

15º Congresso de Inovação, Ciência e Tecnologia do IFSP - 2024

PREPARO DE NANOCARREGADORES LIPÍDICOS BASEADOS EM CERA DE ABELHA

SABRINA FELIX DE ANDRADE¹, CAROLINA LOURENCETTI², VANESSA CRISTINA
GONÇALVES CAMILLO³

¹ Graduando em Engenharia de Alimentos, Bolsista PIBIFSP, IFSP, Campus Matão, sabrina.felix@aluno.ifsp.edu.br.

² Docente (Doutora em Química), IFSP, Campus Matão, carollourencetti@ifsp.edu.br

³ Docente (Doutora em Ciências do Materiais), IFSP, Campus Matão, vanessa@ifsp.edu.br

3

Área de conhecimento (Tabela CNPq): 1.06.03.04-2 Química de Interfaces

RESUMO: Este trabalho investiga o preparo e caracterização de nanocarregadores lipídicos (NCL) à base de cera de abelha, utilizando o corante azul de metileno como modelo de composto bioativo lipofílico, com possível aplicação para a incorporação de bioativos lipofílicos. O desenvolvimento de formulações contendo compostos bioativos lipofílicos apresenta desafios significativos para as indústrias de alimentos e farmacêuticas devido à baixa solubilidade em água, bioacessibilidade reduzida e instabilidade desses compostos. A técnica de inversão de fase por composição foi aplicada para a preparação dos NCL, com o objetivo de avaliar a influência dos componentes da formulação, como o surfactante, na estabilidade, nas características físicas das partículas e na incorporação do corante. Foram realizadas análises visuais das dispersões e microscopia óptica para caracterizar a distribuição e o tamanho das partículas. Os resultados mostraram que a ausência de surfactante levou à formação de partículas maiores e aglomerados visíveis, enquanto a presença de surfactantes resultou em uma melhor dispersão das partículas e maior homogeneidade. A coloração das dispersões contendo azul de metileno indicou uma incorporação eficiente do modelo de bioativo lipofílico nas NCL, com aumento da uniformidade e estabilidade das partículas ao longo do processo.

PALAVRAS-CHAVE: nanocarregadores lipídicos, cera de abelha, inversão de fase, azul de metileno

PREPARATION OF NANOSTRUCTURED LIPID CARRIERS BASED ON BEESWAX

ABSTRACT: This study investigates the preparation and characterization of lipid-based nanocarriers (NLC) using beeswax, with methylene blue as a model for lipophilic bioactive compounds. The phase inversion composition method was applied for the preparation of the NLC, aiming to study the influence of formulation components, such as the surfactant, on the stability, physical characteristics of the particles and the dye incorporation. Visual analyses of the dispersions and optical microscopy images were employed to examine the particle size and their distribution. The results showed that the absence of surfactant led to the formation of larger particles and visible aggregates, whereas the presence of surfactants resulted in better particle dispersion and greater homogeneity. The coloration of the dispersions containing methylene blue indicated efficient incorporation of the lipophilic bioactive model into the NLC, with increased uniformity and particle stability throughout the process. These findings

highlight the importance of formulation components in controlling the physical properties of NLC and their ability to encapsulate bioactives.

KEYWORDS: Lipid nanocarriers, Beeswax, Phase inversion, Methylene blue.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de formulações contendo compostos bioativos lipofílicos apresenta desafios significativos para as indústrias de alimentos e farmacêuticas devido à baixa solubilidade em água, bioacessibilidade reduzida e instabilidade desses compostos. Desenvolvidas no início da década de 1990, as nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) surgiram como alternativa às dispersões coloidais tradicionais para superar essas limitações. No entanto, elas também apresentam limitações, como a capacidade limitada de carregamento e a expulsão de bioativos devido à presença de estruturas de rede cristalina altamente organizadas, que deixam pouco espaço para incorporação do material bioativo (KHAN; SHARMA; JAIN, 2023; MAHOR *et al.*, 2023).

