



PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS BIOPOLIMÉRICAS DE ALGINATO CARREGADAS COM ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM

Vanessa Meneghini ^{1*}, Cristiane da Costa ^{1,2}

1 - Departamento de Engenharia Química e Eng. de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Campus Universitário Trindade, CEP 88040-900, Florianópolis, SC

2 - Departamento de Engenharia Têxtil, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Blumenau, SC

vanessameneghini@gmail.com

RESUMO

Neste estudo, foram desenvolvidas nanopartículas a partir de um polímero natural, o alginato, para serem utilizadas na encapsulação do óleo essencial de alecrim. O processo de encapsulamento foi realizado pela técnica de emulsificação/gelificação iônica. O diâmetro médio das nanopartículas foi de 130 nm com eficiência de encapsulação >86%. Análises de DSC e FTIR evidenciam o encapsulamento bem-sucedido do óleo essencial de alecrim nas nanopartículas de alginato. Além disso, as amostras permaneceram estáveis pelo tempo de armazenamento de 90 dias, o que demonstra que o alginato pode ser uma boa alternativa para o carregamento deste ativo.

Palavras-chave: *óleo essencial de alecrim, nanoencapsulação, alginato*

INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais possuem uma composição complexa, por isso apresentam um amplo espectro de atividades biológicas. O óleo essencial de alecrim (OEA), por exemplo, possui diversos benefícios para a pele e cabelos, auxilia na cicatrização de feridas, além de atividade antioxidante⁽¹⁾.

Apesar de suas inúmeras aplicações, os óleos essenciais são voláteis e podem ser degradados por oxidação e na presença de luz ultravioleta. Para proteger e garantir sua estabilidade, o encapsulamento fornece uma solução viável, aumentando a eficiência e durabilidade⁽²⁾. Em combinação com a nanotecnologia, é possível desenvolver sistemas de liberação controlada, além de ser uma estratégia para facilitar a permeação cutânea de ativos⁽³⁾. Dentre as técnicas de encapsulamento, a gelificação iônica é uma técnica físico-química de produção de cápsulas, que consiste na formação de estruturas gelatinosas, geralmente em dimensões nanométricas e tem por base a interação entre as cargas opostas de um polímero e contra-íons de um agente reticulante⁽⁴⁾.

O alginato de sódio (ALG) é um biopolímero capaz de formar géis através do mecanismo de gelificação iônica quando processado com cátions divalentes como o íon cálcio (Ca^{2+}), por exemplo. O cálcio se difunde até alcançar a cadeia polimérica, promovendo a formação de uma rede tridimensional, um modelo é geralmente descrito como “caixa de ovos”, onde há interação de quatro grupos carboxilato ($-\text{COO}^-$) do alginato ocorrendo a troca de íons sódio por íons cálcio⁽⁵⁾.

Considerando os aspectos acima mencionados, no presente estudo, objetivou-se encapsular o óleo essencial de alecrim em nanopartículas constituídas de alginato de cálcio obtidas a partir da técnica de emulsificação/gelificação iônica. Essas cápsulas foram caracterizadas em relação à eficiência de encapsulação, tamanho, estabilidade e morfologia.

MATERIAIS E MÉTODOS

Síntese das nanopartículas de alginato de cálcio

O procedimento experimental consistiu em pesar Tween 80 (Sigma Aldrich), 0,5% m/v, adicionar 10 mL de água destilada sob agitação magnética a 550 rpm por 5 min, a temperatura ambiente. Em seguida, o óleo essencial de alecrim - OEA (Ferquima), a 2% m/v, foi adicionado à solução anterior, sob agitação. A emulsão resultante foi sonicada em um dispersor ultrassônico por 4 min. Em seguida, 6 mL de uma solução aquosa 1% m/v de alginato de sódio (baixa viscosidade, Sigma Aldrich) foi adicionada gota a gota a emulsão e levada ao sonificador por 2 min. Por fim, 6 mL de uma solução aquosa de cloreto de cálcio (0,5% m/v) foi adicionada gota a gota e levada ao sonificador por 2 min. As condições fixadas no dispersor ultrassônico (Fisher Scientific, 500W) foram pulso 10s on/5s off e amplitude 70%. O pH da formulação final ficou em torno de 5.

