

Desenvolvimento de sistemas nanoparticulados para eficiência de encapsulação de compostos bioativos do açafrão-da-terra

Development of nanoparticulated systems for encapsulation efficiency of turmeric bioactive compounds

RESUMO

Com o aumento da busca por compostos naturais que possam agir na prevenção de doenças e até mesmo promover melhor expectativa de vida para a população, o açafrão-da-terra tem ganhado destaque por apresentar propriedades anti-inflamatórias, antibacterianas, antitumorais e antisépticas. Visando melhorar seu controle e estabilidade durante a aplicação em processamento industrial surge o processo de nanoencapsulação. Dos sistemas vêm sendo utilizados atualmente, estão as emulsões pickering que consistem na formação de uma emulsão estabilizada com partículas sólidas de quitosana (QUI) e tripolisfosfato (TPP). O objetivo desta pesquisa é caracterizar estas nanopartículas de QUI-TPP e analisar sua estabilidade e eficiência em compostos encapsulados com cúrcuma. Serão realizados testes de caracterização físico-química por meio do diâmetro hidrodinâmico médio, potencial zeta e morfologia, visando obter as melhores condições destas partículas. Para encapsulação, a cúrcuma é adicionada à fase oleosa da emulsão. Análises posteriores de eficiência e estabilidade são realizadas com o intuito de otimizar técnicas de liberação controlada e aumentar a vida útil dos compostos bioativos.

PALAVRAS-CHAVE: Emulsões pickering. Cúrcuma. Nanopartículas.

ABSTRACT

The increasing research for natural compounds that can act to prevent diseases and even promote better life expectancy for a population, has made turmeric stand out for presenting anti-inflammatory, antibacterial, antitumor, etc., properties. In order to improve its control and stability during application in industrial processing, the nanoencapsulation process arises. The system used was pickering emulsions, that consist of the formation of stabilized emulsion with solid particles of chitosan (QUI) and tripolisphosphate (TPP). The aim of this research is to characterize these QUI-TPP nanoparticles and to analyze its stability and efficiency in compounds encapsulated with turmeric. Tests were carried out for physical-chemical characterization using the medium hydrodynamic diameter, zeta potential and morphology, in order to obtain the best conditions for these particles. For encapsulation, turmeric is added to the oil phase of the emulsion and later, efficiency and stability analyzes are carried out, in order to optimize controlled release techniques and increase the lifespan of bioactive compounds.

KEYWORDS: Pickering emulsions. Turmeric. Nanoparticles.

Lareska Teles Barbosa

lareska_teles@hotmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil

Caroline Casagrande Sipoli

carolinesipoli@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil

Maycon Aparecido de Morais Meira

maycon_morais2807@hotmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil

Lilian Tatiani Dusman Tonin

liliandusman@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil

Rubia Michele Susuki

rubiasusuki@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil

Recebido: 19 ago. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

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



INTRODUÇÃO

Atualmente muitas pessoas vêm buscando a partir da alimentação uma vida mais saudável e deste modo, muitos pesquisadores têm estudado a obtenção de compostos naturais que possam agir na prevenção de doenças e até mesmo promover melhor expectativa de vida para a população. Neste âmbito, alguns compostos acabam ganhando destaque e assim passam a ser consumidos. Desta maneira, destaca-se a Curcuma longa, uma planta nativa do sudeste Asiático e cultivada em regiões tropicais e subtropicais, é muito utilizada na culinária e medicina popular. A cúrcuma além de sua principal utilização como condimento, possui substâncias antioxidantes, antimicrobianas e corantes (curcumina) que lhe conferem possibilidade de emprego nas áreas de cosméticos, têxtil, medicinal e alimentícia (CÉLIO, 2000). No Brasil é conhecida, conforme a região brasileira, como cúrcuma, açafrão-da-terra, açafrão ou açafrão-da-Índia (MAIA, 1995).

A cúrcuma é um composto multivalente com propriedades anti- inflamatórias, antibacterianas, antitumorais e antissépticas (CHEN;THOMAS; JOHNSTON, et al., 2009) sendo assim, torna-se uma substância bioativa atrativa para o desenvolvimento de alimentos funcionais (MASCARAQUE; SIPOLI, et al., 2017). Contudo, a baixa solubilidade de tais composto sem água e também com o objetivo de superar a susceptibilidade e melhorar a estabilidade destes compostos durante o processamento e também estocagem, o processo de nanoencapsulação tem sido recentemente aplicado na indústria de alimentos e nutracêuticos. Em outras palavras, a encapsulação pode reduzir a perda de atividade dos compostos ativos (HOSEINI et al., 2013; JAMIL et al., 2016) e também aumentar a sua biodisponibilidade (SHAH et al., 2016).

