

## OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA-TPP PELO MÉTODO DE GELIFICAÇÃO IONOTRÓPICA

Daniel Aparecido Lopes Vieira da Cunha<sup>1</sup>; Taís Téó de Barros-Alexandrino<sup>2,3</sup>; Odílio Benedito Garrido Assis<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduação em Engenharia de Materiais e Manufatura, USP, São Carlos.  
daniel.aparecido.cunha@usp.br

<sup>2</sup>Programa de Pós Graduação em Biotecnologia, UFSCar, São Carlos. tais.teo@hotmail.com

<sup>3</sup>Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, São Carlos, SP. odilio.assis@embrapa.br

**Classificação:** Métodos e Processos para Aumento da Escala de Produção de Nanoprodutos de interesse do Agronegócio.

### Resumo

A gelificação ionotrópica é um processo que tem por base a capacidade que os polieletrólitos apresentam de entrecruzarem na presença de contra-íons e formarem estruturas gelatinosas também denominadas de “gelisferas”. A consolidação no estado semissólido ou sólido, quase sempre se dá no formato esférico. Para um efetivo entrecruzamento e subsequente formação de micro e nanoesferas, diversos parâmetros devem ser ajustados em função dos polímeros envolvidos e o objetivo do presente trabalho é o de avaliar parâmetros e procedimentos relacionados ao processo de gelificação ionotrópica na síntese de nanopartículas do sistema Quitosana-Tripolifosfato (QUI-TPP). Inicialmente estamos avaliando parâmetros experimentais que interferem no tamanho das partículas como a altura do gotejamento e a velocidade de agitação do meio. Os resultados indicam que nanopartículas com menores tamanhos são obtidas quando o gotejamento se dá a 8,0 cm de altura do meio reativo e a uma velocidade de agitação de 1500 rpm. Esses resultados preliminares indicam que tais parâmetros, normalmente menosprezados experimentalmente, são determinantes na síntese de nanopartículas do sistema Quit-TPP e que é possível otimizar o processo adequando-o para a síntese de partículas com tamanho desejado.

**Palavras-chave:** gelificação ionotrópica; nanopartículas; quitosana; tripolifosfato, entrecruzamento.

### OTIMIZATION OF THE PROCESS OF OBTAINING CHITOSAN-TPP NANOPARTICLES BY IONOTROPIC GELIFICATION

#### Abstract

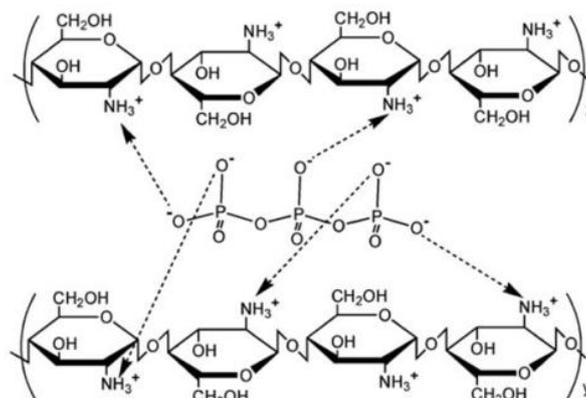
The ionotropic gelification consists in a process which has the capability of polyelectrolytes to crosslink in the presence of counter-ions forming gelatinous structures. The consolidation of these interactions in a semi-solid or solid state frequently occurs in a spherical format, being named “gelispheres”. For an effective cross-linking and subsequence formation of micro and nanospheres, several parameters should be adjusted in function of the type of the reacted polymers and the aim of the present study is to evaluate some parameters related to the ionotropic gelification process in the chitosan-thriphosphosphate system (Chi-TPP). First, we will evaluate experimental conditions that interfere in the size of the formed particles as the height of dropping and the speed of the reactive medium. The results show that the process results in smaller particles when the dropping is at 8.0 cm from the medium and at agitation of 1500 rpm. These are preliminary results, despite such parameters are often neglected, though determinants in the synthesis of nanoparticles from the system Chi-TPP. Additionally, such parameters can be optimized for obtaining particles with required sizes.

**Keywords:** ionotropic gelification; nanoparticles; chitosan; tripoliphosphate; crosslinking.

## 1 INTRODUÇÃO

A “gelificação iônica” ou “gelificação induzida por íon” ou ainda “gelificação ionotrópica” consiste na formação de estruturas gelatinosas, geralmente de formato esférico, que ocorre em consequência do entrecruzamento de polieletrólitos com cargas opostas, ou seja, na presença de contra-íons. Os compostos formados por esses entrecruzamentos tendem a formar estruturas, geralmente em dimensões nanométrica, de elevada área superficial, além de apresentar afinidade por uma série de compostos que apresentam grupos polares ou terminais carregados (PATIL et al., 2012). Essas nanoestruturas (nanopartículas) têm sido indicadas para emprego como agentes ativos, seja na ação direta ou como material de encapsulação em função da capacidade de intumescimento, que regida pela relaxação polimérica, permite a liberação reduzida ou controlada do composto encapsulado.

