



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

ANDRESSA PÂMELA VASCONCELOS OLIVEIRA

HIDROGÉIS DE COLÁGENO E SULFATO DE CONDROITINA COM
DIFERENTES AGENTES RETICULANTES

FORTALEZA

2018

ANDRESSA PÂMELA VASCONCELOS OLIVEIRA

HIDROGÉIS DE COLÁGENO E SULFATO DE CONDROITINA COM DIFERENTES
AGENTES RETICULANTES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Tecnologia e Microbiologia do Pescado.

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

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

FORTALEZA

2018

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)

- V45h Vasconcelos Oliveira, Andressa Pâmela.
Hidrogéis de colágeno e sulfato de condroitina com diferentes agentes reticulantes / Andressa Pâmela Vasconcelos Oliveira. – 2017.
106 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2017.
Orientação: Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza.
Coorientação: Prof. Dr. Men de sá Moreira de Souza Filho.
1. Polímero. 2. Géis. 3. Agente reticulante. I. Título.

CDD 639.2

ANDRESSA PÂMELA VASCONCELOS OLIVEIRA

HIDROGÉIS DE COLÁGENO E SULFATO DE CONDROITINA COM DIFERENTES
AGENTES RETICULANTES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Tecnologia e Microbiologia do Pescado.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Men de sá Moreira de Souza Filho (Co-Orientador)
EMBRAPA

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

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

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

A Deus.

Aos meus pais, Maria de Fátima e Francisco
Oliveira.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e meus irmãos, minha base e meu escudo, que sempre me apoiam em todos meus sonhos diários, que lutam comigo por qualquer que seja meu objetivo e não me deixam cair nunca. A vocês eu devo minha vida e todo meu esforço é por vocês.

Meus sobrinhos, meus filhos de coração, Pietra, Pedro, Enzo e Moana, obrigada por me fazerem ser uma pessoa melhor, por cada sorriso arrancado em momento de angústia, eu amo vocês.

Ao meu namorado, Paulo André, por todo apoio, carinho, atenção e amor. Obrigada por me acalmar em dias de estresse, pelo ombro amigo em dias de choro e pelo o sorriso em todos os outros dias. Você é meu melhor presente, amo muito você.

As minhas sereias, Alinne, Fabrízia, Lorena e Vanessa, eu agradeço imensamente toda ajuda, paciência, dedicação e companheirismo, eu não teria conseguido terminar tudo sem vocês, eu amo vocês e tudo que conquistamos juntas. Vocês são presentes de Deus.

Ao meu orientador, Bartolomeu pelo braço estendido, por me acolher tão bem e não desistir nunca de nós, o grupo LATEPE, mesmo com tantas dificuldades, o senhor nunca sempre acreditou na pesquisa, Bartô você é um grande homem. LATEPE é minha família e eu levo essa bandeira por onde eu for.

Ao meu co-orientador, Men de sá, para ele não existe a frase “não dá certo”, no fim tudo dá certo. Eu tenho a plena certeza que se não fosse com você eu não teria conseguido nem a metade do que fiz, eu superei vários limites e te agradeço por toda dedicação e preocupação para comigo. Saiba que o senhor está em minhas orações, você merece uma vida repleta de felicidade e amor.

A Embrapa, especificamente, ao Laboratório de Biomassa (LTB) que me acolheu muito bem, a convivência era agradável e as pessoas maravilhosas, Lílian, Adriano, Lídia, Menta, Pedro, e os demais que me ajudaram nessa caminhada meu muitíssimo obrigado.

A todos os meus amigos, colegas, chegados e conhecidos, obrigada pelo apoio diário.

À CAPES pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio e acreditar no estudo e na formação de professores e pesquisadores e ao BNDES, pelo financiamento da pesquisa através do Projeto “ Ações estruturantes e inovação para o fortalecimento das cadeias produtivas da Aquicultura no Brasil” – Embrapa/BNDES.

“Pra quem tem fé, a vida nunca tem fim.”

Marcelo Falcão (O Rappa).