Caracterização das nanopartículas de alginato de cálcio

A formulação foi caracterizada em termos de tamanho de partícula e distribuição de tamanho (PDI) por espalhamento de luz dinâmica (DLS, Malvern NanoS) e potencial zeta por mobilidade eletroforética, ambas realizadas à temperatura de 25 °C, sem diluições.

A quantidade de óleo essencial encapsulada foi determinada por ultracentrifugação utilizando filtro Amicon® Ultra de 100 kDa acoplado a um eppendorf. A análise foi realizada pela adição de 400 µL da formulação no filtro e centrifugado a 13.000 rpm por 30 minutos. Uma alíquota do sobrenadante foi diluída em etanol, transferida para uma cubeta e analisada em triplicata a 265 nm em espectrofotômetro UV-vis. A quantidade de óleo essencial livre foi determinada comparando os resultados com uma curva de calibração preparada a partir de concentrações definidas do óleo essencial ($y = 0,2878x + 0,0196$). Para o cálculo da eficiência de encapsulação do óleo essencial de alecrim carregado, foi utilizada a Equação (A).

$$\%EE = \frac{\text{Concentração inicial de OEA} - \text{Concentração de OEA no sobrenadante}}{\text{Concentração inicial de OEA}} \times 100 \quad (A)$$

Para análises de espectroscopia FTIR e calorimetria diferencial de varredura (DSC), as nanopartículas foram lavadas 3 vezes com água em uma centrífuga (Eppendorf MiniSpin®) por 20 min a 13.000 rpm e liofilizadas a -54°C e -56°C por 24h. Para obtenção dos espectros de FTIR, as amostras foram preparadas utilizando pastilhas de KBr, e os espectros foram obtidos de 4000-400 cm⁻¹ no espectrofotômetro (Agilent Technologies – Cary 660 FTIR). As análises de DSC foram realizadas no calorímetro Jade-DSC (Perkin Elmer) com controle de temperatura em uma faixa de 0 a 400 °C, a 10 °C/min, sob atmosfera de nitrogênio (20 mL/min) e panelinhas de alumínio.

A estabilidade a longo prazo das nanocápsulas foi determinada avaliando mudanças no diâmetro da partícula, PDI e potencial zeta durante 90 dias a 4°C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o processo de síntese, as suspensões obtidas apresentaram-se visualmente homogêneas e com uma coloração branca translúcida.

O valor da eficiência de encapsulação está apresentado na Tabela 1, juntamente com o valor de potencial zeta, índice de polidispersão e tamanho médio das partículas.

Tabela 1. Eficiência de encapsulação, potencial zeta, índice de polidispersão e tamanho das nanopartículas de alginato de cálcio.

	Tamanho médio (nm)	Índice de polidispersão (PDI)	Potencial zeta (mV)	% EE
Alginato	131,3 ± 3,9	0,229 ± 0,017	-8,79 ± 0,57	82,7 ± 7,2

Com esse resultado, verifica-se que os agentes encapsulantes e a técnica de encapsulamento utilizados foram adequados para o encapsulamento do OEA. De forma geral, a eficiência de encapsulação pode ser influenciada por diversos parâmetros, como proporção polímero:óleo, a concentração do polímero, técnica de encapsulação utilizada. Benavides et al. (2016) observaram a diminuição de EE% pelo aumento do teor de óleo essencial⁽⁶⁾.

As amostras apresentaram diâmetro médio de partícula em torno de 131 nm. Nota-se também que o PDI se manteve abaixo de 0,25, o que caracteriza um sistema monodisperso e com boa estabilidade coloidal⁽⁷⁾.

O valor negativo do potencial zeta (PZ) é devido a presença de grupos carboxílicos nas extremidades das cadeias de ALG. Apesar de valores acima de 30 mV indicarem sistemas estáveis, os valores de PZ não são o único fator que afeta a estabilidade das nanopartículas. Polímeros são moléculas grandes que deslocam o plano de cisalhamento para uma distância maior da superfície da partícula, resultando em uma redução do PZ medido. Isso significa que mesmo no caso de superfícies de partículas altamente carregadas, um PZ relativamente baixo pode ser medido⁽⁸⁾. Além disso, o Tween 80 forma uma micela envolvendo as gotículas de óleo e a cabeça hidrofílica do Tween 80 ligada à casca do alginato após reticulação usando CaCl₂. Isso leva a uma redução na densidade de carga na superfície das nanopartículas de alginato, resultando em um potencial zeta menos negativo⁽⁹⁾.

