

Avaliação do comportamento reológico e estabilidade em diferentes pHs em hidrogéis de carragena

Evaluation of rheological behavior and stability at different pHs in carrageenan hydrogels

RESUMO

Hidrogéis físicos à base de kappa-carragena podem ser preparados usando soluções aquosas na presença de íons metálicos como agentes reticulantes ou misturando soluções aquosas de κ -carragena com outros polissacarídeos e proteínas. Estes hidrogéis foram utilizados para fins tecnológicos, contudo, não há relatos sobre as propriedades da κ -carragena comercial da GENUGEL® produzida pela CP Kelco. A análise reológica mostra que a 40 °C, os sistemas de κ -carragena a 5,0 e 4,0 % em peso conferiram módulos de armazenamento (G') de 30000, 10000 Pa, respectivamente. Ensaio de intumescimento indicaram que os hidrogéis secos incham de 2400 e 3100 % e os testes de desintegração confirmaram alta estabilidade em água destilada ao longo de 14 dias. GENUGEL® é amplamente utilizado como ingrediente alimentar, no entanto, esses resultados podem servir de base para novos estudos de κ -carragena comercial, visando aplicações na agricultura como material superabsorvente.

PALAVRAS-CHAVE: Kappa-carragena. Estabilidade. Hidrogéis físicos. Reologia. Superabsorventes.

Guilherme Augusto Moraes de Jesus
guilherme.moraesdejesus@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil.

Elton Guntendorfer Bonafé
eltongbonafe@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil.

Bruna Maria Gobbo Gonçalves
brunag@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil.

Sharise Beatriz roberto Berton
sharise_beatriz@hotmail.com
Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autorial: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



ABSTRACT

Kappa-carrageenan-based physical hydrogels may be prepared by using aqueous solutions in the presence of metal ions as cross-linking agents or by mixing aqueous solutions of κ -carrageenan with other polysaccharides and proteins. These hydrogels were used for technological purposes; Yet; There are no reports on the properties of GENUGEL® commercial κ -carrageenan produced by CP Kelco. Rheological analysis shows that at 40 °C, 5.0 and 4.0 wt% κ -carrageenan systems conferred storage modules (G') of 30000, 10000 Pa, respectively. Swelling tests indicated that dry hydrogels swell by 2400 and 3100 % and disintegration tests confirmed high stability in distilled water over 14 days. GENUGEL® is widely used as a food ingredient; However, these findings may serve as a basis for further studies of commercial κ -carrageenan, aiming at agricultural applications as superabsorbent material.

KEYWORDS: Kappa-carrageenan. Stability. Physical Hydrogels. Rheology. Superabsorbent.

INTRODUÇÃO

Hidrogéis são redes tridimensionais constituídas por macromoléculas hidrofílicas (FERNÁNDEZ-FERREIRO A. et al., 2015; WANG F, WEN Y, BAI T, 2016) com elevada capacidade de absorver fluidos biológicos e água. Ao serem aplicados, esses hidrogéis devem manter suas estruturas sem haver o comprometimento de suas matrizes tridimensionais (AHMED EM, 2015, SHUKLA R, KASHAW SK, 2016).

Carragenas são polissacáridos lineares sulfatados de D-galactose e de 3,6-anidro-D-galactose proveniente de algas vermelhas da classe *Rhodophyceae*. Comercialmente, os subtipos mais utilizados da carragena são o Iota (ι), Kappa (κ) e Lambda (λ). A carragena utilizada nesse estudo é predominante do tipo kappacarragena. Ela é obtida por extração das algas tropicais *Kappaphycus alvarezii*, conhecida no comércio como *Eucheuma cottonii* (ou simplesmente cottonii) (MARTIN R. E., CARTER E. P., DAVIS L. M., RUDOLPH B., 2000). A κ -carragena distingue-se pela sua estrutura primária, a qual é composta de alternâncias de α (1-3)-D-galactose-4-sulfato e β (1-4)-3,6-anidro-D-galactose. Esta molécula contém um grupo sulfato por unidade dissacarídica no carbono 2 dos 1,3 unidades de galactose (LIU, SIJUN, 2016).