RESUMO

A produção de pescado, especificamente, tilápia e camarão geram um enorme montante de resíduo com potencial para a agregação de valor. Uma alternativa para o aproveitamento integral do pescado é a extração de moléculas com características químicas e físicas adequadas para a formulação de microcápsulas e hidrogéis como base para o desenvolvimento de novos produtos inclusive na área de alimentos e biomédica. Dentre essas moléculas, o colágeno é a principal proteína estrutural no corpo, tem como função promover elasticidade e sustentação a pele, ossos, cartilagens e tendões. Glicosaminoglicanos são encontrados nos ossos, cartilagens e tecidos conjuntivos de vertebrados, atualmente usado no tratamento de osteoartrose. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi elaborar hidrogéis de colágeno e com glicosaminoglicano e microcápsulas contendo carotenóides e caracteriza-los físico-quimicamente. O glicosaminoglicano foi extraído do resíduo ósseo (crânio e coluna vertebral) de pescado através de processo enzimático, e o carotenóide foi obtido do resíduo de camarão. As microcápsulas com carotenoide foram formadas pelo método de coacervação e extrusão, a partir de uma emulsão contendo uma solução de cloreto de cálcio. Foram elaborados hidrogéis com e sem adição das microcápsulas, reticulados com diferentes processos de reticulação. Os hidrogéis formulados foram caracterizados por termogravimetria (DSC/TGA), infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e grau de intumescimento. Os hidrogéis reticulados apresentaram um perfil estável de intumescimento, uma boa estabilidade térmica, bandas características dos grupos funcionais dos polímeros componentes dos géis e sua interação com os agentes reticulantes. Diante dos resultados apresentados, os hidrogéis com diferentes agentes reticulantes podem ser usados como produtos de valor agregado de alta funcionalidade para a liberação de carotenóide encapsulado ou para aplicação biomédica.

Palavras-chave: Polímero. Géis. Agente Reticulante.

ABSTRACT

The production of fish, specifically tilapia and shrimp, generate a huge amount of waste with potential for value adding. An alternative for the integral use of fish is the extraction of molecules with chemical and physical characteristics suitable for the formulation of microcapsules and hydrogels as a basis for the development of new products including in the area of food and biomedical. Among these molecules, collagen is the main structural protein in the body, its function is to promote elasticity and support to the skin, bones, cartilage and tendons. Glycosaminoglycans are found in bones, cartilage and connective tissue of vertebrates, currently used in the treatment of osteoarthritis. Therefore, the objective of the present work was to elaborate collagen and glycosaminoglycan hydrogels and microcapsules containing carotenoids and characterize them physicochemically. Glycosaminoglycan was extracted from the bone residue (skull and spine) of fish through an enzymatic process, and the carotenoid was obtained from the shrimp residue. The microcapsules with carotenoid were formed by the method of coacervation and extrusion, from an emulsion containing a solution of calcium chloride. Hydrogels were prepared with and without addition of the microcapsules, crosslinked with different crosslinking processes. The formulated hydrogels were characterized by thermogravimetry (DSC / TGA), Fourier transform infrared (FTIR), scanning electron microscopy (SEM) and degree of swelling. The crosslinked hydrogels showed a stable swelling profile, a good thermal stability, bands characteristic of the functional groups of the component polymers of the gels and their interaction with the crosslinking agents. In view of the presented results, hydrogels with different crosslinking agents can be used as high functionality value-added products for the release of carotenoids.