A utilização da quitosana e do tripolifosfato de sódio (TPP) no processo de gelificação iônica tem atraído considerável atenção por se tratar de um processo atóxico, livre de solventes orgânicos. Neste sistema, a gelificação ocorre pela interação entre grupos fosfatos negativamente carregados, presentes na estrutura do TPP com os grupos amino protonados da quitosana, segundo modelo apresentado por Yang et al., 2009 e ilustrado na Figura 1.



**Figura 1.** Mecanismo ideal de interação entre quitosana e TPP, baseado na dissociação dos fosfatos em ânions  $P_3O_{10}^{5-}$ , segundo modelo apresentado por Yang et al., 2009.

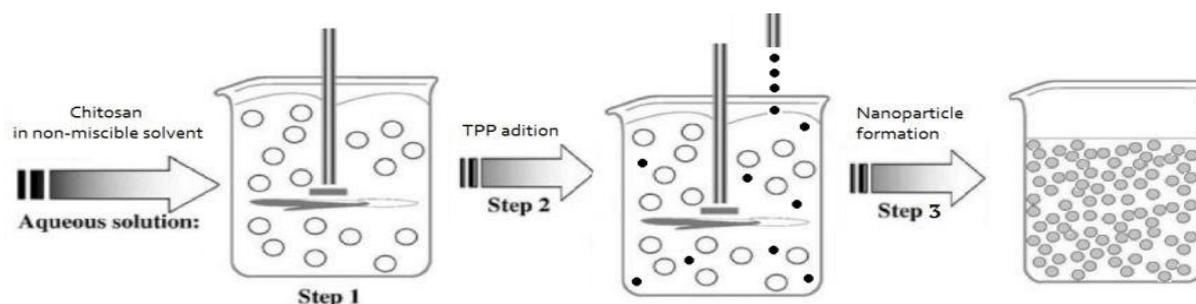
Na unidade da Embrapa Instrumentação temos avaliado o sistema Quit-TPP na formação de nanopartículas com atividade antimicrobiana (PILON et al., 2015), como carregadores de nutrientes em alimentos (BRITTO et al., 2012), como material de revestimento para encapsulação de vitaminas (BRITTO et al., 2016) e atualmente avaliando a atividade de nanopartículas Quit-TPP contra diversos fungos de interesse alimentício (BARROS-ALEXANDRINO, 2017).

Embora na prática o processo de produção dessas nanopartículas aparente ser relativamente simples, diversos parâmetros experimentais atuam significativamente na alteração dos resultados, e o objetivo desse trabalho é o de avaliar, com rigor estatístico, alguns desses parâmetros com o objetivo de otimizar e definir um procedimento que seja padrão e repetitivo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Síntese das suspensões de Nanopartículas de Quitosana-TPP

A nanopartículas de quitosana (Aldrich) foram inicialmente obtidas pelo procedimento padrão de gelatinização ionotrópica, no qual o gel de quitosana 1g/L foi preparado por solubilização em ácido acético a 1 %, sob agitação intensa ao longo de 6 horas. Em seguida, o TPP (tripolifosfato de sódio) (Aldrich) foi dissolvido em água destilada em uma concentração de 0,5g/L, e adicionado ao gel por via *drop wise* (gotejamento controlado e contínuo na razão de  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ), como mostrado na Figura 2. O entrecruzamento em meio aquoso e a suspensão reativa de quitosana e TPP centrifugada por 10 minutos a 5000 rpm, segundo procedimento adotado (BRITTO et al., 2012). Alíquotas das etapas do processo de síntese foram reservadas para comparação de seus tamanhos: (i) pré-centrifugação; (ii) sobrenadantes pós-centrifugação e (iii) partículas ressuspendidas.



**Figura 2.** Aparato Experimental utilizado para a síntese de Nanopartículas de Quitosana-TPP.

### 2.1.2 Variação dos parâmetros experimentais

A altura do gotejamento de TPP (5 e 8 cm) e velocidade de agitação do meio reativo (600; 1050 e 1500 rpm) foram variados visando a comparação entre os tamanhos das partículas resultantes de cada síntese. A vazão e o tamanho das gotas foram mantidos os mesmos.