Em temperaturas acima da temperatura de gelificação, as cadeias da carragena ocorrem na solução como espirais aleatórias. Durante o resfriamento da solução, uma rede de polímeros tridimensional é formada. Neste caso, destaca-se a formação de hidrogéis físicos de carragena em água, seguindo uma metodologia inédita de obtenção.

O objetivo desse trabalho é preparar hidrogéis físicos a base de carragena e água, sem a presença de agentes reticulantes, e avaliar sua temperatura de gelificação e estabilidade em diferentes pHs.

MATERIAIS E METODOS

Preparação do hidrogel físico. A κ -carragena GENUGEL[®] formada por unidades alternadas de α (1 \rightarrow 3) -D-galactose-4-sulfatada e β - (1 \rightarrow 4) -3,6-anidro-D-galactose foi doados pela empresa CP Kelco, Limeira-SP (Brasil).

A k-carragena comercial GENUGEL[®] (em pó) foi adicionada a 10 mL de água deionizada a 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0 % em massa sob agitação magnética a 65°C. Após a dissolução (10 min), todas as soluções foram condicionadas em banho-maria (25 °C) por uma hora para promover hidrogéis termossensíveis. Em seguida, os materiais foram congelados e liofilizados por 48 horas. Os hidrogéis de κ -carragena da GENUGEL[®] são chamados de CAHX e X indica o conteúdo inicial de polissacarídeo (% em massa) na solução aquosa.

Medidas de reologia. As propriedades reológicas dinâmicas dos hidrogéis foram medidas usando um reômetro de estresse controlado (MARS II Haake[®]) equipado com uma placa de cone de 35 mm de diâmetro separada por uma distância fixa de 0,052 mm.

A determinação da faixa viscoelástica linear e a varredura foram realizadas segundo estudos de (BRUSCHI M.L., D.S. JONES, 2007) e (DE SOUZA S.B.F. 2016).

Ensaio de degradação/ dissolução in vitro. Amostras de hidrogel secas (~ 0,20 g) tiveram suas massas secas (Mseca-I) medidas, em seguida foram embebidas em 50 mL de tampão fosfato (PBS, pH 7,4), fluido gastrointestinal (SGF pH 1,2) e água destilada (pH 5,5) a 37 ° C com agitação constante (100 rpm) (J.G. MARTINS, A.C. DE OLIVEIRA, 2016). Em intervalos de tempo desejados (após 1 e 14 dias), as amostras são removidas das soluções, secas e pesadas para determinar suas massas secas finais (Mseca-F). O nível de degradação (%) é avaliado usando a equação (1).

$$\text{Degradação (\%)} = \left(\frac{M_{\text{seca I}} - M_{\text{seca F}}}{M_{\text{seca I}}} \times 100 \right) \quad (1)$$

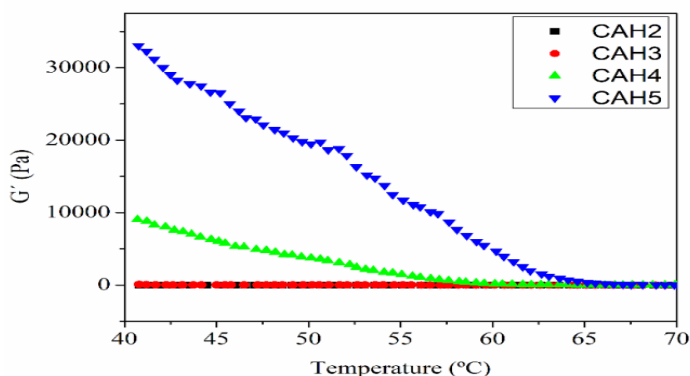
Ensaio de intumescimento em água destilada. O grau de intumescimento (DP%) é avaliado por imersão de hidrogéis secos em água destilada a 25 ° C por 24 h sob agitação (100 rpm). Os resultados são calculados pela equação (2). Em que Mint. e Mseca. são as massas das amostras intumescidas e secas, respectivamente.

$$\text{Intumescimento (\%)} = \left(\frac{M_{\text{int}} - M_{\text{seca}}}{M_{\text{seca}}} \times 100 \right) \quad (2)$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Reologia. Os módulos elásticos (G') são medidos em função da temperatura (Fig. 1). A 40°C, o CAH5 apresentou G' superior a 30000 Pa, enquanto o CAH4 indicou 10000 Pa, seguido por CAH3 (40 Pa) e CAH2 (2 Pa) (Fig. 1).

