

Influência das condições de reação na produção de nanopartículas no grau de encapsulamento do cardanol**Influence of reaction conditions on the production of nanoparticles on the degree of encapsulation of cardanol**

DOI:10.34117/bjdv6n7-793

Recebimento dos originais: 25/06/2020

Aceitação para publicação: 29/07/2020

Roberta Bussons Rodrigues Valério

Mestre em Recursos Naturais pela Universidade Estadual do Ceará
Instituição: Universidade Estadual do Ceará – Campus do Itaperi
Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Itaperi, Fortaleza – CE, Brasil.
E-mail: roberta.rodrigues@uece.br

Nilvan Alves da Silva

Mestre em Química Analítica pela Universidade Federal do Ceará
Instituição: Universidade Estadual do Ceará – Campus do Itaperi
Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Itaperi, Fortaleza – CE, Brasil.
E-mail: nilvan_alves@hotmail.com

José Ribamar Paiva Junior

Mestre em Química pela Universidade Federal do Ceará
Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Itaperi, Fortaleza – CE, Brasil.
E-mail: junior_sousa11@hotmail.com

Valéria Maria Sousa Ferreira

Especialista em Ensino de Química pela Universidade Federal do Ceará
Instituição: Universidade Estadual do Ceará – Campus do Itaperi
Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Itaperi, Fortaleza – CE, Brasil.
E-mail: val_msf@hotmail.com

Anderson Valério Chaves

Mestre em Química Inorgânica pela Universidade Federal do Ceará
Instituição: Universidade Estadual do Ceará – Campus do Itaperi
Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Itaperi, Fortaleza – CE, Brasil.
E-mail: anderson.valerio@uece.br

Maria Madalena de Camargo Forte

Doutora em Ciência e Tecnologia de Polímeros pela Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituição: Pós Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Endereço: Av. Bento Gonçalves 9500, Porto Alegre, RS - Brasil
E-mail: mmcforte@gmail.com

Selene Maia Morais

PhD em Química Orgânica pela Universidade de Aveiro em Portugal
Instituição: Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, Universidade Estadual do Ceará.

Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Campus Itaperi, Fortaleza – CE, Brasil.
E-mail: selene@uece.br

Flávia Oliveira Monteiro da Silva Abreu

Doutora em Engenharia de Materiais pela Universidade Federal Do Rio Grande do Sul
Instituição: Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, Universidade Estadual do Ceará.
Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Campus Itaperi, Fortaleza – CE, Brasil
E-mail: flavia.monteiro@uece.br

RESUMO

O Cardanol, extraído e principal constituinte do líquido da casca da castanha de caju técnico tem inúmeras aplicações como atividade antibacteriana, larvicida, leishmanicida e baixa toxicidade. O encapsulamento deste ativo por meio de nanopartículas (NPs) a base de quitosana (QUI) pode ser um método eficaz para preservar suas propriedades e propiciar sua liberação controlada. Neste contexto, objetivou-se neste trabalho produzir nanopartículas empregando um delineamento fatorial de experimentos 2^3 para avaliar a influência das condições de reação na nanoencapsulação do cardanol. As NPs NP7 e NP8, com núcleo de quitosana, apresentaram tanto eficiência de encapsulamento quanto rendimento acima de 45%. O potencial superficial revelou valores negativos de -20 mV, o que indica que os polímeros alginato de sódio e goma arábica, usados como revestimento externo, foram capazes de formar complexos estáveis. A análise por microscopia óptica sugeriu a existência de pequenas partículas agrupadas, as NPs apresentaram tamanho nanométrico com distribuição bimodal, variando entre 34,9 nm e 312,2 nm. O delineamento fatorial permitiu a otimização das condições reacionais para produção de nanopartículas a base de quitosana que se mostraram promissoras para encapsulamento do cardanol.

Palavras-chave: Quitosana; Alginato; encapsulamento; cardanol, nanopartículas.

ABSTRACT

Cardanol, extracted and the main constituent of the liquid from the technical cashew nut shell, has numerous applications such as antibacterial activity, larvicide, leishmanicide and low toxicity. The encapsulation of this compound by chitosan-based nanoparticles can be an effective method to preserve its properties and provide controlled release. In this context, the aim of this work was to produce nanoparticles (NPs) using a factorial design of experiments 2^3 to evaluate the influence of reaction conditions on cardanol nanoencapsulation. NPs NP7 and NP8, with chitosan (CHI) core, showed encapsulation efficiency and yield above 45%. The surface potential revealed negative values to -20 mV, which indicates that the polymers sodium alginate and gum arabic used as an external coating, were able to form stable complexes. The analysis by optical microscopy suggested the existence of small grouped particles, the NPs had a nanometric size with bimodal distribution, varying between 34.9nm and 312.2nm. The factorial design allowed the optimization of the reaction conditions for the production of chitosan-based nanoparticles that were promising for cardanol encapsulation.

Keywords: Chitosan; Alginate; encapsulation; cardanol, nanoparticles.

