



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DE RECURSOS**  
**NATURAIS**

**LYNDERVAN OLIVEIRA DE ALCÂNTARA**

**HIDROGÉIS DE COLÁGENO, ÁCIDO HIALURÔNICO E SULFATO DE**  
**CONDROITINA A PARTIR DE RESÍDUOS DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis***  
***niloticus*): UMA VALORIZAÇÃO DA INDÚSTRIA DO PESCADO**

**FORTALEZA**

**2021**

LYNDERVAN OLIVEIRA DE ALCÂNTARA

HIDROGÉIS DE COLÁGENO, ÁCIDO HIALURÔNICO E SULFATO DE  
CONDROITINA A PARTIR DE RESÍDUOS DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis  
niloticus*): UMA VALORIZAÇÃO DA INDÚSTRIA DO PESCADO

Tese apresentada a Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia de Recursos Naturais. Área de Concentração: Biotecnologia de Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza.

Coorientador: Prof. Dr. Men de Sá Moreira de Souza Filho.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

A319h Alcântara, Lyndervan Oliveira de.

Hidrogéis de colágeno, ácido hialurônico e sulfato de condroitina a partir de resíduos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): uma valorização da indústria do pescado / Lyndervan Oliveira de Alcântara. – 2021.

119 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais, Fortaleza, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza.

Coorientação: Prof. Dr. Men de Sá Moreira de Souza Filho.

1. Indústria pesqueira. 2. Subprodutos. 3. Biopolímeros. 4. Biomateriais. 5. Agregação de valor. I. Título.

---

CDD 660.6

LYNDERVAN OLIVEIRA DE ALCÂNTARA

HIDROGÉIS DE COLÁGENO, ÁCIDO HIALURÔNICO E SULFATO DE  
CONDROITINA A PARTIR DE RESÍDUOS DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis  
niloticus*): UMA VALORIZAÇÃO DA INDÚSTRIA DO PESCADO

Tese de Doutorado apresentada a  
Coordenação do Programa de Pós-  
Graduação em Biotecnologia de Recursos  
Naturais da Universidade Federal do  
Ceará, como parte dos requisitos para  
obtenção do Título de Doutor em  
Biotecnologia de Recursos Naturais. Área  
de Concentração: Biotecnologia de  
Recursos Naturais.

Aprovada em: 20/07/2021.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Men de Sá Moreira de Souza Filho (Coorientador)  
Embrapa Agroindústria Tropical (EMBRAPA)

---

Prof. Dr. André Luis Coelho da Silva  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Miguel Ângelo Parente Ribeiro Cerqueira  
International Iberian Nanotechnology Laboratory (INL)

---

Dra. Fábiana Karine Andrade  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dra. Juliana Rabelo de Souza  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Edvan e Rosália.

Aos meus irmãos, Eryvan e Edvan Filho.

Aos meus padrinhos de Batismo, Rita  
Maria e José Iran.

À minha Esposa Ana Vitória.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por sempre iluminar e guiar os meus caminhos, concedendo-me muita Fé, Perseverança e Determinação para superar os desafios da vida.

A Toda Minha Família, Alicerce da Minha Vida, em especial ao meu pai Edvan Lopes de Alcântara, minha mãe Rosália Lúcia Oliveira de Alcântara, aos meus irmãos Eryvan Alcântara e Edvan Alcântara Filho, por todo o apoio e incentivo incondicional. A minha Avó Lúcia, a todos os meus tios, tias, primos e primas.

Aos meus Padrinhos de Batismo Rita Maria de Lima da Silva e José Iran Alves da Silva por sempre me apoiar e incentivar nos meus estudos e sempre se fazerem presente em minha vida.

A minha esposa Ana Vitória de Oliveira Alcântara pelo apoio incondicional e toda sua família, em especial à Dona Cacilda e Aldeni (*in memorian*).

Aos amigos Ailton, Leide, Dona Cleonice, Edna e Sr. João.

A minha cunhada Odileuda e aos amigos Glautemberg, Luciana e família.

Ao Profs. Drs. Bartolomeu Warlene Silva de Souza e Men de Sá Moreira de Souza Filho pela orientação e por todo apoio, estímulo, colaboração e confiança, demonstrados ao longo destes anos.

Ao Prof. Dr. André Luis Coelho da Silva por participar como membro da banca examinadora.

Ao Prof. Dr. Miguel Ângelo Parente Ribeiro Cerqueira por aceitar participar como membro da banca examinadora.

Dra. Juliana Rabelo de Sousa por aceitar participar como membro da banca examinadora, bem como por todo auxílio e suporte na minha pesquisa, sempre solícita para sanar as minhas dúvidas.

A Dra. Fábيا Karine Andrade por aceitar participar como membro da banca examinadora.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE), instituição pela qual obtive formação no Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos.

Ao meu professor e orientador do período de graduação no IFCE, Dr. Hugo Leonardo de Brito Buarque.

A todos os meus amigos dos tempos IFCE.

Aos amigos Hálisson, Amanda, Lícia, Adriano, Vanessa, Felipe, Márcio, Erilany, Mabel, Leonardo Silva e Kamilla Maia.

Ao apoio financeiro do Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES), da Secretaria de Aquicultura e Pesca do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento do Brasil (SAP-MAPA), da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e pela parceria com o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) ao projeto “BRS Aqua - Ações estruturantes e inovação para fortalecimento das cadeias produtivas da Aquicultura no Brasil”.

A Capes pela bolsa concedida. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram de maneira direta ou indireta para a realização deste trabalho.

“Tantas vezes pensamos ter chegado.  
Tantas vezes é preciso ir além” (Fernando  
Pessoa).