Figura 1. Efeito da temperatura (intervalo entre 40 a 70 ° C) sobre os módulos de armazenamento (G') dos sistemas comerciais de k-carragena. As análises foram realizadas em seis repetições.



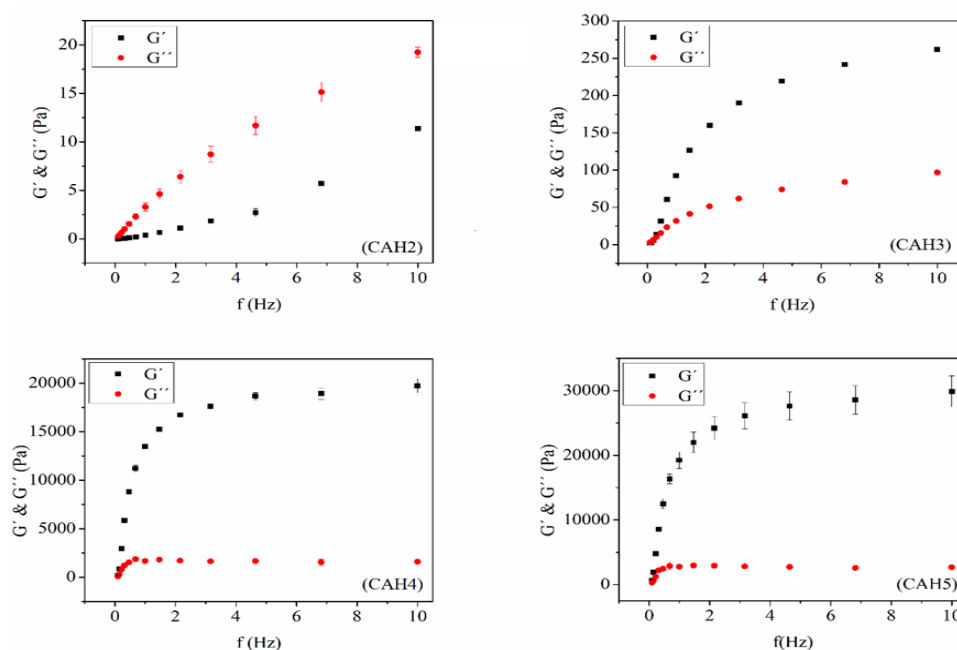
Fonte: Autoria própria (Origin pro8)

O G' diminuiu com o a temperatura, atingindo valores muito baixos acima de 60 ° C (Fig. 1). A temperaturas acima de 60 ° C, soluções concentradas à base de k-carragena (4,0 e 5,0% em peso) apresentam macromoléculas com configuração aleatória devido à alta energia cinética. Resfriando soluções concentradas de κ-carragena (4,0 e 5,0% em massa), duplas hélices estáveis são formadas.

A temperatura de gelificação ($T_{\text{sol-gel}}$) pode ser obtida através da primeira derivada das curvas G' em função da temperatura (Fig. 1). O $T_{\text{sol-gel}}$ para CAH4 e CAH5 é 40 e 44 °C respectivamente. Este resultado é determinado tomando a temperatura na curva do ponto de inflexão obtida pela primeira derivada.

Também verificamos o $T_{\text{sol-gel}}$ usando o método de inclinação. O $T_{\text{sol-gel}}$ para CAH4 e CAH5 avaliado pelo método de inclinação atingiu 39 e 44 °C, respectivamente. Em temperaturas mais baixas, soluções aquosas de k-carragena diluída apresentam pequenos valores de G' . Portanto, maiores respostas G' são obtidas de soluções mais concentradas (S. LIU, L. LI, 2016).

Figura 2. Módulos de armazenamento (G') e perda (G'') avaliados em uma faixa de frequência de 0,1 e 10 Hz.