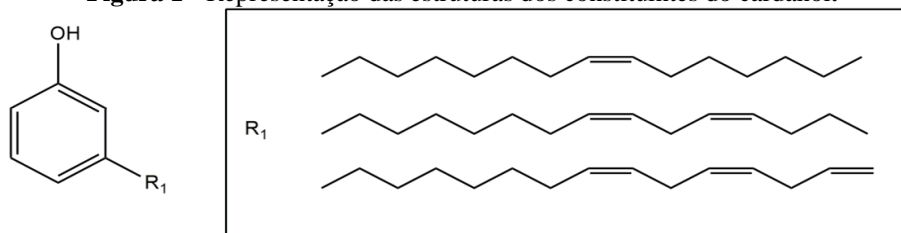
1 INTRODUÇÃO

O cardanol é o principal constituinte do líquido da castanha de caju técnico (LCCT), obtido como subproduto das indústrias de beneficiamento da castanha de caju. É uma mistura de fenóis que apresenta uma cadeia lateral alifática de quinze carbonos na posição meta em relação à hidroxila,

contendo de zero a três insaturações (Figura 1). A cadeia alquílica presente nestes compostos exerce influência significativa na atividade biológica, como proteção contra a degradação biológica ou oxidação química (CORREIA, 2006). Dependendo das condições de extração e de manuseio essas ligações podem sofrer alterações (PRABAKARAN, 2001). A partir dele e de seus derivados pode-se obter substâncias com inúmeras aplicações, tendo apresentado acentuada atividade bactericida, fungicida, antitumoral, larvicida e leishmanicida.

Segundo a *Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD)*, uma das principais características do cardanol como matéria-prima renovável e intermediário químico é sua não toxicidade que mesmo baixa pode ser melhorada com o encapsulamento e a liberação controlada para utilização como biofármaco. Logo, por ser um subproduto da indústria de castanha, qualquer melhoria se caracteriza verdadeiramente como uma inovação tecnológica.

Figura 1 - Representação das estruturas dos constituintes do cardanol.



Fonte: autores

As nanopartículas (NPs) a base de polissacarídeos tem sido amplamente utilizadas devido à capacidade de encapsular princípios ativos de forma eficiente em suas matrizes poliméricas hidrofílicas, através de interações iônicas entre compostos que apresentam cargas opostas (ABREU, 2012). Dentre os biopolímeros mais empregados, estão a Quitosana e o Alginato de Sódio, que por complexação polieletrólítica geram redes de sistemas de liberação controlada.

A quitosana (QUI), uma d-glucosamina e N-acetil-d-glucosamina, é a forma desacetilada da quitina, um polissacarídeo abundante presente no exoesqueleto de crustáceos (BERGER, 2004; DE, ROBINSON, 2003). É um polímero com que apresenta biocompatibilidade, biodegradabilidade e é atóxico, tendo emprego na indústria farmacêutica, em aplicações biomédicas e na agricultura (DE OLIVEIRA, 2014). O alginato de sódio (ALG) é um copolímero poliânico linear formado por unidades de ácido gulurônico e manurônico (LERTSUTTHIWONG, 2008), que na presença de íons cálcio é transformado em gel, é atóxico e biocompatível para encapsulamentos.

Devido a estas características, NPs formadas a partir do complexo de QUI pela reticulação dos grupos amino que apresentam característica catiônica, com os grupos fosfato, ou seja, moléculas

aniônicas do ALG ou tripolifosfato de sódio (TPP) (NAGPAL, SINGH, MISHRA, 2010). Da Silva et al, (2020), propôs estudar vários parâmetros que podem influenciar no processo de formação de nanopartículas com quitosana e tripolifosfato em função da concentração de ácido (1,0; 0,5 e 0,1%) e do tipo de ácido (clorídrico e acético).

Assim, as NPs obtidas a partir de quitosana e alginato de sódio ou tripolifosfato podem apresentar propriedades diferentes em função das condições de reação, e evidenciar vantagens significativas em relação ao tamanho, potencial zeta e estabilidade, influenciando na eficiência de encapsulação e capacidade de revestir os fármacos, visando evitar a degradação de princípio ativo, melhorar a sua eficácia, contornar a sua toxicidade e prolongar consideravelmente a sua atividade biológica (CLEMENTE-NAPIMOGA, 2012; LACERDA, 2016).

Desta forma, propõe-se neste trabalho a obtenção de nanopartículas polissacarídicas do tipo *core-shell* por meio da complexação polieletrólítica, comparando-se entre dois sistemas no qual houve inversão do material usado com o núcleo e revestimento. Avaliou-se o melhor sistema desenvolvido entre os dois propostos para o encapsulamento do óleo cardanol, em relação ao rendimento do material e o grau de encapsulamento do princípio ativo. A partir do melhor sistema foi realizado um desing experimental, através de um planejamento fatorial 2^3 seguido por análise estatística ANOVA, aplicado para identificação dos fatores significativos na eficiência de encapsulamento e no rendimento da produção de NPs. Posteriormente, utilizando de análise de regressão linear, pode-se apresentar um modelo preditivo das propriedades finais das nanopartículas no que se refere aos possíveis efeitos no rendimento e na eficiência de encapsulamento de acordo com os fatores e efeitos de interação que lhe são dependentes.

2 EXPERIMENTAL

2.1 MATERIAIS

Os polímeros escolhidos para a síntese das NPs foram quitosana de caranguejo obtida e purificada conforme descrito em Abreu et al., (2012), com massa molar viscosimétrica (Mz) $41,26 \times 10^4$ g/mol e grau de desacetilação de 77%, o alginato de sódio foi comprado da Sigma e utilizado sem modificações. E ainda, foi utilizado o emulsificante Tween 80, cloreto de cálcio, persulfato de amônio, goma arábica (GOMA), tripolifosfato de sódio (TPP), o LCC técnico foi cedido pela Companhia Industrial de Óleos do Nordeste (CIONE) e o óleo Cardanol foi isolado e purificado conforme a metodologia de Paramashivappa et al., (2001).