No final da década de 1990 surgiram os nanocarregadores lipídicos (NCL), que combinam lipídios sólidos e líquidos em uma matriz desorganizada, o que aumenta a capacidade de incorporação dos ingredientes ativos. A escolha adequada de surfactantes, utilizados para estabilizar o sistema, influencia diretamente no tamanho dos nanocarregadores e a estabilidade da formulação. Embora nanocarregadores baseadas em lipídios, como ácidos graxos, triglicerídeos e glicerídeos parciais, sejam amplamente estudados, os NLC baseados em ceras receberam menos atenção (KHAN; SHARMA; JAIN, 2023; MAHOR *et al.*, 2023).

Ceras, como a cera de abelha, são ésteres simples de ácidos graxos com álcoois de cadeia longa e apresentam propriedades físicas e estruturas cristalinas diferentes das dos glicerídeos. Enquanto os glicerídeos exibem transições polimórficas, as ceras, devido às suas cadeias longas, possuem uma taxa de transição muito mais baixa, tornando as nanopartículas de ceras mais estáveis fisicamente e com excelente distribuição de tamanho (QUSHAWY, 2021; SOLEIMANIAN *et al.*, 2018).

Este trabalho visa estudar o método da inversão de fase por composição para o preparo de nanocarregadores à base de cera de abelha e avaliar a influência dos componentes da formulação nas propriedades físicas das NCL obtidas. Além disso, este método será utilizado para preparar NCL na presença de azul de metileno, um corante da classe das diaminofenotiazinas com efeitos antioxidantes específicos e com moderada lipofilicidade, para avaliar a capacidade das NCL de incorporar bioativos lipofílicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Os nanocarregadores lipídicos foram formulados e preparados pelo método de baixa energia de inversão de fase por composição. A concentração da fase lipídica sólida foi mantida constante em 4,5 % (m/m). Foram investigados os efeitos da composição do lipídio líquido (seis níveis variando de 4,0 a 4,5 % m/m) e do surfactante Tween 80 (seis níveis variando de 0 a 0,5% m/m) na formação e nas características físicas dos nanocarregadores.

Para a produção dos NCL, a cera de abelha, o ácido oleico, o Tween 80 e o hidróxido de sódio (conforme especificado na Tabela 1) foram aquecidos a 80–85 °C, sob agitação magnética constante, até a fusão da cera e a formação de uma fase oleosa homogênea e clara. A água, previamente aquecida na mesma temperatura, foi então adicionada à fase oleosa sob agitação magnética constante. A emulsão obtida foi resfriada até temperatura ambiente, sob agitação, para a recristalização do lipídio e formação dos NCL.

Visando avaliar a capacidade dos NCL em incorporar compostos bioativos lipofílicos, as formulações NCL1, NCL4 e NCL 6 foram repetidas na presença de azul de metileno. O corante azul de metileno considerado moderadamente lipofílico, com valor de coeficiente de partição (log P) de

aproximadamente de 1,6, o que facilita sua penetração em membranas biológicas e seu acúmulo em áreas ricas em lipídios (FARMOUDEH *et al.*, 2022). Para essas formulações, que foram chamadas de NLC1-Az, NLC4-Az e NLC6-Az, o azul de metileno foi dissolvido na água para o preparo de uma solução na concentração de 1,0 g/L. Essa solução foi utilizada para substituir a água nas formulações. O procedimento de preparo foi o mesmo descrito anteriormente e proporções apresentadas na Tabela 1.

TABELA 1. Formulações das nanocarregadores lipídicas (NCL) (% , m/m).

