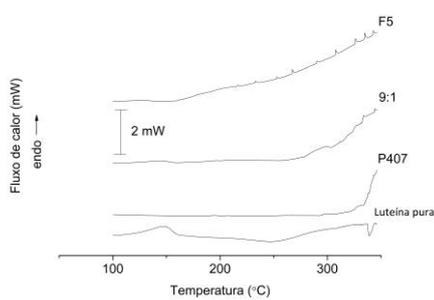
Na figura 2 são apresentados os resultados das análises realizadas de Espectroscopia de Infravermelho (FTIR) para as amostras F1 e F4 (contendo PVP como encapsulante), e F5 e F8 (contendo P407 como encapsulante). A figura 3 apresenta a microscopia obtida por MET para as nanopartículas obtidas com Poloxamer 407 como encapsulante (experimento F8).



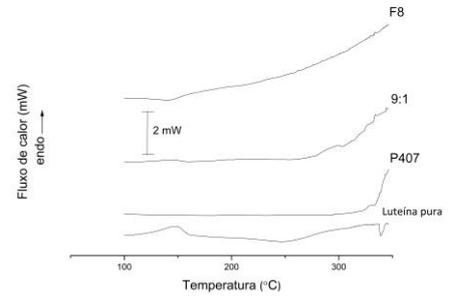
(a) PVP como encapsulante (0,497 g.g.sólidos).



(b) PVP como encapsulante (0,185 g.g.sólidos).

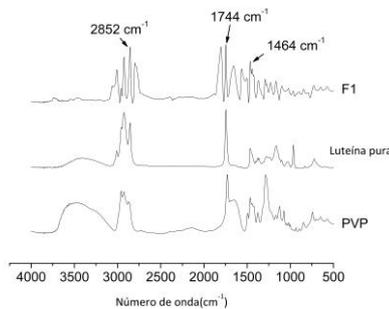


(c) P407 como encapsulante (0,331 g.g.sólidos).

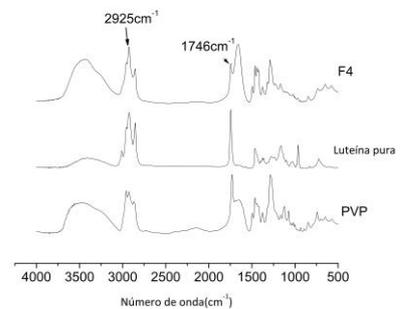


(d) P407 como encapsulante (0,247 g.g.sólidos).

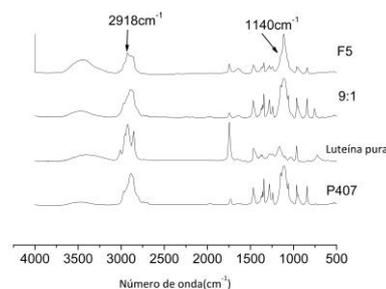
Figura 1. Curvas de DSC para diferentes concentrações de luteína.



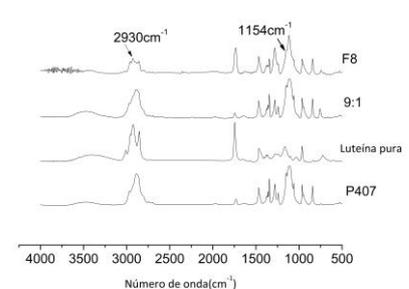
(a) PVP como encapsulante (0,497 g.g.sólidos).



(b) PVP como encapsulante (0,185 g.g.sólidos).



(c) P407 como encapsulante (0,331 g.g.sólidos).



(d) P407 como encapsulante (0,247 g.g.sólidos).

Figura 2. Espectros de FTIR para diferentes concentrações de luteína

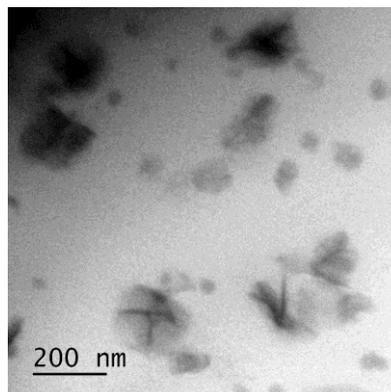


Figura 3. Imagem das nanopartículas obtidas por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).

Nas análises do DSC foi observada a presença do pico de fusão da luteína pura em 107.2°C, o que está de acordo com a literatura. Para o PVP, foi possível observar o mesmo pico, embora atenuado devido à baixa concentração da luteína nas partículas. Esse fato sugere que a encapsulação da luteína para esse encapsulante não foi eficiente.

Para o Poloxamer 407, não foi possível observar o pico referente à fusão da luteína nas nanopartículas, indicando que esse encapsulante foi mais eficiente na encapsulação quando comparado ao PVP. Para as misturas físicas entre a luteína e o Poloxamer 407, esse pico de fusão da luteína foi encontrado, demonstrando o comportamento diferente entre as nanopartículas e as misturas. A maior eficiência do Poloxamer 407 se deve provavelmente à sua estrutura química, que lhe confere propriedades surfactantes auxiliando a formação das nanopartículas.

Com relação aos espectros do FTIR, foi possível observar para a luteína bandas dos grupamentos CH(1036 cm^{-1}), dimetil (1361 cm^{-1}), CH_3 e CH_2 (2852 cm^{-1}), o que está de acordo com a literatura (BOONNOUN et al., 2013). Para o PVP, foi encontrada a banda em 1651 cm^{-1} , relativa ao grupamento carbonila, enquanto para o Poloxamer foram encontradas bandas em aproximadamente 2900 cm^{-1} (C-H) e 1110 cm^{-1} (C-O).

Quando comparados aos espectros do FTIR das nanopartículas com as misturas físicas e o Poloxamer 407, foi possível observar que as bandas encontradas para as misturas físicas são semelhantes as do Poloxamer. Contudo, houve atenuação das bandas de absorção no caso das nanopartículas, sugerindo que houve encapsulação da luteína na matriz do composto encapsulante e corroborando as análises de DSC.

As microscopias mostraram a formação de nanopartículas entre 50 e 200 nanômetros de formato irregular, confirmando os resultados obtidos por DSC e FTIR.

CONCLUSÃO

A metodologia escolhida para a nanoencapsulação da luteína foi eficiente quando o Poloxamer foi usado como encapsulante. As análises térmicas (Calorimetria Diferencial de Varredura), espectroscópica (Espectroscopia de Infravermelho) e de imagem (Microscopia Eletrônica de Transmissão) mostraram que foi possível obter nanopartículas contendo luteína, o que encoraja o prosseguimento dos estudos para a aplicação das nanopartículas em fármacos ou alimentos nutraceuticos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo.

REFERÊNCIAS

BOONNOUN, P. et al. Supercritical anti-solvent micronization of chromatography purified marigold lutein using hexane and ethyl acetate solvent mixture. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 80, p. 15–22, 2013.

CALABRÒ, M. L. et al. Structural and spectroscopic features of lutein/butanoyl- β -cyclodextrin nanoassemblies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 71, p. 214–218, 2012.

KALUSEVIC, A. et al. An overview of encapsulation technologies for food applications. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1806–1815, 2012.

RODRIGUES, D. B.; MERCADANTE, A. Z.; MARIUTTI, L. R. B. Marigold carotenoids: Much more than lutein esters. **Food Research International**, n. October, p. 0–1, 2018.

STEINER, B. M.; MCCLEMENTS, D. J.; DAVIDOV-PARDO, G. Encapsulation systems for lutein: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 82, n. May, p. 71–81, 2018.