2.2 ENSAIOS PRELIMINARES○ *Preparação de nanopartículas de ALG/QUI e QUI/ALG*

NPs ALG/QUI: preparou-se soluções a 1% m/v dos polímeros quitosana em ácido acético 2% v/v, e alginato de sódio em água destilada. As nanopartículas foram preparadas em proporções adequadas, a fim de obter ALG/QUI na razão 10/1.

A solução de alginato de sódio, o emulsificante Tween 80 e o princípio ativo Cardanol – foram agitados por 5 minutos, e então, sonicou-se por 15 minutos (Ultra 800). Em seguida, adicionou-se sob gotejamento cloreto de cálcio 10^{-2} M e após a adição a solução foi deixada sob agitação por 30 min. Posteriormente, adicionou-se sob gotejamento a solução de quitosana, que ficou sob agitação por 30 min.

QUI/ALG: Foram usadas para este método as mesmas soluções poliméricas, entretanto, inverteu-se a proporção e ordem de adição das mesmas. As nanopartículas foram preparadas em proporções adequadas, a fim de obter QUI/ALG na razão 10/1

Também se adicionou sob gotejamento persulfato de amônio 10^{-2} M que ficou sob agitação por 30 min. As nanopartículas preparadas pelos dois métodos foram centrifugadas a 10.000 RPM (Novatécnica NT 810) e secas por liofilização (Liotop L101).

○ *Caracterização das Nanopartículas*

As NPs foram caracterizadas quanto ao rendimento através da relação entre a massa das NPs liofilizadas, pesada em balança analítica, com a massa total adicionada no sistema. O grau de encapsulamento do cardanol foi determinado por espectroscopia UV/VIS (585 nm) pela seguinte metodologia: uma amostra de 3 mg liofilizada foi deixada em repouso em uma solução de álcool etílico 95%, e teve a concentração de fármaco liberado medida após 24h e 48h. A concentração foi determinada com o auxílio de curva de calibração usando sete pontos de concentração a partir da solução mãe, cuja equação é demonstrada na Eq (1):

$$y = 0,0009x - 0,1316 \quad R^2 = 0,9880 \quad (1)$$

Onde: y: Absorbância; x: concentração de óleo em mg/L.

Determinou-se o grau de encapsulamento do óleo nas NPs usando a Eq (2).

$$\%GE = \frac{[\text{óleo}]_{NPs}}{[\text{óleo}]_{total}} \quad (2)$$

Onde: $[\text{óleo}]_{NPs}$: concentração de óleo presente nas NPs. $[\text{óleo}]_{total}$: concentração de óleo total adicionada no meio reacional.

○ Planejamento Fatorial e Análise Estatística

Foi utilizado um planejamento experimental fatorial 2^3 sem réplicas a fim de avaliar as influências dos dois tipos de matrizes de revestimento, os tipos de reticuladores e concentração da matriz. O planejamento consistiu em oito experimentos, sendo que cada um dos três fatores foi avaliado em dois diferentes níveis, baixo (-1) e alto (+1). No estudo do planejamento fatorial 2^3 sem réplicas, as interações que apresentam menor soma quadrada se aproximam do ruído e então são utilizadas para compor o termo de erro. Avaliou-se a influência da matriz de revestimento, tipo de reticulador e concentração da matriz nos resultados de rendimento e eficiência de encapsulamento.

Tabela 1 - Matriz dos níveis das variáveis utilizadas no Planejamento Fatorial 2^3 .

Experimentos	Fator A	Fator B	Fator C
1	(-1)	(-1)	(-1)
2	(+1)	(-1)	(-1)
3	(-1)	(+1)	(-1)
4	(+1)	(+1)	(-1)
5	(-1)	(-1)	(+1)
6	(+1)	(-1)	(+1)
7	(-1)	(+1)	(+1)
8	(+1)	(+1)	(+1)

Legenda: Fator A: Tipo de revestimento; nível baixo (-1) = Alginato e nível alto (+1) = Goma Arábica.

Fator B: Tipo de reticulador; nível baixo (-1) = Persulfato e nível alto (+1) = TPS.

Fator C: Concentração da matriz; nível baixo (-1) = 0,5% e nível alto (+1) = 1,0%.

Os planejamentos experimentais baseados em fundamentos estatísticos são uma forma confiável de alcançar as condições maximizadas de um processo, ou de avaliar a influência de certos fatores em um processo. Os cálculos de contraste, efeito e soma quadrada da matriz fatorial estão representados nas equações 1, 2 e 3, respectivamente, a seguir:

$$\text{Contraste de A} = (A + AB + AC + ABC) - ((1) + B + C + BC) \quad (1)$$

$$\text{Efeito de A} = \frac{\text{Contraste de A}}{r \times 2^{(k-1)}} \quad (2)$$

$$\text{SQA} = \frac{(\text{Contraste de A})^2}{r \times 2^k} \quad (3)$$

Onde: r = nº de repetições de cada ensaio; k = nº de fatores estudados.

○ *Tamanho de partícula*

O tamanho médio das nanopartículas das amostras em solução, foram determinados através de um Nano ZetaSizer modelo Malvern 3600. As análises foram realizadas no Laboratório de Tecnologia da Biomassa (Embrapa).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 RESULTADOS DOS ENSAIOS PRELIMINARES

As propriedades das NPs dependem das atrações eletrostáticas entre os polímeros e os agentes de reticulação inotrópicos, bem como da ordem de adição destes no sistema, que por sua vez influenciam na interação com o Cardanol. As NPs foram produzidas com os mesmos polímeros, alterando apenas a ordem de adição dos mesmos e dos reticuladores a fim de conhecer o método com um maior rendimento de NPs e encapsulamento do princípio ativo.