NCL	Cera de Abelha (%)	Ácido Oleico (%)	Tween 80 (%)	Hidróxido de Sódio (%)	Água (%)
1	4,5	4,5	0	0,09	91,9
2	4,5	4,4	0,1	0,09	91,9
3	4,5	4,3	0,2	0,09	91,9
4	4,5	4,2	0,3	0,09	91,9
5	4,5	4,1	0,4	0,09	91,9
6	4,5	4,0	0,5	0,09	91,9

Ao final do processo, os nanocarregadores foram caracterizados quanto ao aspecto físico a olho nú e utilizando a microscopia ótica com aumento de 36 vezes com o Estereomicroscópio com LED e câmera HD Leica EZ4 HD. Uma porção de 50 mL dessas suspensões foram levadas à centrifuga a 9000 r.p.m. durante 5 minutos para a separação dos nanocarregadores da fase aquosa. Os naocarregadores foram secos em dessecador até a massa constante para serem futuramente caracterizadas físico-quimicamente (FTIR e DSC) e quanto a morfologia por TEM e quantificação do encapsulamento do corante azul de metileno por espectrofotometria na região do UV-vis.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta as imagens das dispersões aquosas das formulações NCL1 à NCL6. Nota-se que o NCL1, que não contém o surfactante Tween 80, exibe partículas com tamanhos maiores em comparação aos NCL 2 à 6, além da presença de aglomerados. Embora aglomerados também estejam presentes nas formulações NCL 2 a 6, estes são compostos por partículas finamente dispersas, o que indica que a adição de Tween 80 resulta na redução do tamanho dos nanocarregadores. Por fim, a variação da concentração de Tween 80 entre 0,1% e 0,5% (m/m) não afeta visivelmente as características físicas dos NCL.

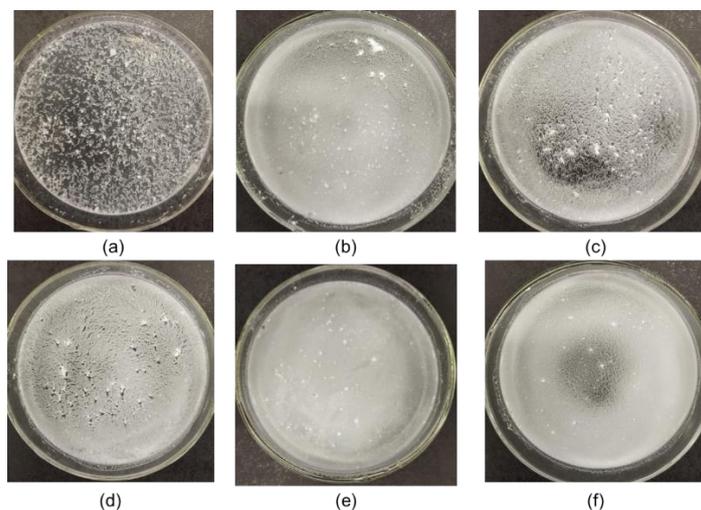


FIGURA 1. Imagens das suspensões dos NCL1 à 6 após o preparo: (a) NCL1, (b) NCL2, (c) NCL3, (d) NCL4, (e) NCL5 e (f) NCL6.

Fonte: Próprios autores.