Keywords: Polymer. Gels. Crosslinking Agent.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Estrutura química do sulfato de condroitina (A) condroitina-4-sulfatado e (B) condroitina-6-sulfatado.....	22
Figura 2 –	Estrutura química da astaxantina: 3S, 3'S; 3'R, 3'S; 3R, 3'R esterificação.....	26
Figura 3 –	Esquema ilustrativo diferenciando os tipos de micropartículas: microesferas e microcápsulas.....	29
Figura 4 –	Estrutura química do alginato de sódio, (a) ácido manurônico (b) ácido gulurônico.....	30
Figura 5 –	Esquema de liberação de substâncias ativas a partir de microesferas.	32
Figura 6 –	Resíduo ósseo, espinha (a) e cabeça (b), de tilápia do Nilo.....	35
Figura 7 –	Resíduos (cabeça) de camarão (<i>L. vannamei</i>).....	37
Figura 8 –	Peneira granulométrica (a) e balança de infravermelho (b).....	41
Figura 9 –	Sulfato de condroitina extraído do resíduo ósseo de tilápia.....	46
Figura 10 –	DSC do sulfato de condroitina padrão (A) e o sulfato de condroitina extraído do resíduo ósseo (crânio) de tilápia.....	47
Figura 11 –	TGA / DTG do sulfato de condroitina padrão (a) e o extraído do osso da cabeça de tilápia (b).....	48
Figura 12 –	HPLC do sulfato de condroitina padrão (a) e o extraído do resíduo ósseo da cabeça de tilápia (b).....	49
Figura 13 –	RMN do sulfato de condroitina extraído do osso da cabeça (crânio) de tilápia ¹ H (a) e o ¹³ C (b).....	51
Figura 14 –	Micrografia do SC no tamanho de 100 µm e 10 µm.....	52
Figura 15 –	Espectro de FTIR do SC padrão (a) e o SC extraído da cabeça (crânio) de tilápia (b).....	53
Figura 16 –	DSC do sulfato de condroitina padrão (a) e sulfato de condroitina extraído da da coluna vertebral de tilápia (b).....	55
Figura 17 –	TGA/DTG do sulfato de condroitina padrão (a) e do sulfato de condroitina extraído da coluna vertebral de tilápia (b).....	57
Figura 18 –	HPLC do SC padrão (a) e SC extraído do osso da espinha da tilápia (b).....	58
Figura 19 –	¹ H RMN do sulfato de condroitina (a) e o ¹³ C RMN do sulfato de condroitina (b).....	59
Figura 20 –	Micrografia do SC extraído da coluna vertebral de tilápia em 100 µm e 10 µm.....	60
Figura 21 –	Espectro de FTIR do SC padrão (a) e o SC extraído da espinha de tilápia (b).....	61
Figura 22 –	Extrato obtido a partir do resíduo (cefalotórax) de camarão branco do Pacífico (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	63
Figura 23 –	Curva cinética do consumo do DPPH e a concentração do extrato do resíduo de camarão.....	67
Figura 24 –	Microcápsulas de alginato de cálcio contendo astaxantina.....	68