Nos ensaios preliminares, as partículas ALG/QUI produzidas foram reticuladas com cloreto de cálcio para formar um complexo primário ALG-Ca⁺², no qual as cargas catiônicas do reticulador ligam-se os grupos aniônicos carboxílicos do alginato. Já as partículas QUI/ALG foram reticuladas com o persulfato de amônio (NH₄)₂S₂O₈ para formar o complexo primário QUI-S₂O₈⁻², em que as cargas aniônicas do agente reticulante ligam-se por atração eletrostática com as cargas catiônicas dos grupos aminos protonados presentes na estrutura da quitosana. Na Tabela 2 observa-se o rendimento obtido em cada método de encapsulamento.

Tabela 2: Rendimento e Grau de encapsulamento de acordo com a variação da ordem na matriz polimérica.

Composição da Partícula núcleo/revestimento	Rendimento percentual %	Grau de encapsulamento
ALG/QUI	25,55	20,79%
QUI/ALG	54,42	26,04%

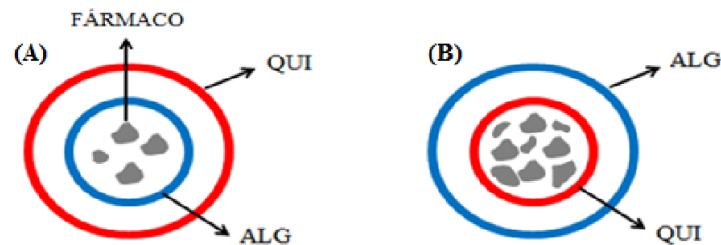
Fonte: autores

As diferenças relativas das caracterizações das NPs em termos percentuais em ambos os métodos podem ser atribuídas à influência do reticulador em minimizar as repulsões eletrostáticas das cargas iônicas dos polímeros. A Figura 2 ilustra a influência da ordem de adição dos polímeros no grau de encapsulamento do óleo. A interação do complexo QUI-S₂O₈⁻² (QUI/ALG) com o princípio ativo proporcionou a melhor estabilidade ao sistema polimérico bem como ao maior índice

e capacidade de carga suportada de óleo nas NPs produzidas em relação à interação proveniente do ALG-Ca⁺².

Pode-se observar que a Figura 2(A) representa as partículas (ALG/QUI), onde o complexo de ALG-Ca⁺² é o núcleo encapsulante, revestido pela QUI, enquanto que a Figura 2(B) representa as partículas (QUI/ALG), onde o complexo QUI-S₂O₈⁻² é o núcleo encapsulante revestido pelo ALG. Destes dois sistemas produzidos, nas condições experimentais executadas, a quitosana atuou de forma mais efetiva como núcleo encapsulante, levando a maior grau de teor de óleo cardanol e com maior rendimento.

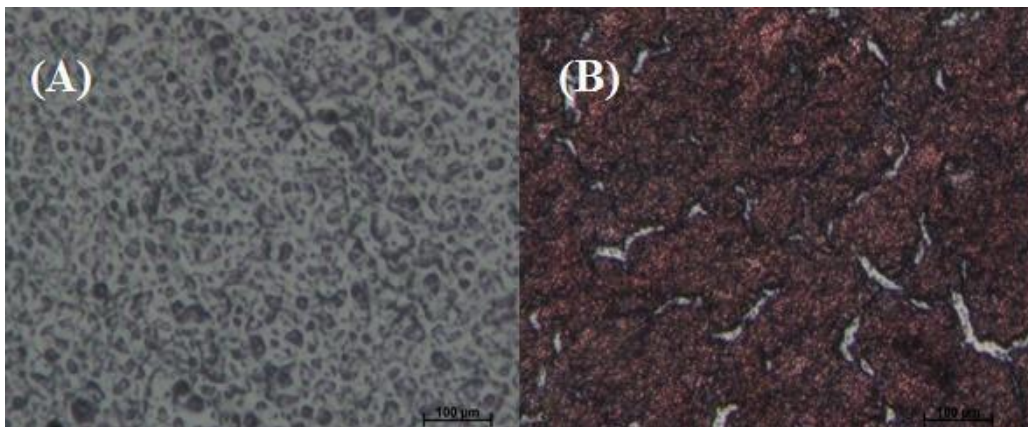
Figura 2: NPs produzidas por diferentes métodos. (A) Complexo ALG-Ca⁺² revestido com QUI; (B) Complexo QUI-S₂O₈⁻² revestido com ALG.



Fonte: autores

Avaliou-se o perfil dos sistemas produzidos por Microscopia Óptica. Pela Figura 3, podem-se observar diferentes graus de aglomeração de partículas no sistema QUI/ALG e ALG/QUI.

Figura 3: Micrografia de NPs a base de QUI e ALG: (A) sistema ALG/QUI (100x); (B) sistema QUI/ALG (100x).



Fonte: autores

As partículas formadas pelo sistema ALG/QUI apresentaram tamanho nitidamente micrométrico (Fig. 3A). Entretanto, no sistema QUI/ALG (Fig. 3B), a morfologia revelou uma aglomeração de partículas, com partículas muito pequenas sobrepostas, com menor tamanho do que as do sistema ALG/QUI.