Na literatura podemos destacar diversos tipos de sistemas para a incorporação de compostos bioativos: lipossomas (ZÔMPER et al., 2015), nanopartículas poliméricas (SCHAFFAZICK, 2003), nanopartículas lipídicas sólidas (MARCATO, 2009), emulsões (DONBROW, 1992), dentre outras. As emulsões *Pickering*, são sistemas que podem ser destacados para este tipo de aplicação por apresentar menor toxicidade em relação as emulsões convencionais (DICKINSON, 2010) e consistem em emulsões estabilizadas com partículas sólidas ao invés de surfactantes, podendo ser usado para a estabilização as nanopartículas de quitosana (SHAH et al., 2016).

Assim, considerando resultados anteriores do grupo, o objetivo deste trabalho foi realizar a extração da cúrcuma nas melhores condições já determinadas por Oliveira (2017), como a utilização do solvente extrator metanol (95%) e posteriormente, incorporar em emulsões *pickering*. Por fim, será analisado a estabilidade dos compostos bioativos, assim como a caracterização físico-química dos sistemas obtidos e a eficiência dos extratos de encapsulados de cúrcuma.

METODOLOGIA

O preparo dos extratos foi realizado a partir das melhores condições pré- estabelecidas por Oliveira (2017), onde separou-se três porções iguais de 400g de rizomas de açafrão-da-terra devidamente lavados e cortados em pequenos pedaços para serem seco em estufa com circulação de ar nas temperaturas de 40, 60 e 80 °C. Em seguida, foram triturados em liquidificador doméstico a fim de se obter o pó, e armazenados em refrigeração, longe de qualquer fonte de luz, evitando assim, a degradação das suas propriedades. No dia seguinte, foram pesados cerca de 1,0g em pó desse rizoma

triturado, e assim, preparado com solvente extrator metanol: água (95:5). As amostras em béqueres cobertos com papel alumínio foram submetidas a 4 horas de agitação magnética. Posteriormente a agitação, as amostras foram filtradas sob a técnica de filtração normal com papel filtro para balões volumétricos de 100 mL, que tiveram todos seus volumes aferindo os meniscos. Finalizado o processo de filtração, as amostras foram transferidas para frascos âmbar e armazenadas na geladeira, para as devidas análises do extrato preparado.

Para o preparo das nano emulsões foram preparadas em duplicatas os valores a partir das razões mássicas pré-definidas, sendo estas de 4,5; 5,0 e 5,5, tendo como objetivo a melhor comparação da eficiência de encapsulação ao longo dos testes realizados de tamanho e morfologia das nanopartículas.

Para preparo das soluções de QUI/TPP foram pesados aproximadamente 0,5g de quitosana (massa teórica 0,5% em concentração mássica) em uma balança analítica, dissolvida em 100 mL de água destilada. Em seguida, foram diluídos 0,1 mL de ácido acético nessa solução, que foi submetida à agitação magnética. O mesmo procedimento foi realizado no preparo da solução de tripolifosfato.

- I) Para avaliar o efeito no tempo de armazenamento as emulsões foram armazenadas à temperatura ambiente (cerca de 25 °C) durante um mês e posteriormente analisadas;
- II) Afim de estudar o efeito do pH foram preparadas uma série de amostras de emulsão e o pH foi ajustado para valores diferentes no intervalo de (2-7), utilizando HCl ou NaOH;
- III) A influência do sal sobre a estabilidade das emulsões foi analisada adicionando diferentes quantidades de NaCl ou CaCl₂ para as emulsões após a preparação. Ajuste do pH utilizando HCl ou NaOH;

Para caracterização das nanopartículas e da emulsão *pickering* serão caracterizadas físico-quimicamente as nanopartículas de QUI/TPP por meio da análise do diâmetro hidrodinâmico médio, potencial zeta e morfologia utilizando a metodologia pre estabelecida por SIPOLI; SANTANA, et al., (2017).

Será utilizado para medir o diâmetro hidrodinâmico médio e a distribuição do tamanho das nanopartículas um instrumento dinâmico de dispersão de luz (DLS) chamado *Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, WORCS, UK)*. As medições serão realizadas utilizando um laser He-Ne a 633 nm e 4,0 MW de potência, com um ângulo de detecção de *abackscattering* de 173°. O diâmetro hidrodinâmico médio será baseado no diâmetro médio ponderado pela distribuição numérica. O índice de polidispersidade (PDI) também será calculado a partir da análise cumulativa da função de autocorreção de intensidade DLS medida (um número sem dimensões que varia de 0 a 1).