Figura 25 –	Micrografias das microcápsulas de alginato de cálcio com AST, magnificação da superfície 170 x e 2,67 kx.....	68
Figura 26 –	Distribuição de tamanho da emulsão (a) e do extrato concentrado das microcápsulas (b).....	69
Figura 27 –	Curva de comportamento do poder antioxidante em relação ao tempo.....	70
Figura 28 –	A curva de cinética do consumo do DPPH em relação ao tempo de uma concentração das microcápsulas.....	71
Figura 29 –	Espectro de FTIR das microcápsula de alginato, alginato de sódio, microcápsulas com extrato e do extrato.....	72
Figura 30 –	Comportamento de liberação da astaxantina nas soluções ácida (a) e básica (b).....	74
Figura 31 –	Análise de DSC nas microcápsulas com astaxantina.....	76
Figura 32 –	Curva de TGA/TG das microcápsulas com astaxantina.....	76
Figura 33 –	Hidrogel liofilizado com formulação de colágeno, sulfato de condroitina, microcápsulas com AST e riboflavina com 30 min no UV, sem UV e 50 min no UV.....	77
Figura 34 –	Grau de intumescimento do hidrogel de colágeno, sulfato de condroitina, microcápsulas com AST e riboflavina (sem UV, 30 min e 50 min no UV).....	78
Figura 35 –	TGA/TG dos hidrogéis com colágeno, sulfato de condroitina, microcápsulas e riboflavina sem UV (a) 30 min. no UV (b) e 50 min. no UV (c).....	80
Figura 36 –	DSC dos hidrogéis com colágeno, sulfato de condroitina, microesferas e riboflavina sem UV (a) 30 min. no UV (b) e 50 min. no UV (c).....	81
Figura 37 –	Morfologia superficial dos hidrogéis em com colágeno, sulfato de condroitina, microesferas e riboflavina sem UV (a) 30 min. no UV (b) e 50 min. no UV (c).....	83
Figura 38 –	Espectro do FTIR dos hidrogéis sem UV, 30 min no UV e 50 min no UV.....	85
Figura 39 –	Hidrogéis de colágeno e EDC/NHS (a), colágeno, SC (1 %) e EDC/NHS (b), colágeno, SC (3 %) e EDC/NHS (c) e colágeno, SC (5 %) e EDC/NHS (d).....	86
Figura 40 –	Grau de intumescimento do hidrogel de colágeno e dos hidrogéis de colágeno com concentrações diferentes (5 %; 3 %, e 1 %) de sulfato de condroitina.....	87
Figura 41 –	TGA/TG dos hidrogéis de colágeno sem sulfato de condroitina (a), com 1 % de SC (b), com 3 % de SC (c) e com 5 % de SC (d)....	88
Figura 42 –	DSC do hidrogel de colágeno e EDC/NHS e dos hidrogéis de colágeno, sulfato de condroitina (1 %, 3 % e 5 %) e EDC/NHS.....	90
Figura 43 –	Morfologia superficial dos hidrogéis de colágeno e EDC/NHS (A) e dos hidrogéis de colágeno, sulfato de condroitina (0,05 g (B), 0,15 g(C) e 0,25 g (D) e EDC/NHS.....	91
Figura 44 –	Espectro do FTIR dos hidrogéis sem SC e os hidrogéis com SC (0,05 g; 0,15 g e 0,25g) e EDC/NHS.....	93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Composição em ácido graxos dos extratos a partir de resíduo de camarão...	60/61
Tabela 2	– Composição em ácido graxos dos extratos a partir de resíduo de camarão quanto a sua classificação por saturados, insaturados e ômega 3,6 e 9.....	62
Tabela 3	– Eficiência de encapsulação das microesferas com astaxantina.....	70
Tabela 4	– Análise de TGA/DTG das microesferas com astaxantina.....	74
Tabela 5	– Análise de TGA/DTG dos hidrogéis de colágeno, SC (0,05 g; 0,15 g e 0,25 g) e EDC/NHS.....	83
Tabela 6	– Temperaturas de pico endotérmico em cada transição do hidrogel de colágeno e EDC/NHS (sem SC) e dos hidrogéis de colágeno, SC (0,05 g; 0,15 g e 0,25 g) e EDC/NHS.....	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AST	Astaxantina
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
GAGs	Galactosaminoglicanos
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SC	Sulfato de Condroitina
TGA	Termogravimétrica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVO	21
2.1	Objetivo Geral	21
2.2	Objetivo Específico	21
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
3.1	Sulfato de condroitina	22
3.1.1	<i>Compostos ativos em espécies aquáticas</i>	24
3.2	Astaxantina	25
3.3	Tecnologia de encapsulamento	28
3.3.1	Encapsulamento com alginato de sódio	29
3.3.1.1	<i>Métodos de microencapsulação com alginato</i>	30
3.4	Sistema de liberação controlada	31
3.5	Hidrogéis	33
4	MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1	Obtenção de Sulfato de condroitina	35
4.1.1	<i>Pré-tratamento do resíduo ósseo de tilápia do Nilo</i>	35
4.1.2	<i>Processo de extração, rendimento e purificação do sulfato de condroitina</i>	35
4.1.3	<i>Caracterização do sulfato de condroitina extraído de resíduos ósseos (crânio e coluna vertebral) de tilápia</i>	35
4.2	Astaxantina	36
4.2.1	<i>Pré-tratamento do resíduo de camarão</i>	37
4.2.2	<i>Processo de extração do extrato concentrado com astaxantina</i>	37
4.2.3	<i>Rendimento global da extração</i>	37
4.2.4	<i>Caracterização do extrato concentrado de astaxantina do resíduo de camarão</i>	38
4.2.4.1	<i>Composição de ácidos graxos presentes no extrato</i>	38
4.2.4.2	<i>Teor de astaxantina no extrato</i>	38