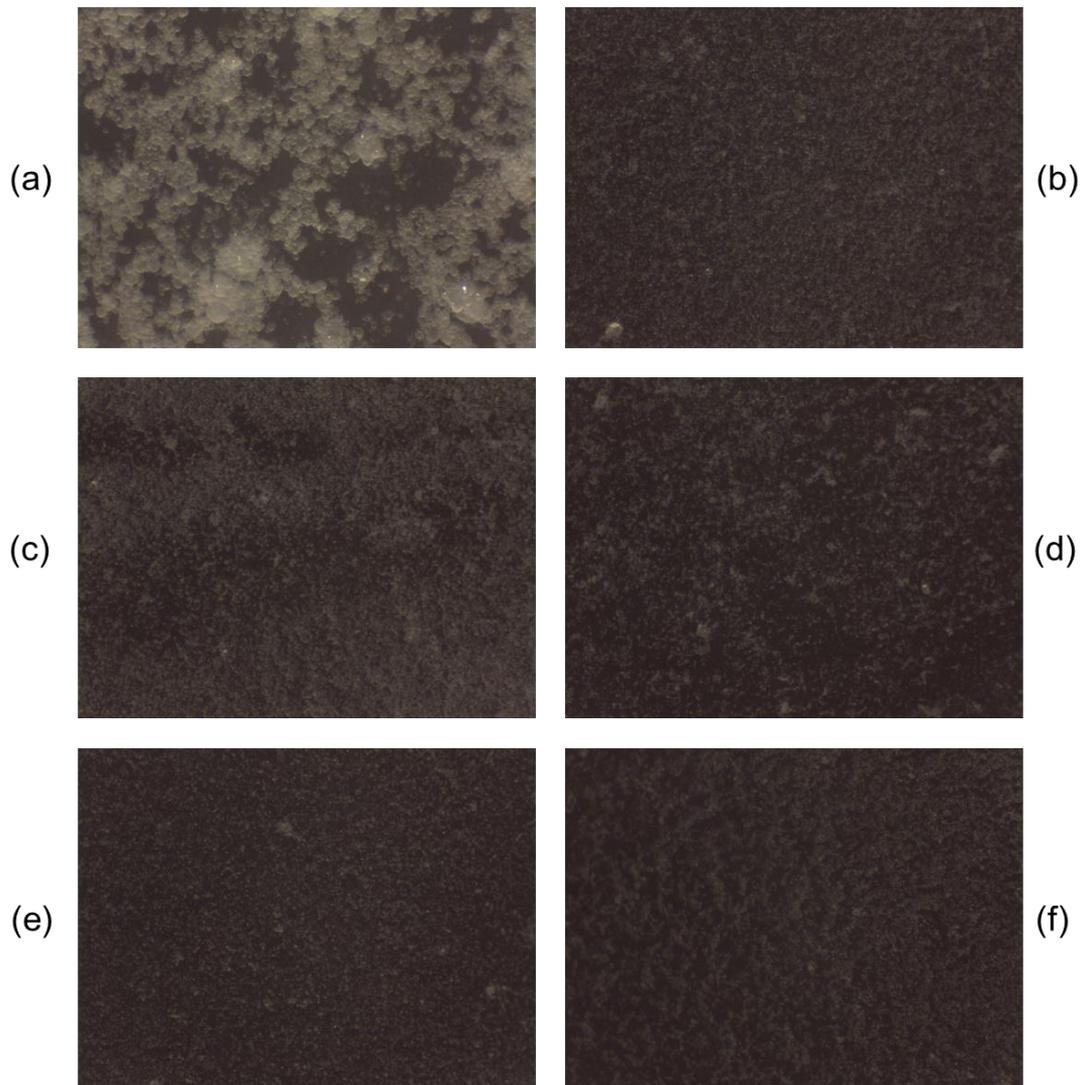


FIGURA 2. Imagens de microscopias óticas das suspensões dos NCL1 a 6 após o preparo com aumento de 35 vezes: (a) NCL1, (b) NCL2, (c) NCL3, (d) NCL4, (e) NCL5 e (f) NCL6.

Fonte: Próprios autores.

As imagens na forma de fotos e as imagens da microscopia ótica dos NCL1, 4 e 6-Az em dispersões aquosas estão apresentadas na Figura 3. O azul de metileno foi incorporado aos NCL, confirmando a capacidade do sistema de encapsular e manter a dispersão de bioativos na matriz lipídica. O NCL1-Az apresentou uma maior aglomeração do que o NCL1, demonstrando que o azul de metileno influencia nessa característica. Os NCL4-Az e NCL6-Az apresentam partículas de menores tamanhos e dispersão de tamanho mais homogênea das partículas, com menos aglomerados visíveis, indicando uma boa incorporação do azul de metileno e menor aglomeração.