As NPs QUI-TPP/ALG apresentaram-se mais efetivas em relação ao grau de encapsulamento e rendimento do que as NPs ALG-Ca/QUI, provavelmente, devido à maior eficácia do TPP por apresentar cinco sítios aniônicos propícios para reticular um maior número de cadeias de QUI. Estudos com o uso de complexação entre macromoléculas de cargas opostas para reticular compostos de quitosana têm chamado muita atenção, por ser um processo bastante simples. Além disso, a reticulação reversível causada por interações eletrostáticas, no lugar de ligações químicas, é proposta para evitar toxicidade e outros efeitos indesejáveis (SHU e ZHU, 2002).

Desta forma, uma pequena quantidade de tripolifosfato causa poucos pontos de reticulação nas cadeias de quitosana, que ocorrem de forma bem distribuídas ao longo das NPs. Nas NPs ALG-Ca/QUI, a adição de uma quantidade equivalente de íons cálcio gera uma maior quantidade de pontos de reticulação nas cadeias de alginato, o que pode levar a uma agregação de partículas e causar a formação de complexos interagregados (ABREU, et al., 2009).

Com base nos resultados preliminares, realizou-se um design experimental partindo-se do sistema QUI/ALG, usando a quitosana como núcleo e o testando-se dois tipos de polissacarídeos como revestimento externo, o alginato e a goma arábica. Este estudo teve como objetivo o desenvolvimento de um sistema de liberação controlada otimizado, com maior rendimento e maior grau de encapsulamento.

○ *Design Experimental*

No planejamento fatorial 2^3 avaliou-se a influência das variáveis nas características das nanopartículas por meio de análise estatística ANOVA e Regressão Linear. Os experimentos realizados apresentaram variação no Rendimento e Eficiência de Encapsulamento em função da composição da NP produzida, conforme consta na Tabela 3.

Tabela 3: Eficiência de encapsulamento e rendimento das NPs em função dos parâmetros de reação para sua composição.

	Matriz de revestimento	Tipo de Reticulador	Concentração da quitosana	Eficiência de Encapsulamento (%)	Rendimento (%)
NP1	Alginato	Persulfato	0,5%	29,4	74,0
NP2	Goma Arábica	Persulfato	0,5%	39,8	79,1
NP3	Alginato	Tripolifosfato	0,5%	25,9	56,9
NP4	Goma Arábica	Tripolifosfato	0,5%	33,1	69,5
NP5	Alginato	Persulfato	1,0%	34,6	85,0
NP6	Goma Arábica	Persulfato	1,0%	31,0	75,7
NP7	Alginato	Tripolifosfato	1,0%	49,6	62,6
NP8	Goma Arábica	Tripolifosfato	1,0%	60,0	48,0

Fonte: autores

A análise ANOVA permite avaliar quais fatores são significativos e ainda se há efeito de interação entre as variáveis do sistema. A Tabela 4 mostra os resultados obtidos através do Excel modo estatístico com intervalo de confiança de 95% na eficiência de encapsulamento do sistema. Quanto maior a soma quadrada indica maior probabilidade de o efeito ser significativo. As somas quadradas dos efeitos AB, AC e ABC apresentaram valores muito baixos e, portanto, foram somados e incorporados ao termo de ERRO. Quando $F_o > F_{crítico}$, indica que os fatores são significativos. No que diz respeito à influência dos fatores na eficiência de encapsulamento, apenas um fator principal e um efeito de interação secundária se mostraram significativos, que foram fator C, que corresponde à concentração da matriz e o efeito BC, que ocorre em um efeito de interação entre o reticulador e a concentração da matriz.

Tabela 4: Análise estatística ANOVA sobre o efeito das variáveis na eficiência de encapsulamento.

	SQ	GL	MQ	F0	Fcrítico
A	74,8	1,0	74,8	3,4	10,1
B	143,2	1,0	143,2	6,6	10,1
C	277,9	1,0	277,9	12,7	10,1
BC	368,2	1,0	368,2	16,8	10,1
Erro	65,6	3,0	21,9		
SQTOTAL	929,7	7,0	132,8		

Legenda: (SQ) = soma dos quadrados, (GL) = grau de liberdade e (MQ) = média quadrada, os valores de F- teste para todas as variáveis e suas interações. Fator A: Tipo de revestimento; Fator B: Tipo de reticulador; Fator C: Concentração da quitosana;

A fim de prever o comportamento padrão dos efeitos das variáveis significativas que afetam o grau de encapsulamento das NPs, foi realizada análise de regressão linear, cujo resultado final consta na equação 4:

$$EE = 37,9 + 5,9C + 6,8BC \quad R^2 = 0,695 \quad \text{I.C.} = 92\% \quad (4)$$

Onde: EE é a eficiência de encapsulamento, C é o fator da concentração da quitosana e BC é a interação entre os fatores tipo de reticulador e concentração de quitosana.

É possível observar pelos resultados obtidos que uma maior eficiência de encapsulamento é obtida quando $C = +1$ e $B = +1$, que correspondem a concentração da de quitosana 1%, e usando reticulador tripolifosfato. Desta forma, conclui-se que os experimentos que utilizaram o tripolifosfato de sódio como reticulador, cuja dissolução de $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ em uma solução de quitosana mais concentrada produziu uma reticulação iônica mais efetiva, favorecendo um melhor encapsulamento do óleo cardanol.

Desta forma, a análise preditiva consegue explicar quase 70% da variabilidade dos valores de encapsulamento com a equação proposta. No estudo da influência das variáveis que afetam o rendimento, os resultados constam na Tabela 5.

Tabela 5: Análise estatística ANOVA sobre o efeito das variáveis no rendimento.