A técnica mais usada e mais aceita para medir o potencial zeta é através da mobilidade eletroforética de *Doppler a laser*, onde um campo elétrico é aplicado a uma solução de moléculas ou uma dispersão de moléculas que passaram a se mover com uma velocidade relacionada ao seu potencial zeta. Esta velocidade será medida em triplicata para cada uma das amostras a 25 °C usando um *Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern*

Instruments, WORCS, Reino Unido) em água.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

De acordo com os resultados obtidos anteriormente por Oliveira (2017) para uma extração mais eficiente, da cúrcuma longa deve ser seca à uma temperatura de 40 °C e 60 °C, temperaturas acima desses valores começam a degradar suas propriedades, e

ser extraído com metanol 95% (MeOH) pois este foi o solvente que apresentou o melhor valor para os compostos bioativos e também para a atividade antioxidante. No que se diz respeito a sua atividade antimicrobiana, o açafraão-da-terra apresentou uma grande eficiência na inibição do crescimento quando utilizando o solvente extrator etanol 95% (EtOH) para todas as temperaturas de secagem.

Para o andamento desta pesquisa e análises de seus compostos bioativos realizou-se o preparo das nanopartículas de quitosana e trifosfato com MeOH 95% como descrito anteriormente e obteve-se os volumes de TPP a adicionados na solução de quitosana, descritos na tabela 1 a seguir:

Tabela 1 – Relações mássicas x volumes de TPP

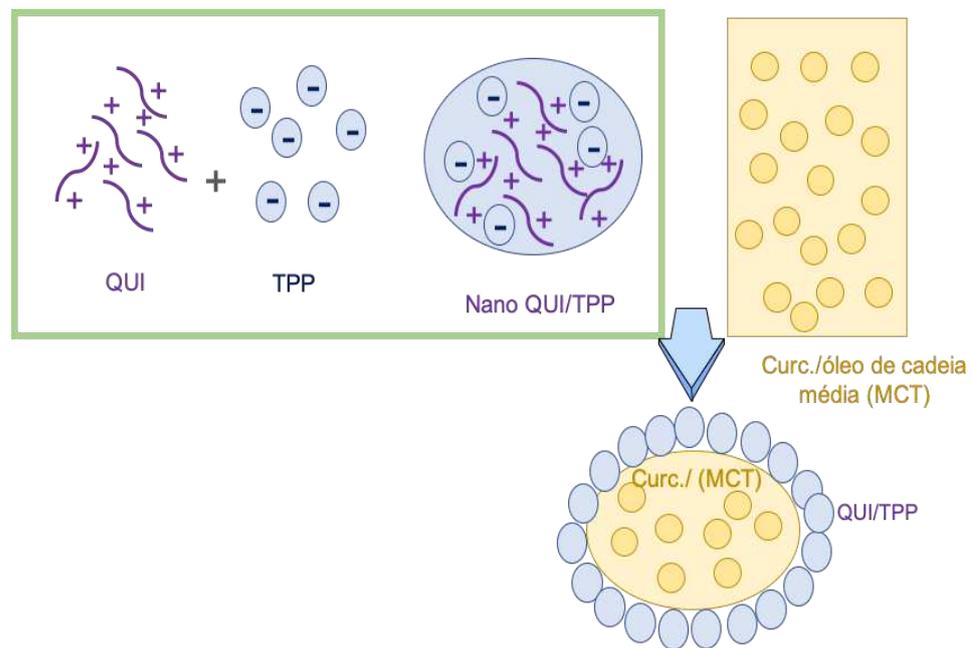
Razões Mássicas	Massa de TPP (g)	Volume de TPP (ml)
4,5	0,028	5,5
5,0	0,025	5,0
5,5	0,023	4,54

Fonte: Autoria Própria (2020).

Após o preparo das nanopartículas serão realizados os testes de estabilização e caracterização para definição das melhores condições de preparo das nano emulsões e incorporação da cúrcuma, esta que será adicionada a fase oleosa da emulsão (óleo MCT). As nanopartículas de QUI/TPP foram preparadas no final do ano de 2019, no entanto devido à limitação de utilização do equipamento DLS não foi possível realizar a caracterização físico-química que estava prevista para início de 2020. As nanopartículas seriam refeitas no início do ano letivo, no entanto com a suspensão das aulas e das atividades na Universidade os experimentos foram adiados. A seguir está descrito o esquema de produção das emulsões *pickering* com a incorporação da cúrcuma em triglicerídeos de cadeia média e com estabilização das nanopartículas de QUI-TPP.