Para analisar as interações intermoleculares entre os componentes das nanopartículas, a espectroscopia FTIR foi realizada em OEA, ALG e nanopartículas liofilizadas (NPs ALG-OEA). Observando a Figura 2, o pico de absorção em 1035 cm⁻¹ no espectrograma infravermelho de ALG é devido à vibração de estiramento da estrutura COC no polissacarídeo⁽¹⁰⁾. Grupos de ácido carboxílico simétricos e assimétricos resultaram em picos de absorção em 1626cm⁻¹ e 1427cm⁻¹⁽¹¹⁾.

Os principais componentes do óleo essencial de alecrim são o 1,8 cineol, cânfora e β-pineno. A banda em 1730 cm⁻¹ devido ao estiramento da carbonila (C=O) provavelmente referente ao grupo cetona na cânfora. A banda na região entre 1680 e 1620 cm⁻¹ pode ser atribuído ao grupo alceno (C=C) característico do β-pineno e na faixa de 1270 a 1030 cm⁻¹ ocorre o estiramento assimétrico da ligação C-O do 1,8 cineol⁽¹²⁾.

O espectro das nanopartículas de alginato contendo óleo essencial de alecrim é similar ao espectro do alginato puro. Este resultado pode indicar que não houve migração do OEA para as camadas mais superficiais das NPs uma vez que a técnica de FTIR analisa a superfície da partícula⁽¹³⁾.

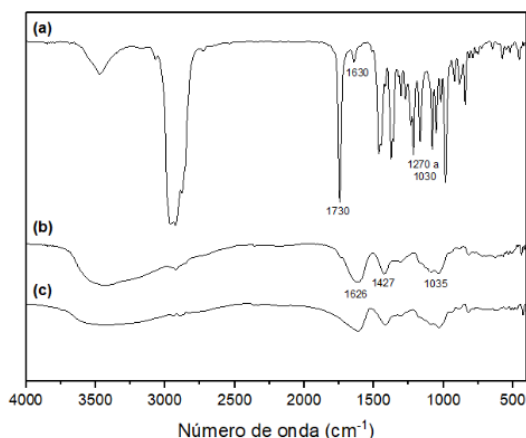


Figura 2: Espectros de FTIR de (a) OEA, (b) ALG e (c) NPs ALG-OEA.

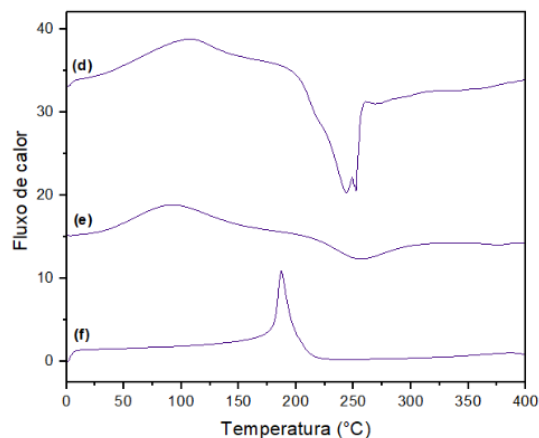


Figura 3: Curvas DSC do (d) ALG (e) NPs ALG-OEA e (f) OEA.

A partir da análise DSC é possível verificar se houve alteração na estabilidade térmica das nanopartículas e, portanto, demonstrar sua interação. Na Figura 3(d), os picos endotérmicos do ALG estão correlacionados com a perda de água associada aos grupos hidrofílicos do polímero, enquanto os picos exotérmicos resultam da degradação devido a reações de desidratação e despolimerização⁽¹⁴⁾. Na Figura 3(f) podemos ver os termogramas de OEA com pico endotérmico relacionado ao processo de evaporação. A ausência desse pico nas amostras das NPs na Figura 3(e) demonstra que o encapsulamento foi bem sucedido, além da semelhança das curvas com o alginato usado como material de parede.