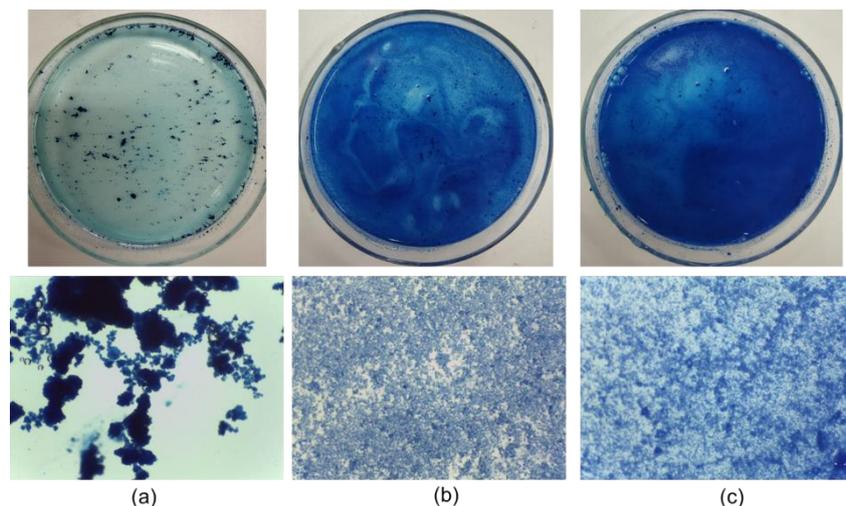


FIGURA 3. Imagens e microscopias óticas das suspensões dos NCL preparados na presença de azul de metileno: (a) NCL1-Az, (b) NCL4-Az e (c) NCL6-Az. Fonte: Próprios autores.

CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo demonstram que o método de inversão de fase por composição é eficaz no preparo de nanocarregadores lipídicos (NCL) à base de cera de abelha. A presença de surfactante desempenha papel importante no tamanho das partículas e na melhoria da distribuição de seus tamanhos. Além disso, a incorporação de azul de metileno como composto bioativo lipofílico confirmou a capacidade do sistema de encapsular e manter a dispersão de bioativos na matriz lipídica. As formulações preparadas a partir de formulações contendo Tween 80 apresentaram uma menor aglomeração, menores tamanhos de partículas e dispersão de tamanho mais homogênea. Esses resultados sugerem que a otimização dos componentes da formulação, especialmente a presença do surfactante Tween 80, é fundamental para melhorar o desempenho e a estabilidade dos NCL, com potencial aplicação nas indústrias alimentícia e farmacêutica.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

S.F.A. procedeu com a metodologia e os experimentos. V.C.G.C e C.L. contribuíram com a curadoria e análise dos dados. S.F.A, V.C.G.C e C.L. atuaram na redação do trabalho. Todos os autores contribuíram com a revisão do trabalho e aprovaram a versão submetida.

AGRADECIMENTOS

Agrademos ao IFSP pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

FARMOUDEH, Ali *et al.* *Methylene blue loaded solid lipid nanoparticles: Preparation, optimization, and in-vivo burn healing assessment.* **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 70, p. 103209, 2022.

KHAN, Shadab; SHARMA, Ajay; JAIN, Vikas. *An Overview of Nanostructured Lipid Carriers and its Application in Drug Delivery through Different Routes*. **Advanced pharmaceutical bulletin**, v. 13, n. 3, p. 446–460, 2023.

MAHOR, Alok Kumar et al. *Nanostructured Lipid Carriers for Improved Delivery of Therapeutics via the Oral Route*. **Journal of Nanotechnology**, v. 2023, p. 1 -10, 2023.

QUSHAWY, Mona. *Effect of the Surfactant and Liquid Lipid Type in the Physico-chemical Characteristics of Beeswax-based Nanostructured Lipid Carrier (NLC) of Metformin*. **Pharmaceutical Nanotechnology**, v. 9, n. 3, p. 200–209, 2021.

SOLEIMANIAN, Yasamin et al. *Formulation and characterization of novel nanostructured lipid carriers made from beeswax, propolis wax and pomegranate seed oil*. **Food Chemistry**, v. 244, p. 83–92, 2018.