4.2.4.3	<i>Atividade antioxidante do extrato</i>	38
4.2.4.4	<i>Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)</i>	39
4.3	Microencapsulação da astaxantina do extrato concentrado com alginato	40
4.3.1	<i>Caracterização das microcápsulas de alginato contendo astaxantina do extrato concentrado</i>	40
4.3.2	<i>Morfologia das micropartículas</i>	40
4.3.3	<i>Determinação do tamanho e dispersão das partículas</i>	41
4.3.4	<i>Análise de FTIR</i>	41
4.3.5	<i>Eficiência de encapsulação</i>	42
4.3.6	<i>Atividade antioxidante</i>	42
4.3.7	<i>Comportamento de liberação da astaxantina das microcápsulas</i>	43
4.3.8	<i>Análise térmica (TGA e DSC) das microcápsulas</i>	43
5	Formulação dos hidrogéis de colágeno com sulfato de condroitina	43
5.1	Hidrogéis de colágeno com sulfato de condroitina, incorporados de microcápsulas contendo astaxantina e reticulados com riboflavina	43
5.2	Hidrogéis de colágeno com sulfato de condroitina reticulados com EDC/NHS	44
5.3	Caracterização dos hidrogéis de colágeno com sulfato de condroitina	44
5.3.1	<i>Grau de intumescimento</i>	44
5.3.2	<i>Análise térmica (TGA e DSC)</i>	45
5.3.3	<i>Análise morfológica (MEV)</i>	45
5.3.4	<i>Análise infravermelho (FTIR)</i>	45
6	RESULTADOS E DISCUSSÕES	46
6.1	Sulfato de condroitina	46
6.1.1	Resultados das caracterizações do SC extraído do resíduo (crânio) de tilápia	46
6.1.1.1	<i>Análise de DSC</i>	46
6.1.1.2	<i>Análise de TGA</i>	47
6.1.1.3	<i>Análise de HPLC</i>	49
6.1.1.4	<i>Análise de RMN</i>	50

6.1.1.5	<i>Análise de MEV</i>	52
6.1.1.6	<i>Análise de FTIR</i>	52
6.1.2	<i>Resultados da caracterização do sulfato de condroitina extraído da coluna vertebral de tilápia</i>	54
6.1.2.1	<i>Análise de DSC</i>	54
6.1.2.2	<i>Análise de TGA</i>	55
6.1.2.3	<i>Análise de HPLC</i>	58
6.1.2.4	<i>Análise de RMN</i>	58
6.1.2.5	<i>Análise de MEV</i>	60
6.1.2.6	<i>Análise de FTIR</i>	62
6.2	<i>Caracterização do extrato concentrado de astaxantina</i>	62
6.2.1	<i>Rendimento da extração</i>	63
6.2.2	<i>Resultados da caracterização do extrato concentrado de astaxantina do resíduo de camarão</i>	63
6.2.2.1	<i>Composição em ácidos graxos dos extratos</i>	65
6.2.2.2	<i>Teor de astaxantina no extrato</i>	66
6.2.2.3	<i>Atividade antioxidante do extrato</i>	67
6.3	<i>Resultados da caracterização das microcápsulas de alginato de cálcio com astaxantina</i>	68
6.3.1	<i>Análise morfológica (MEV)</i>	68
6.3.2	<i>Distribuição de tamanho de partícula e potencial zeta</i>	70
6.3.3	<i>Comportamento do potencial antioxidante do extrato concentrado de astaxantina contido nas microcápsulas</i>	71
6.3.4	<i>Análise de FTIR</i>	72
6.3.5	<i>Eficiência de encapsulação</i>	73
6.3.6	<i>Comportamento de liberação da astaxantina contida nas microcápsulas de alginato</i>	75
6.3.7	<i>Análise térmica</i>	77
6.4	<i>Resultados da caracterização dos hidrogéis</i>	77

6.4.1	<i>Hidrogéis de colágeno e sulfato de condroitina, incorporado de microcápsulas de astaxantina reticulados com riboflavina</i>	77
6.4.1.1	<i>Grau de intumescimento</i>	79
6.4.1.2	<i>Análise térmica</i>	82
6.4.1.3	<i>Análise morfológica (MEV)</i>	83
6.4.1.4	<i>Análise de FTIR</i>	86
6.4.2	<i>Hidrogéis de colágeno e sulfato de condroitina reticulados com EDC/NHS</i>	86
6.4.2.1	<i>Grau de intumescimento</i>	87
6.4.2.2	<i>Análise térmica</i>	92
6.4.2.3	<i>Análise morfológica</i>	91
6.4.2.4	<i>Análise de FTIR</i>	92
7	CONCLUSÕES	94
8	PROPOSTAS FUTURAS	95
	REFERÊNCIAS	96
	APÊNDICE A - EXTRAÇÃO DE COLÁGENO DA PELE DE TILÁPIA (<i>Oreochromis niloticus</i>)	104