Micrografias desse sistema de nanopartículas são mostradas na Figura 4.

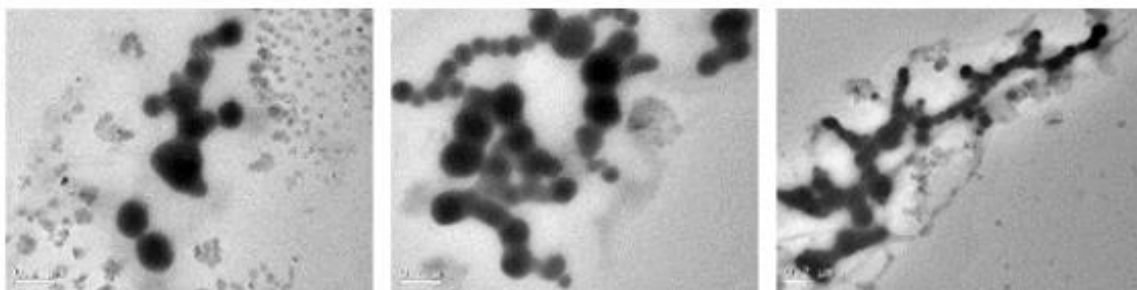


Figura 4: Micrografias TEM das NPs ALG OEA.

As imagens revelam claramente que a maioria das nanopartículas tem formato esférico e dimensões que variam de 100 a 200 nm. Esses resultados confirmam a formação de nanopartículas de alginato. Algumas das nanopartículas têm forma irregular e aparecem em estado agregado também, o que é um fenômeno comum em sistemas de nanopartículas. A presença de moléculas com cargas de natureza oposta pode ser a causa de sua agregação⁽¹⁵⁾. Além disso, o excesso de cálcio pode fazer com que as cápsulas grudem umas nas outras⁽¹⁶⁾. Ademais, sabe-se que devido à grande área de superfície e força atrativa entre as partículas, maior chance de agregação é possível em NPs de pequeno tamanho⁽¹⁷⁾.

A Tabela 2 mostra os resultados obtidos em termos de tamanho de partícula, PDI e potencial zeta após o armazenamento das nanopartículas a uma temperatura de 4°C.

Tabela 2: Observação do diâmetro médio de partícula, PDI e potencial zeta durante 90 dias e a 4°C.

Dias	Dp (nm)	PDI	PZ (mV)
1	131,3 ± 3,9	0,229 ± 0,017	-8,79 ± 0,57
15	138,4 ± 3,1	0,235 ± 0,012	-11,7 1,94
30	136,4 ± 1,6	0,256 ± 0,007	-8,14 1,62
90	130,9 ± 1,4	0,220 ± 0,011	-12,1 1,72

Por meio da Tabela 2, verifica-se que as amostras com o ativo, no decorrer do tempo de estudo, permaneceram dentro da faixa de tamanho ideal para a aplicação desejada, mesmo considerando o erro das medidas. A diminuição do tamanho de partícula pode ser devido a liberação do óleo encapsulado e/ou dissolução da matriz de alginato.

CONCLUSÕES

Neste estudo foram obtidas nanopartículas esféricas de alginato na faixa de 100-200 nm e com estabilidade de até 90 dias. De acordo com os resultados do DSC e FTIR, pode-se inferir que o óleo essencial de alecrim foi encapsulado com sucesso nas nanopartículas de alginato, sendo a eficiência de encapsulação medida de 83 %. Dessa forma, as nanopartículas foram produzidas com êxito, a técnica de encapsulamento utilizada foi efetiva e o processo de síntese simples. A reticulação do alginato com íons cálcio aumenta a resistência mecânica e as propriedades de barreira do biopolímero, fazendo com que o gel formado seja insolúvel em água. Isso permite uma variedade de aplicações industriais para esse biopolímero, por exemplo, nas indústrias têxtil e cosmética.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (CNPq) – Processo 425402/2018-5.