FONTE: AUTORIA PRÓPRIA (Origin pro8)

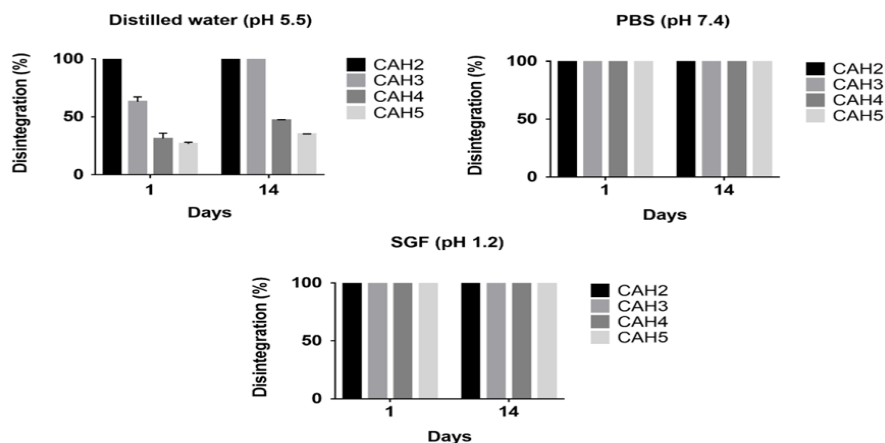
Medidas de G' e G'' em função da frequência oscilatória determinada a 60 °C são apresentadas na Fig. 2. Quando os valores de G' são maiores que G'' , as propriedades elásticas prevalecem, e hidrogéis mais estáveis são formados. Por outro lado, maiores valores de G'' indicam que os materiais têm um comportamento viscoso.

O comportamento de solução viscosa predomina para o hidrogel CAH2 e CAH3; entretanto, valores baixos de G' são medidos na mesma faixa de frequência oscilatória (Fig.2). Por outro lado, os hidrogéis CAH4 e CAH5 conferiram os maiores valores de G' quando comparados às medidas de G'' (Fig. 2). Sistemas de k-carragena mais concentrados fornecem hidrogéis mais duráveis devido ao alto conteúdo de duplas hélices agregadas e ocorrência de interações efetivas nos conjuntos.

Estudo de intumescimento e degradação. O teste de degradação é realizado durante 14 dias para investigar a estabilidade dos hidrogéis em água destilada (pH 5,5), PBS (pH 7,4) e SGF (pH 1,2). O CAH2 não tem estabilidade sendo dissolvido após 1 dia em todos os meios. Após o dia 1 em água destilada, as amostras de CAH3, CAH4 e CAH5 desintegraram 63; 31 e 27 %, respectivamente

(fig. 3). Após o 14^o dia em água destilada, apenas CAH4 e CAH5 apresentaram massas remanescentes.

Figura 3 Resultados de degradação/ dissolução (%) avaliados em água destilada (pH 5,5), PBS (pH 7,4) e SGF (pH 1,2).



FONTE: AUTORIA PRÓPRIA (Origin pro8)

Todos os hidrogéis (CAH2, CAH3, CAH4 e CAH5) não apresentaram estabilidade em PBS e SGF, sofrendo 100 % de desintegração no primeiro dia. A baixa estabilidade em SGF pode estar relacionada à hidrólise ácida dos segmentos poliméricos de k-carragena. No entanto, SGF e PBS têm altos teores de íons (alta força iônica) (MARTINS J.G., DE OLIVEIRA A.C., 2016). A alta força iônica reduz as interações entre as cadeias poliméricas de k-carragena, contribuindo para dissolver os hidrogéis em PBS e SGF.

O ensaio de intumescimento in vitro. É avaliado em água destilada para investigar a capacidade de absorção de água dos hidrogéis estáveis. Os graus de intumescimento encontrados para CAH4 é de 3100 %, enquanto para CAH5 é de 2700 %. Hidrogéis com graus de intumescimento acima de 200 % são classificados como superabsorventes; portanto, tanto CH4 como CH5 são materiais superabsorventes. Hidrogéis superabsorventes à base de polissacarídeos têm sido utilizados como condicionadores de solo (GUILHERME M.R., 2015).

