

ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE NANOCÁPSULAS DE QUITOSANA CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE *Citrus sinensis* L. Osbeck ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO

ANTÔNIO MATIAS NAVARRETE DE TOLEDO¹; ADRIANA RODRIGUES MACHADO²; RAQUEL BRIÃO OLIVEIRA³; LEONOR DE ALMEIDA SOUZA-SOARES⁴

¹Universidade Federal do Rio Grande – matiasnavarrete@yahoo.com.br

²Universidade Federal do Rio Grande – adriana.rodriguesmachado@yahoo.com.br

³Universidade Federal do Rio Grande – briaoraquel@gmail.com

⁴Universidade Federal do Rio Grande – leonor.souzasoares@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Nanoencapsulação de compostos vem sendo cada vez mais desenvolvida em estudos científicos pelos benefícios que a encapsulação oferece aliada às vantagens do tamanho nanométrico destas cápsulas. A encapsulação de compostos reduz as interações do núcleo com fatores ambientais, separa componentes incompatíveis, mascara compostos de sabor indesejável e promove melhor solubilidade do núcleo (AZEREDO, 2005). Por sua vez, os encapsulados em tamanho nanométrico têm alegação de maior absorção pelos organismos além de contribuírem no desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de compostos, que visam a velocidade de cedência e o regime de dosagem destas substâncias (SCHAFFAZICK; GUTERRES, 2003).

Entre os compostos de interesse em encapsulação estão os óleos essenciais. Estes constituem os elementos voláteis contidos em muitos órgãos vegetais, e estão relacionados com diversas funções necessárias à sobrevivência vegetal (LIMA et al., 2006). O óleo essencial de laranja é uma mistura complexa que pode conter até 300 diferentes compostos químicos que incluem carotenóides, flavonoides, aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos terpênicos e ésteres. Devido à composição do óleo essencial de laranja, este apresenta baixa solubilidade em água e alta tendência à oxidação, (FERNANDES et al., 2013).

Entre as nanopartículas poliméricas utilizadas em processos de encapsulação, encontra-se nanopartículas de quitosana. Estas são preparadas a partir de macromoléculas e podem ser utilizadas como um adjuvante em vacinas e carreadores de substâncias, onde estas se encontrarão dissolvidas, retidas, encapsuladas, adsorvidas ou quimicamente ligadas (TIYABOONCHAI, 2003).

A caracterização das suspensões de nanoencapsulados engloba a avaliação morfológica, a distribuição de tamanho de partícula, a determinação do potencial zeta, a cinética de liberação do fármaco e, ainda, a avaliação da estabilidade em função do tempo e temperatura de armazenamento (SCHAFFAZICK; GUTERRES, 2003).

Tendo em foco o desenvolvimento de nanoencapsulados para posterior uso em alimentos, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a estabilidade físico-química de nanocápsulas de quitosana contendo óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) armazenadas por um período de 38 dias em temperatura de refrigeração. Foram analisadas três formulações de nanoencapsulados, contendo diferentes concentrações de óleo essencial de laranja. As análises realizadas para avaliação da estabilidade foram pH, índice de refração e acidez.

2. METODOLOGIA

Primeiramente realizou-se o preparo das nanopartículas de quitosana pelo método de geleificação iônica utilizando o poliânion tripolisfosfato de sódio como agente geleificante, segundo CALVO et al. (1997), com modificações. Nesta etapa, duas soluções, uma ácida (quitosana 5mg/mL) e outra aquosa (tripolisfosfato de sódio 10mg/mL), entraram em contato lentamente sob uma agitação de 8000 rpm e as nanopartículas se formaram espontaneamente. Após, uma outra solução aquosa contendo emulsificante lecitina de soja e óleo essencial de laranja foi adicionada à suspensão coloidal, ocorrendo assim a incorporação do óleo pelas nanopartículas.

Foram realizadas três formulações de nanoencapsulados onde variou-se somente a proporção em massa de óleo:quitosana. As formulações, denominadas de F1, F2 e F3, contém as proporções em massa de óleo:quitosana em 1:1, 1:3 e 1:5, respectivamente.

O volume de cada solução a ser adicionado foi calculado afim de que ao final da reação (volume final de 200 mL), fosse obtida uma suspensão de nanoencapsulados contendo uma proporção em massa de quitosana: tripolisfosfato e lecitina de soja fixa em 1:0,17:0,11. Estas formulações foram liofilizadas e os nanoencapsulados foram suspensos em solução de ácido acético 1% v/v. A Tabela 1, abaixo, quantifica as quantidades de cada composto utilizado nas três formulações de encapsulados.

Após estas etapas, as três formulações foram armazenadas à temperatura de refrigeração, em torno de 4°C. A medição de pH, índice de refração (η) e acidez foram realizadas em triplicata, ao longo de 38 dias. Os resultados foram submetidos a ANOVA com pós teste de Tukey.