REFERÊNCIAS

1. GONZÁLEZ-MINERO, Francisco José; BRAVO-DÍAZ, Luis; AYALA-GÓMEZ, Antonio. *Rosmarinus officinalis* L.(Rosemary): An ancient plant with uses in personal healthcare and cosmetics. *Cosmetics*, v. 7, n. 4, p. 77, 2020.
2. EL ASBAHANI, A. et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. *International journal of pharmaceutics*, v. 483, n. 1-2, p. 220-243, 2015.
3. AHMAD, Usama et al. Strategies in development and delivery of nanotechnology based cosmetic products. *Drug research*, v. 68, n. 10, p. 545-552, 2018.
4. ALMEIDA, H. V. de. Características físicas e físico-químicas de partículas de alginato e quitosana obtidas por gelificação iônica. 2019. 40p. Monografia (Especialização) - Curso de Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
5. LU, Hao et al. Natural antimicrobial nano composite fibres manufactured from a combination of alginate and oregano essential oil. *Nanomaterials*, v. 11, n. 8, p. 2062, 2021.
6. BENAVIDES, Sergio et al. Development of alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. *Food chemistry*, v. 204, p. 77-83, 2016.

7. MOHANRAJ, V. J., CHEN, Y. "Nanoparticles-a review". Tropical journal of pharmaceutical research, v. 5, n. 1, pp. 561-573, 2006.
8. QUAGLIA, Fabiana et al. The intracellular effects of non-ionic amphiphilic cyclodextrin nanoparticles in the delivery of anticancer drugs. Biomaterials, v. 30, n. 3, p. 374-382, 2009.
9. LERTSUTTHIWONG, Pranee et al. Preparation of alginate nanocapsules containing turmeric oil. Carbohydrate polymers, v. 74, n. 2, p. 209-214, 2008.
10. LAWRIE, Gwen et al. Interactions between alginate and chitosan biopolymers characterized using FTIR and XPS. Biomacromolecules, v. 8, n. 8, p. 2533-2541, 2007.
11. MIMMO, Tanja et al. Characterisation of Ca-and Al-pectate gels by thermal analysis and FT-IR spectroscopy. Carbohydrate Research, v. 340, n. 16, p. 2510-2519, 2005.
12. TOPALA, Carmen Mihaela; TATARU, Lavinia Diana. ATR-FTIR Study of thyme and rosemary oils extracted by supercritical carbon dioxide. Rev. Chim.(Bucharest), v. 67, p. 842-846, 2016.
13. BUSATO, N. V. Nanopartículas de α -bisabolol em matriz de alginato-quitosana funcionalizadas com hialuronidase para aplicação no tratamento de hiperemia periorbital. 2019, 131p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
14. SOARES, João da Paixão et al. Thermal behavior of alginic acid and its sodium salt. Eclética Química, v. 29, p. 57-64, 2004.
15. BAJPAI, A. K. Facile preparation of ionotropically crosslinked chitosan-alginate nanosorbents by water-in-oil (W/O) microemulsion technique: Optimization and study of arsenic (V) removal. Journal of Water Process Engineering, v. 32, p. 100920, 2019.
16. ABANG, Sariah; CHAN, Eng-Seng; PONCELET, Denis. Effects of process variables on the encapsulation of oil in ca-alginate capsules using an inverse gelation technique. Journal of microencapsulation, v. 29, n. 5, p. 417-428, 2012.
17. POOVI, G. et al. Preparation and characterization of repaglinide loaded chitosan polymeric nanoparticles. Res J Nanosci Nanotechnol, v. 1, n. 1, p. 12-24, 2011.

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF CALCIUM ALGinate NANOCARRIERS CONTAINING ROSEMARY ESSENTIAL OIL

ABSTRACT

In this study, nanoparticles were developed from a natural polymer, alginate, to be used in the rosemary essential oil encapsulation. The encapsulation technology used was ionic emulsification/gelling. The mean diameter of the nanoparticles was 131 nm with encapsulation efficiency >86 %. DSC and FTIR analyze evidence of the successful encapsulation of rosemary essential oil in alginate nanoparticles. In addition, the samples were stable for a storage time up to 90 days, which demonstrates that alginate can be a good alternative for carrying this active.

Keywords: *rosemary essential oil, nanoencapsulation, alginate*