CONCLUSÃO

Aqui foi demonstrado a preparação e a estabilidade em diferentes pHs, de hidrogéis físicos a base de k-carragena comercial GENUGEL® usada como ingrediente alimentar. Todos os materiais foram extensivamente caracterizados por meio de análises de medidas reológicas. Foi mostrado que hidrogéis físicos e estáveis são criados pela modulação da concentração de k-carragena. Ajustando o teor de polissacarídeo a 4,0 e 5,0 % em massa/volume, os hidrogéis duráveis em água são obtidos com temperatura de gelificação ($T_{sol-gel}$) de cerca de 39 e 43 °C, respectivamente. Proteínas interagem com k-carragena por meio de interações intermoleculares e forças eletrostáticas, enquanto cátions metálicos podem estabilizar os sítios de sulfato ionizado em cadeias de k carragena por forças de Coulomb. A agregação polissacarídica só prevalece quando se preparam soluções aquosas a 4,0 e 5,0 % m/vol. Portanto, a k-carragena comercial pode

fornecer hidrogéis estáveis seguindo um processo na ausência de produtos químicos tóxicos. Os hidrogéis são materiais superabsorventes (graus de intumescimento acima de 3000%) e são duráveis em água destilada por 14 dias. Essas descobertas podem abrir perspectivas para estudos adicionais sobre os hidrogéis comerciais à base de k-carragena da GENUGEL[®], visando a produção de novos dispositivos com aplicações na indústria alimentícia e na agricultura.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo apoio financeiro, à Universidade Tecnológica Federal do Paraná, à Universidade Estadual de Maringá, aos professores e amigos envolvidos.

REFERÊNCIAS

AHMED, E.M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *J Adv Res.* 2015;6(2):105-121. doi:10.1016/j.jare.2013.07.006.

BRUSCHI, M.L.; JONES D.S.; PANZERI H.; GREMIÃO M.P.D.; de FREITAS O.; LARA E.H.G.; Semisolid Systems Containing Propolis for the Treatment of Periodontal Disease: *In Vitro* Release Kinetics, Syringeability, Rheological, Textural, and Mucoadhesive Properties, *J. Pharm. Sci.* 96 (2007) 2074–2089. doi:10.1002/jps.20843.

DE SOUZA S.B.F.; MOÇO T.D.; BORGHI-PANGONI F.B.; JUNQUEIRA M.V.; BRUSCHI M.L.; Rheological, mucoadhesive and textural properties of thermoresponsive polymer blends for biomedical applications, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 55 (2016) 164–178. doi:10.1016/J.JMBBM.2015.10.026.

GUILHERME M.R.; AOUADA F.A.; FAJARDO A.R.; MARTINS A.F.; PAULINO A.T.; DAVI M.F.T.; RUBIRA A.F.; MUNIZ E.C.; Superabsorbent hydrogels based on polysaccharides for application in agriculture as soil conditioner and nutrient carrier: A review, *Eur. Polym. J.* 72 (2015) 365–385. doi:10.1016/J.EURPOLYMJ.2015.04.017.

LIU, SIJUN. Thermoeversible Gelation and Scaling Behavior of Ca²⁺-Induced κ-carrageenan Hydrogels. *Food Hydrocolloids.* 2016; n 61.

LIU S.; LI L.; Thermoreversible gelation and scaling behavior of Ca²⁺-induced κ-carrageenan hydrogels, *Food Hydrocoll.* 61 (2016) 793–800. doi:10.1016/J.FOODHYD.2016.07.003.

MARTINS J.G.; DE OLIVEIRA A.C.; GARCIA P.S.; KIPPER M.J.; MARTINS A.F.; Durable pectin/chitosan membranes with self-assembling, water resistance and enhanced mechanical properties, *Carbohydr. Polym.* 188 (2018) 136–142. doi:10.1016/J.CARBPOL.2018.01.112.

MARTIN R.E.; CARTER E.P.; DAVIS L.M.; RUDOLPH, Seaweed Product B.: In *Red Algae of Economic Significance.*, Flich G. J. (Eds.), Marine and Freshwater Products Handbook. Lancaster, USA: Technomic Publishing Company Inc. 2000; 515–529.

SHUKLA R.; KASHAW SK.; JAIN AP.; LODHI S. Fabrication of Apigenin loaded gellan gum–chitosan hydrogels (GGCH-HGs) for effective diabetic wound healing. *Int J Biol Macromol.* 2016;91:1110-1119. Doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.06.075.