	SQ	GL	MQ	Fo	Fcrítico
SQB	736,3	1	736,3	164,4	10,1
SQAC	216,6	1	216,6	48,4	10,1
SQBC	68,2	1	68,2	15,2	10,1
SQABC	20,6	1	20,6	4,6	10,1
ERRO	13,4	3	4,5		
TOTAL	1055,1	7	150,7		

Fonte: autores

Na análise ANOVA para o rendimento, os termos A, AB e C obtiveram uma soma quadrática muito baixa, portanto foram associadas ao termo de ERRO.

No que diz respeito à influência dos fatores no rendimento, apenas um fator principal e dois efeitos de interação secundária se mostraram significativos, que foram fator B, que corresponde ao tipo de reticulador, o efeito BC, que ocorre em um efeito de interação entre o reticulador e a concentração da matriz e o efeito AC, que corresponde a um efeito de interação entre o revestimento e a concentração da matriz.

A fim de prever o comportamento padrão dos efeitos das propriedades significativas nas características das NPs, foi realizada regressão linear para o rendimento, cujo resultado final consta na equação 5:

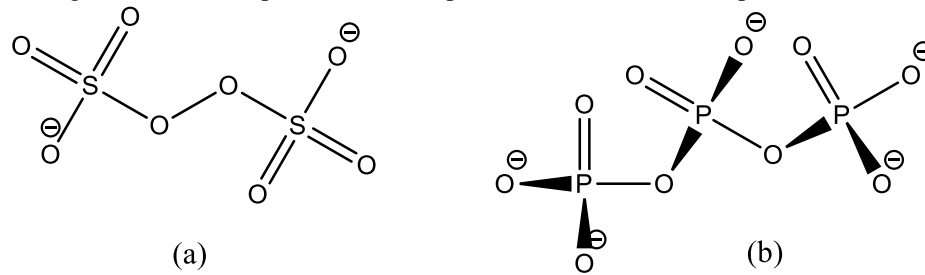
$$R = 68,9 - 9,6B - 5,2 AC - 2,9BC \quad R^2 = 0,967 \quad I.C.= 95\% \quad (5)$$

Onde: R é o rendimento, o fator B corresponde ao tipo de reticulador, AC corresponde a interação entre o tipo de revestimento e a concentração de quitosana e BC corresponde a interação entre os fatores tipo de reticulador e concentração de quitosana.

Pelos resultados obtidos, é possível observar que um maior rendimento é alcançado substituindo-se na equação B = -1 (nível baixo - reticulador persulfato de amônio), C= +1 (nível alto - Quitosana 1%) e A= -1 (nível baixo- Alginato como matriz de revestimento), tornando assim todos os termos em fatores de soma no rendimento. Desta forma, obtém-se um rendimento teórico máximo de 86,6%. Desta forma a análise de regressão linear consegue explicar quase 97% da variabilidade dos valores de rendimento.

Os reticuladores aniônicos persulfato e TPP apresentam estruturas químicas diferentes, como se pode observar na Figura 4. Apesar de o persulfato ter influenciado favoravelmente no rendimento das NPs, a maior densidade de carga do TPP ocasionou uma estrutura mais coesa que apresentou de forma crucial para a retenção do cardanol dentro de sua estrutura. Estudos relataram a utilização de micropartículas de quitosana reticuladas por ânions de tripolifosfato TPP preparados por pulverização, onde o tamanho e a morfologia das micropartículas resultantes foram analisados em decorrência da influência do TPP na solução e pela concentração da solução polimérica, apresentando características favoráveis a aplicações em microencapsulações (KAŠPAR et al, 2013). Sarkar e colaboradores estudaram a síntese de nanofibras (78 nm de diâmetro) de uma blenda de quitosana-PEO em uma solução de ácido acético. A estabilidade da nanofibra foi relacionada ao cross link entre quitosana e íons tripolifosfato (SARKAR, 2013). NPs de quitosana-alginato foram usadas para encapsular o cardol e o ácido anacárdico usando um procedimento de gelificação em duas etapas seguido de revestimento externo, NPs apresentaram tamanho nanométrico, com 90% da distribuição variando de 70 a 250 nm (PAIVA FILHO, 2019).

Figura 4: Estrutura química do ânion persulfato (a) e do ânion tripolifosfato (b).



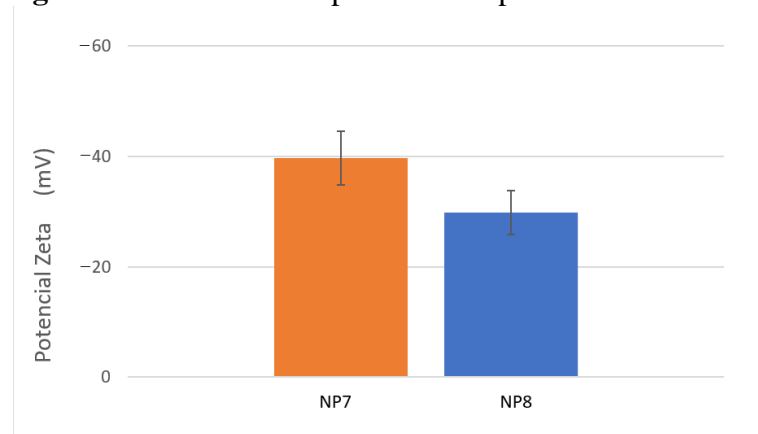
Fonte: autores

Os resultados do design experimental revelaram que a fim de atingir melhor encapsulamento, a quitosana deve ser trabalhada na concentração de 1%, usando o reticulador tripolifosfato. No entanto, para otimização do rendimento, o reticulador persulfato apresentou melhor desempenho, indicando que um compromisso entre as propriedades desejadas deve ser estabelecido. Desta forma, a NP7 se destacou por apresentar bom encapsulamento e rendimento intermediário. A NP8 apresentou maior grau de encapsulamento de todos experimentos produzidos, o que é propício para assegurar um sistema efetivo de liberação prolongada. Desta forma, a NP7 e a NP8 foram escolhidas e caracterizadas em função de suas propriedades físico-químicas para escolha do sistema mais promissor para aplicação em sistemas de liberação controlada.