### 2.2 Determinação do Potencial Zeta e Tamanho de Partícula

As dimensões das nanopartículas resultantes das diversas condições e seu o correspondente Potencial Zeta foram obtidas em medida no sistema Zeta Potencial Analyser Zetasizer Nano ZS ZEN 36000 (Malvern Instruments).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Tamanho de partícula e Potencial Zeta

Os dados experimentais indicam que partículas de menores dimensões são conseguidas conforme altura do gotejamento do TPP elevou-se de 5 para 8 centímetros com relação a superfície aquosa do meio com quitosana. Em algumas amostras foram obtidos aglomerados de quitosana, resultando em tamanhos acima de 1.000 nm, especialmente com menores velocidades de agitação do meio e provenientes da etapa pré-centrifugação. A tendência de redução do tamanho de partícula também foi observada quando consideramos o parâmetro velocidade de agitação, considerando que as medidas indicam que a distribuição de tamanhos diminui com o aumento da velocidade de agitação do meio, de 600 para 1050 e, posteriormente, para 1500 rpm. As partículas provenientes do sobrenadante apresentaram os menores tamanhos, possivelmente pelo fato de que, na etapa de centrifugação, as partículas maiores são sedimentadas. Foram obtidos valores de Potencial Zeta dentro da faixa de variação esperada para este tipo de material. A Tabela 1 apresenta os valores numéricos relacionados a estas variáveis, segundo dados obtidos até o momento.

**Tabela 1.** Comparação das nanopartículas obtidas pelo sistema Quit-TPP\*.

Amostras**	Pré-centrifugação		Sobrenadante		Ressuspensas	
	Tamanho (nm)	Zeta (mV)	Tamanho (nm)	Zeta (mV)	Tamanho (nm)	Zeta (mV)
H5_V600	8.581	16,1	987,6	13,7	1.730	14,45
H5_V1050	8.635	8,02	3.319	7,43	6.209	19,6
H5_A1500	6.679	14,7	2.739	14,2	3.267	26,9
H8_V600	6.593	12,7	1.454	9,59	2.587	-12,5
H8_V1050	329,5	20,4	257,7	20,8	722,7	29,3
H8_V1500	141,8	26,9	126,2	27,4	347,9	41,4

\*Comparação de tamanhos (nm) e potencial zeta (mV) das nanopartículas em diferentes etapas do processo de síntese.

\*\*Código de identificação utilizado: H (altura de gotejamento, em centímetros) e V (velocidade de gotejamento, em rpm).

Com essas análises preliminares vemos que as alterações são significativas, indicando que

parâmetros aparentemente negligenciados são importantes na definição de um procedimento padrão. Concentração dos polímeros, acidez e temperatura do meio estão correntemente em análise e permitirão a aplicação de estatística multivariada para definir as condições otimizadas do processo.

#### 4 CONCLUSÃO

As análises realizadas sugerem que os parâmetros altura de gotejamento e velocidade de agitação têm influência direta na formação das micro e nanopartículas no sistema Quit-TPP, segundo valores numéricos obtidos em cada uma das etapas de síntese. Os dados indicam que é possível otimizar o processo e adequá-lo para o estabelecimento de um procedimento experimental adequado na obtenção de partícula com características desejadas para diferentes aplicações.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da UFSCar, a CAPES pela concessão de bolsa e a Rede AgroNano por auxílios recebidos.

#### REFERÊNCIAS

BARROS-ALEXANDRINO, T.T. Síntese e caracterização de Nanopartículas de Quitosana-TPP e seu potencial como antifúngico natural, Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2017 (em andamento).

BRITTO, D.; MOURA, M.R.; AOUADA, F.A.; MATTOSO, L.H.C.; ASSIS, O.B.G. *N,N,N*-Trimethyl chitosan nanoparticles as a vitamin carrier system. *Food Hydrocolloids*, v.27, n.2, p. 487-493, 2012.

BRITTO, D.; PINOLA, F.G.; MATTOSO, L.H.C.; ASSIS, O.B.G. Analysis of thermal and aqueous suspension stabilities of chitosan based nanoencapsulated vitamins. *Química Nova*, v.39, n.9, p.1126-1130, 2016.

PILON, L.; SPRICIGO, P.C.; MIRANDA, M.; MOURA, M.R.; ASSIS, O.B.G.; MATTOSO, L.H.C.; FERREIRA, M.D. Chitosan nanoparticle coatings reduce microbial growth on fresh-cut apples while not affecting quality attributes. *International Journal of Food Science & Technology*, v. 50, n. 2, p. 440-448, 2015.

PATIL, P.; CHAVANKE, D.; WAGH. M. A review on ionotropic gelation method: novel approach for controlled gastroretentive gelspheres. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. v.4, n. 4, p. 27-32, 2012.