

Desenvolvimento de material nanoestruturado a partir de biopolímeros

Development of nanostructured material from bio-polymers

RESUMO

Gabriela Pereira
gabrielap.2016@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

Reinaldo Yoshio Morita
rmorita@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

O objetivo deste trabalho foi a extração de colágeno a partir da pele de tilápia do Nilo, a fim de produzir filmes e membranas poliméricas com propriedades inovadoras e tecnológicas. Para isto, foram preparados filmes utilizando gelatina comercial, o que possibilitou a escolha do melhor método de obtenção de filmes finos com aspecto homogêneo, transparente e flexível, empregando o método de *casting*. A extração do colágeno pisco não ocorreu devido a pandemia de COVID-19, mas uma importante parceria para a execução do projeto foi firmada. Os resultados obtidos referentes aos filmes poliméricos preparados com gelatina comercial foram satisfatórios em relação a homogeneidade, flexibilidade e transparência. Essa flexibilidade se deu pelo uso do plastificante, o glicerol, mas alguns filmes apresentaram aspecto molhado. Após uma análise teórica foi possível observar que isso ocorreu por erro na dosagem do plastificante, o que fez com que acontecesse uma separação de fases, ocasionando o aspecto molhado do filme.

PALAVRAS-CHAVE: Tilápia do Nilo. Colágeno. Filmes poliméricos.

Recebido: 19 ago. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

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



ABSTRACT

The objective of this work was to extract collagen from Nile tilapia skin in order to produce films and membranes polymeric with innovative and technological properties. For this, films were prepared using commercial gelatin, which made it possible to choose of the best method of obtaining thin films with homogeneous, transparent and flexible appearance, using the casting method. The extraction of pyceous collagen did not occur due to the COVID-19 pandemic, but an important partner-ship for the implementation of the project was signed. The results obtained for polymeric films prepared with commercial gelatine were satisfactory in relation to homogeneity flexibility and transparency. This flexibility was caused by the use of the plasticizer, glycerol, but some films showed a wet aspect. Af-ter a theoretical analysis it was possible to observe that this occurred by error in the dosage of the plasticizer, which caused a separation of phases to happen, caus-ing the wet aspect of the film.

KEYWORDS: Nile tilapia. Collagen. Polymeric films.

INTRODUÇÃO

O Paraná é o maior produtor de pescados em cativeiro do Brasil, sendo que a produção de tilápia do Nilo representa 80% da produção nacional (GOVERNO DO PARANÁ, 2019). Para este grande volume de produção de proteína animal, focada principalmente na obtenção de filé, a proporção de resíduos também é alta. Segundo a NBR 10.004, é possível classificar as peles residuárias como Classe II - Não Inerte, ou seja, não apresentam riscos à saúde pública e ao meio ambiente, além de apresentarem biodegradabilidade.

A tilápia do Nilo é um peixe da família Cichlidae, originado na bacia do Rio Nilo, Egito. Possui um corpo que pode ser dividido como cabeça, tronco e cauda. Este é recoberto por uma pele composta por duas camadas, ectoderme e derme (FERREIRA, et al., 2015). Amplamente difundido no Brasil, o principal produto deste animal é o filé, fazendo assim com que uma grande parte da carcaça, que refere-se a cabeça, vísceras, espinhaço, nadadeiras e pele, seja destinada para outros fins, o mais comum é a produção de farinha para incremento de rações de animais como coelhos (GALAN et al., 2013), peixes (POTRICH, BOSCOLO, 2012) e até para a própria tilápia do Nilo em desenvolvimento. A pele deste peixe, segundo Souza e colaboradores (2008) tem uma característica própria. Na região da derme superficial, as fibras de colágeno se sobrepõem, entrelaçando-se, formando linhas de fibras longas e orientadas. Já a derme profunda possui fibras de colágeno mais densas e espessas, também sobrepostas, ordenadas de forma paralela e transversal (ALVES et al., 2018).