Tabela 1 – Formulações de nanocápsulas de quitosana contendo óleo essencial de laranja.

Formulação	Quitosana (mg)	Lecitina de soja (mg)	Tripolif. de sódio (mg)	Óleo essencial de laranja (μ L)
F1	240	27,4	40	290
F2	240	27,4	40	95,2
F3	240	27,4	40	57,2

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Tabelas 2 a 4 apresentam as análises físico-químicas das formulações de nanoencapsulados armazenados à temperatura de refrigeração. Os resultados são apresentados em média de três repetições \pm estimativa de desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna demonstram diferença significativa das médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade do erro.

Tabela 2 – Análises físico-químicas realizadas ao longo de 38 dias para a formulação 1

pH	η	Acidez (mL NaOH/mL de amostra)	Dia
3,47±0,03 ^a	1,331±0,0001 ^a	1,6±0,2 ^a	0
3,51±0,03 ^b	1,336±0,0001 ^b	1,6±0,1 ^a	9
3,61±0,02 ^c	1,333±0,0001 ^{a,b}	1,7±0,2 ^a	23
3,85±0,03 ^d	1,335±0,0001 ^{b,c}	1,3±0,1 ^b	38

Tabela 3 – Análises físico-químicas realizadas ao longo de 38 dias para a formulação 2

pH	η	Acidez (mL NaOH/mL de amostra)	Dia
3,47±0,02 ^a	1,334±0,0001 ^a	2±0,1 ^a	0
3,55±0,03 ^b	1,333±0,0001 ^a	2±0,1 ^a	9
3,6±0,01 ^c	1,334±0,0001 ^a	1,8±0,1 ^a	23
3,87±0,02 ^d	1,333±0,0001 ^a	1,5±0,1 ^b	38

Tabela 4 – Análises físico-químicas realizadas ao longo de 38 dias para a formulação 3

pH	η	Acidez (mL NaOH/mL de amostra)	Dia
3,46±0,02 ^a	1,333±0,0002 ^a	1,7±0,3 ^a	0
3,45±0,02 ^a	1,334±0,0001 ^a	1,7±0,2 ^a	9
3,56±0,04 ^b	1,334±0,0001 ^a	1,8±0,1 ^a	23
3,86±0,04 ^c	1,331±0,0001 ^a	1,2±0,1 ^b	38

Analisando os dados acima, é verificado que mesmo em um curto período de tempo, as suspensões contendo os nanoencapsulados mostram sinais de degradação. Entre as três análises físico-químicas, o pH se mostra mais sensível, tendo seus valores mostrado diferença significativa ao decorrer dos dias em todas formulações. A acidez, expressa neste trabalho como mL de NaOH /mL de amostra, ficou constante por um período de 23 dias, porém, completados 38 dias de armazenamento, esta análise apresentou diferença significativa em comparação com as análises anteriores, em todas as formulações. Com relação ao índice de refração este se mostra mais relacionado com a concentração do óleo na formulação do que com o tempo de armazenamento. É verificado que na formulação 1, onde o óleo essencial está presente em uma quantidade maior do que nas outras formulações, o índice de refração mostrou diferença significativa ao longo dos 38 dias, porém, nas formulações 2 e 3 isto não ocorreu, tendo esta análise permanecido constante ao longo do período de armazenamento.

4. CONCLUSÕES

A estabilidade físico-química de nanoencapsulados de óleo essencial de laranja foi investigada neste estudo por meio de técnicas analíticas clássicas, sem o uso de

instrumentação avançada. Os dados mostram que, apesar do curto período de tempo, foi possível identificar a possível degradação dos constituintes destas suspensões, mesmo armazenadas em temperatura de refrigeração, em torno de 4°C.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: Aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.16, n.1, p. 89 – 97, 2005.

CALVO, P.; REMUNÁN-LÓPEZ, C.; VILA-JATO, J. L.; ALONSO, M. J. Development of positively charged colloidal drug carriers: Chitosan coated polyester nanocapsules and submicron-emulsions. **Colloid and Polymer Science**, v. 275, n. 1, p. 46 – 53, 1997.

FERNANDES, I. J.; KIELING, A. M.; BREHM, F. A.; AGOSTI, A.; MORAES, C. A. M. Avaliação da extração de óleo essencial do resíduo de casca de laranja. In: **FORUM INTERNACIONAL DE RESÍDUOS SÓLIDOS**, 4. Porto Alegre, 2013. Anais. Porto Alegre: Instituto Venturi para Estudos Ambientais, 2013. Disponível em: <http://www.4firs.institutoventuri.org.br/conteudo/view?ID_CONTEUDO=8>

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para a análise de alimentos**. 4ª. ed. São Paulo, IAL, 1985.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726 – 737, 2003.

TIYABOONCHAI, W. Chitosan nanoparticles: A promising system for drug delivery. **Naresuan University Journal**, v. 11, n. 3, p. 51 – 66, 2003.