○ *Potencial Zeta*

O potencial Zeta revela a carga existente na superfície da partícula. Os potenciais superficiais das NP7 e NP8 são exibidos a seguir, na Figura 4.

Figura 5: Potencial Zeta para as Nanopartículas NP7 e NP8.



Fonte: autores.

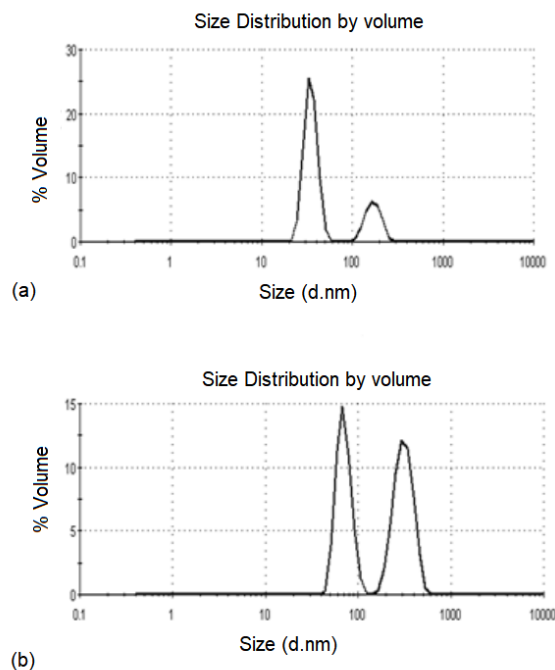
Os valores negativos de potencial zeta devem-se ao fato dos polissacarídeos utilizados para o revestimento das partículas (ALG e Goma arábica), possuírem cargas negativas ao longo de suas

cadeias e indicam que a NP com núcleo de QUI foi revestido com sucesso (LERTSUTTHIWONG, 2008; PARMAR e SHARMA, 2010). Observa-se, no entanto, a NP7, produzida com ALG como revestimento, apresentou um valor do potencial de $-39,7 \pm 4,9$ mV apresentando-se com alta estabilidade em solução. A NP8 também apresentou estabilidade em solução, porém exibiu um menor valor de potencial ($-29,8 \pm 4,0$ mV), que pode ser resultado de um menor número de grupamentos ácidos distribuídos na estrutura carbônica da goma arábica. Estudos recentes produziram NPs à base de QUI-ALG carregadas com ácido anacárdico e cardol e apresentaram valores negativos do potencial de superfície, respectivamente de $-18,8$ e $-9,8$ mV (PAIVA FILHO et al, 2019).

o *Tamanho de partícula*

Os resultados do tamanho de partícula para as amostras constam na Figura 5, observa-se que as nanopartículas produzidas apresentaram distribuição bimodal, com diferenças no seu perfil de distribuição.

Figura 6: Gráficos da distribuição do tamanho de partículas pelo volume total de partículas para as amostras (a) NP7 e (b) NP8.



A amostra NP7 apresentou uma fração minoritária, com 22% de partículas com tamanho médio de 171 nm, e outra fração majoritária, com 78%, de partículas com tamanho médio de partícula de 40 nm, indicando que todo o intervalo das partículas na escala manométrica, inferior a 250 nm.

No entanto, a amostra NP8 apresentou uma fração de 52% das partículas com tamanho médio de 312 nm, enquanto 48% das partículas apresentaram tamanho médio de 70 nm.

A escala de tamanho das partículas produzidas, abaixo de 500 nanômetros, é semelhante aos tamanhos reportados por outros autores. Paiva Filho et. al (2019), produziram NPs de quitosana e alginato carregadas com cardol que apresentaram um perfil bimodal discreto e tamanho de partícula entre 70 e 200 nm. Abreu et al. (2012) produziram partículas a base de QUI e Goma do Cajueiro para o encapsulamento de óleo essencial de *Lippia sidoides* com tamanho entre 335 a 551 nm. De acordo com a literatura, partículas com esse tamanho são suscetíveis para uma maior taxa de mobilidade em aplicações de sistemas de liberação controlada comparada com materiais maiores (RIDOLFI et. al, 2012). Sendo notável a preferência por materiais em uma escala nanométrica para as mais diversas aplicações científicas e tecnológicas.

4 CONCLUSÃO

No presente trabalho produziu-se com sucesso nanopartículas polissacarídicas do tipo *core-shell* por meio da complexação polieletrólítica, onde observou-se que as NPs pré-formadas com quitosana revestidas com alginato tiveram maior rendimento e melhor grau de encapsulamento do que as pré-formadas com alginato. Um estudo pormenorizado foi realizado a fim de verificar a influência da de parâmetros reacionais no encapsulamento do cardanol. Os resultados da análise estatística ANOVA e de regressão linear indicou que a interação entre os fatores tipo de reticulador e a concentração da matriz influenciaram na característica das NPs tanto no rendimento quanto no grau de encapsulamento. Os experimentos com melhor compromisso de propriedades foram com as amostras NP7 e NP8, que apresentaram maiores valores de eficiência de encapsulamento e alta estabilidade, cujos valores de potencial zeta negativo são atribuídos aos grupos carboxílicos presentes nas cadeias dos polissacarídeos revestem as NPs. As NPs produzidas apresentaram distribuição bimodal e tamanho nanométrico abaixo de 350 nm, propicias para uma maior taxa de mobilidade em aplicações de sistemas de liberação controlada. Logo, a eficácia no sistema de encapsulamento do cardanol na forma de NPs. teve a sua aplicabilidade como princípio ativo aprimorado.