A escolha de tal sistema para o estudo de incorporação dos compostos bioativos do açafraão-da-terra baseou-se no trabalho de SHAH e colaboradores (2016). Os autores realizaram a incorporação da curcumina em emulsões *pickering* e demonstraram que o sistema apresentou estabilidade frente à diferentes condições. Este trabalho tem como o grande diferencial que a extração é feita pelo grupo de pesquisa e obtém-se um conjunto de compostos bioativos que serão encapsulados, já no artigo de SHAH, et al., (2016), o grupo utiliza a curcumina fornecida de uma empresa e não um conjunto de compostos extraídos. Seguindo a Figura 1 a incorporação de cúrcuma em emulsão.

Figura 1 - Incorporação da cúrcuma na emulsão MCT e QUI/TPP.



Fonte: Autoria própria (2020).

CONCLUSÕES

Para preparação das nanopartículas optou-se pela escolha do solvente como MeOH (95%) por apresentar melhores atividades antioxidante e melhores valores de compostos bioativos.

A secagem em diferentes temperaturas apresentou diferenças significativas nos teores de antocianinas que são pigmentos vegetais, responsáveis por uma grande variedade de cores observadas em flores, frutos, caules e raízes de plantas, sendo assim as temperaturas com melhores valores de antocianinas para a cúrcuma são as de 40°C e 60 °C.

O açafreão-da-terra mostrou-se rico em compostos fenólicos, principalmente em flavonoides, os quais são bem conhecidos por suas propriedades antioxidantes.

As demais conclusões serão melhores obtidas ao final da Pandemia de COVID-19 com o decorrer das análises de encapsulação, estabilidade e eficiência.

REFERÊNCIAS

CECILIOFILHO, Arthur Bernardes et al. **Cúrcuma: planta medicinal, condimentare de outros usos potenciais.** Ciência rural, v. 30, n. 1, p. 171-177, 2000.

CHEN, C., JOHNSTON, T. D., JEON, H., GEDALY, R., MCHUGH, P. P., BURKE, T. G., & RANJAN, D. (2009). **538 An in vitro study of liposomal curcumin: stability, toxicity and biological activity in 539 human lymphocytes and Epstein-Barr virus- transforme**

B-cells. International 540 Journal of Pharmaceutics, 366(1), 133-139.

Dickinson, E. Food emulsions and foams: stabilization by particles. **Current opinion in colloid & Interface Science**, 15, 40-49, 2010.

DONBROW, M. Introduction and overview. In: DONBROW, M., ed. **Microcapsules and nanoparticles in medicine and pharmacy**. Boca Raton: CRC Press, p. 1-14, 1992.

HOSSEINI, S. F. et al. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydrate polymers*, v. 95, n. 1, p. 50–56, 2013.

MAIA, N. B. **Influência de tipos de rizomas de multiplicação no crescimento de cúrcuma**. *Bragantia*, v. 54, p. 33-37, 1995.

MARCATO, P. D. D. **Preparação, caracterização e aplicações em fármacos e cosméticos de nanopartículas lipídicas sólidas**. *Revista eletrônica de farmácia*, v. 6, n. 2, 30 jun. 2009.

MASCARAQUE, L. G. G, SIPOLI, C. C., DE LA TORRE, L. G. T, RUBIO, A, L.
Microencapsulation structures on protein-coated liposomes obtained through electrospraying for stabilization and improved bioaccessibility of curcumin. *Food chemistry*, v. 233, p. 343-350, Oct. 2017.

OLIVEIRA, T. F. V. **Características químicas e microbiológicas do açafraão-da-terra (*Curcuma Longa*)**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Apucarana 2017.

SIPOLI, C.C, SANTANA, N., SHIMOJO, A.A.M., AZZONI, A., DE LA TORRE, L.G.
Scalable production of highly concentrated chitosan/TPP nanoparticles in different pHs and evaluation of the in vitro transfection efficiency. *Biochemical engineering journal*. V.94, p. 65-73, 2015.

SCHAFFAZICK, Scheila Rezende et al. **Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos**. *Química nova*, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SHAH, B. R., et al. **Preparation and optimization of Pickering emulsion stabilized by chitosan triphosphate nanoparticles for curcumin encapsulation**. *Food hydrocolloids* v.52, 2016:369-377.

ZOMPERO, R.H. et al. **Hybrid encapsulation structures based on β -carotene-loaded nanoliposomes with in electrospun fibers**. *Colloids and surfaces b: biointerfaces*, v. 134, p. 475–482, 2015.