## RESUMO

O Brasil está entre os principais países que se destacam na indústria pesqueira, incluindo a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Por consequência, é um dos maiores geradores de resíduos (~70%), o que acaba gerando impactos ambientais. Os subprodutos do processamento de pescado, os resíduos de tilápia do Nilo em particular, apresentam-se como uma fonte promissora de biomoléculas com ampla aplicabilidade, sendo, portanto, um atrativo potencial na geração de produtos com elevado valor agregado. Visando isto, o presente trabalho teve por finalidade, inicialmente, obter e caracterizar ácido hialurônico (AH) (presente no humor vítreo) a partir de subprodutos do globo ocular da tilápia do Nilo (*O. niloticus*), uma vez que esse biopolímero possui amplas aplicações nas indústrias cosmética, farmacêutica e médica. Após, o AH extraído (AH<sub>E</sub>) foi utilizado, juntamente com o colágeno (da pele) e sulfato de condroitina (da espinha), também oriundos de resíduos da tilápia, obtidos a partir de projetos parceiros, com o objetivo de produzir e caracterizar hidrogéis reticulados com N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida/N-hidroxissuccinimida (EDC/NHS). Diante disso, primeiramente, o AH<sub>E</sub> foi caracterizado quanto às análises química estrutural, térmica, morfológica e citotóxica. O rendimento obtido no processo enzimático de extração foi de 0,054 mg de AH/g de vítreo. As composições de C, H, N, S e O para o AH<sub>E</sub> foram de 38,44, 6,08, 2,23, 3,67 e 0%, respectivamente. Os ensaios de eletroforese, FTIR, RMN e HPLC permitiram identificar a molécula de interesse. O biomaterial extraído é de baixa massa molecular ( $\overline{M}_w = 37$  KDa), com estabilidade térmica superior ao AH comercial de *Streptococcus equi*, além de ter um caráter parcialmente cristalino e possuir estrutura porosa. O ensaio de citocompatibilidade demonstra que o AH<sub>E</sub> além de não ser citotóxico, também estimula a proliferação celular. Já os hidrogéis foram caracterizados pelas análises de FTIR, TGA, DSC, grau de reticulação (ensaio TNBS), difração de raios-X, MEV, citotoxicidade em células de fibroblastos (L929) e queratinócitos (HaCat). As análises de grau de reticulação, FTIR, TGA, DSC e DRX permitiram confirmar a formação de estruturas reticuladas nos hidrogéis produzidos com EDC/NHS. A análise de MEV permitiu identificar a presença de regiões de poros com diâmetros adequados para serem empregados como biocurativos. Já o ensaio de citotoxicidade dos hidrogéis em linhagens celulares de fibroblastos (L929) e queratinócitos (HaCat) revelam um elevado potencial na aplicação dos

biomateriais produzidos como biocurativos. Logo, tanto o AH<sub>E</sub> quanto os hidrogéis produzidos a partir da reticulação com EDC/NHS dessa fonte de resíduo constituem novas alternativas biotecnológicas com qualidade adequada para amplas aplicações biomédicas.

**Palavras-chave:** indústria pesqueira; subprodutos; biopolímeros; biomateriais; agregação de valor.

## ABSTRACT

Brazil is among the main countries that stand out in the fishing industry, including Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Consequently, it is one of the largest generators of waste (~70%), which ends up generating environmental impacts. The by-products of fish processing, Nile tilapia waste in particular, are a promising source of biomolecules with wide applicability, being, therefore, a potential attraction in the generation of products with high added value. Aiming at this, the present work aimed, initially, to obtain and characterize hyaluronic acid (HA) (present in the vitreous humor) from by-products of the eyeball of Nile tilapia (*O. niloticus*), since this biopolymer has wide applications in the cosmetic, pharmaceutical and medical industries. Afterwards, HA extracted (HA<sub>E</sub>) was used together with collagen (from the skin) and chondroitin sulfate (from the spine), also from tilapia residues, obtained from partner projects, with the objective of producing and characterizing hydrogels cross-linked with N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide/N-hydroxysuccinimide (EDC/NHS). Therefore, first, the HA<sub>E</sub> was characterized in terms of structural chemical, thermal, morphological and cytotoxic analyses. The yield obtained in the enzymatic extraction process was 0.054 mg of AH/g of vitreous. The compositions of C, H, N, S and O for HA<sub>E</sub> were 38.44, 6.08, 2.23, 3.67 and 0%, respectively. The electrophoresis, FTIR, NMR and HPLC assays allowed the identification of the molecule of interest. The biomaterial extracted is of low molecular mass ( $\overline{M}_w = 37$  KDa), with thermal stability superior to commercial HA from *Streptococcus equi*, in addition to having a partially crystalline character and having a porous structure. The cytocompatibility assay demonstrates that HA<sub>E</sub>, in addition to not being cytotoxic, also stimulates cell proliferation. The hydrogels were characterized by the analysis of FTIR, TGA, DSC, crosslinking degree (TNBS assay), X-ray diffraction, SEM, cytotoxicity in fibroblast cells (L929) and keratinocytes (HaCat). Analyses of crosslinking degree, FTIR, TGA, DSC and XRD confirmed the formation of crosslinked structures in hydrogels produced with EDC/NHS. The SEM analysis allowed us to identify the presence of pore regions with adequate diameters to be used as biocuratives. The cytotoxicity assay of the hydrogels in fibroblast cell lines (L929) and keratinocytes (HaCat) reveals a high potential in the application of biomaterials produced as biocuratives. Therefore, both the HA<sub>E</sub> and the hydrogels

produced from crosslinking this waste source with EDC/NHS constitute new biotechnological alternatives with adequate quality for broad biomedical applications.

**Keywords:** fishing industry; by-products; biopolymers; biomaterials; adding value.