REFERÊNCIAS

ABREU, F.O.M.S., et al., Preparation of Core-Shell alginate-carboxymethylchitosan hydrogels. *Polymer International*, v. 58, p. 1267-1274, 2009.

ABREU, F.O.M.S., et al., Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. *Carbohydrate Polymers*, v. 89, p. 1277-1282, 2012. DOI 10.1016/j.carbpol.2012.04.048.

ABREU, F.O.M.S., et al, Development of new method to obtain chitosan from the exoskeleton of crabs using microwave radiation. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 23(5), 630-635, 2013. DOI 10.4322/polimeros.2013.042.

BERGER, J., et al, Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *Eur J Pharm Biopharm*, v. 57, p. 19-34, 2004. DOI 10.1016/S0939-6411(03)00161-9.

CLEMENTE-NAPIMOGA, J.T., et al, *15d-PGJ2-loaded in nanocapsules enhance the antinociceptive properties into rat temporomandibular hypernociception*. *Life Sciences*, p. 944-949, 2012. DOI 10.1016/j.lfs.2012.04.035.

CORREIA, S de J., et al, Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. *Quím Nova*, São Paulo, v. 29, n. 6, p. 1287-1300, 2006. DOI 10.1590/S0100-40422006000600026.

DA SILVA, C. B., et al. Synthesis of chitosan polysaccharide nanoparticles for skin grape extract stabilization. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, ed. 4, p. 17913-17930, 2020. DOI 10.34117/bjdv6n4-094.

DE OLIVEIRA, E.F., et al., Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 113, p. 146-151, 2014. DOI 10.1016/j.colsurfb.2013.08.038.

DE, S., ROBINSON, D., Polymer relationships during preparation of chitosan–alginate and poly-l-lysine–alginate nanospheres. *Journal of Controlled Release*, v. 89, p. 101-112, 2003. DOI 10.1016/S0168-3659(03)00098-1.

KAŠPAR, O., et al., Characterization of spray dried chitosan–TPP microparticles formed by two- and three-fluid nozzles. *Powder Technology*, v. 240, p. 31-40, 2013. DOI 10.1016/j.powtec.2012.07.010

LACERDA, C.D., et al., 18ª SEMANA DE PESQUISA DA UNIVERSIDADE TIRADENTES - A PRÁTICA INTERDISCIPLINAR ALIMENTADO A CIÊNCIA, 2016, Aracaju-SE. **Produção de nanopartículas de quitosana reticulada com tripolifosfato para aplicação biotecnológica**. 2016. Disponível em: <https://eventos.set.edu.br/index.php/sempeq/article/viewFile/4482/1379>. Acesso em: 15 jul. 2020.

LERTSUTTHIWONG, P., et al., Preparation of turmeric oil-loaded chitosan-alginate biopolymeric nanocapsules. *Materials Science and Engineering: C*, v. 29, p. 856-860, 2009. DOI 10.1016/j.msec.2008.08.004.

NAGPAL, K., et al.; Chitosan nanoparticles: a promising system in novel drug delivery. *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 58: 1423– 1430 2010.

PAIVA FILHO, J.C., et al. Design of chitosan-alginate core-shell nanoparticules loaded with anacardic acid and cardol for drug delivery. *Polímeros*, v. 29, n. 4, e 2019. DOI [10.1590/0104-1428.08118](https://doi.org/10.1590/0104-1428.08118).

PARAMASHIVAPPA, P., et al, Method for Isolation of Major Phenolic Constituents from Cashew (Anacardium occidentale L.) Nut Shell Liquid. *J. Agric. Food Chem*, v. 49, ed. 5, p. 2548–2551, 2001. DOI 10.1021/jf001222j.

PARMAR, A., & SHARMA, S. Engineering design and mechanistic mathematical models: standpoint on cutting edge drug delivery. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 100, p. 15-35. 2010. DOI: 10.1016/j.trac.2017.12.008.

PRABAKARAN, K et al. Cardanol as a dispersant plasticizer for an alumina/toluene tape casting slip. *Journal of the European Ceramic Society*, Journal of the European Ceramic Society, v. 21, p. 2873-2878, 2001. DOI 10.1016/S0955-2219(01)00228-X.

RIDOLFI, D.M., et al. Chitosan-solid lipid nanoparticles as carriers for topical delivery of tretinoin. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, v. 93, p. 36-40, 2012. DOI 10.1016/j.colsurfb.2011.11.051.

SARKAR, S.D., et al., “Physico- chemical/biological properties of tripolyphosphate cross-linked chitosan based nanofibers,” *Materials Science and Engineering: C*, v. 33, n. 3, p. 1446–1454, 2013. DOI [10.1016/j.msec.2012.12.066](https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.12.066).

SHU, X.Z.; ZHU, K.J.; Controlled drug release properties of ionically cross-linked chitosan beads: the influence of anion structure, *International Journal of Pharmaceutics*, v. 233, p. 217-225, 2002. DOI 10.1016/S0378-5173(01)00943-7.