O colágeno é encontrado na pele de diversos animais, sua principal função é dar sustentação aos tecidos nos quais se encontra (FERREIRA et al., 2012). Sua molécula é composta por múltiplas sequências de aminoácidos, compostas por cadeias polipeptídicas como glicina, prolina, hidroxiprolina, alanina, lisina e hidroxilisina. Foram catalogados cerca de 29 tipos genéticos de colágeno, sendo o tipo I, II e III, caracterizados como fibrilares. É possível determinar o tipo de colágeno de acordo com a distribuição tecidual. Nesse caso, o tipo I é o mais abundante nas peles de tilápia. Este colágeno pode apresentar características antimicrobianas, anticoagulantes e anti-hipertensivas (OLIVEIRA et al., 2017). Além disso, estudos histológicos demonstram que há uma boa resistência a tração e umidade neste tipo de pele, sendo assim semelhante a pele humana, havendo a possibilidade de uso como um biomaterial promissor (LIMA JÚNIOR, 2018)

Nesse sentido, há o reaproveitamento desses materiais na produção de embalagens ativas (SANTOS et al., 2018), utilização da pele como curativo biológico (CHEN et al., 2019), produção de compressa cirúrgica (MIRANDA, MARCELO JOSÉ BORGES DE.; BRANDT, 2018), entre outros.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo a obtenção de colágeno a partir da pele de tilápia do Nilo, a fim de produzir filmes e membranas poliméricas com propriedades inovadoras e tecnológicas.

MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi separado em duas etapas: 1ª) Preparo de filmes a base de gelatina comercial; 2ª) Obtenção de colágeno e gelatina da pele de tilápia do Nilo e preparo de filmes.

PREPARO DE FILMES A BASE DE GELATINA COMERCIAL

Os filmes foram preparados utilizando gelatina comercial em pó seguindo a metodologia adaptada de Bandeira et al. (2015). Pelo método de *casting*, os filmes foram preparados conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Condições experimentais do preparo dos filmes de gelatina comercial

Código das amostras	Concentração (% (m/v))	Método	Glicerol (mL)	Tipo de molde
F4	4	-	ausente	PS
F5M1	5	M1	ausente	silicone
F5M2		M2	1,8	
F10	10	-	1,2	PS

Todos os filmes foram preparados utilizando o mesmo método *casting*. M1: método adaptado que não possui glicerol e o meio é aquecido mais uma vez. M2: método adaptado que possui glicerol e que o meio é aquecido por mais 2 vezes.

Fonte: Autoria própria (2020).

A gelatina em pó foi dissolvida em 200 mL de água destilada, aquecida a 70 °C, utilizando um bastão de vidro para a agitação até a completa dissolução do sólido. Em seguida, foi adicionada ao meio o restante da água destilada aquecida e o glicerol, no caso das amostras F5M2 e F10. Esta mistura homogênea foi acondicionada em moldes de poliestireno (PS) ou silicone, sendo espalhada sobre toda a superfície. Estas amostras permaneceram na capela de exaustão por 18 h a temperatura ambiente de aproximadamente 25 °C.

OBTENÇÃO DE COLÁGENO E GELATINA DA PELE DE TILÁPIA DO NILO E PREPARO DE FILMES.

A obtenção do colágeno será feita através da extração de um gel da pele da tilápia do Nilo, cortadas em quadrados de 1 cm² e pré-tratadas em meios alcalino e ácido (BANDEIRA et al., 2015). Para o primeiro pré-tratamento, as peles cortadas serão colocadas em água destilada e o pH do meio ajustado a 11 com o uso da solução de hidróxido de sódio 3 mol L⁻¹. Permanecendo em agitação magnética por 15 min e em seguida, o material é separado do líquido. Este procedimento será repetido (segundo pré-tratamento), apenas alterando o tempo de agitação para 60 min. A pele será lavada com água destilada até a neutralidade do meio. E, no terceiro pré-tratamento, as peles serão colocadas em água destilada e o pH do meio ajustado a 2 com o uso da solução de ácido clorídrico 3 mol L⁻¹. Permanecendo em agitação magnética por 15 min e, por fim, as peles serão lavadas com água destilada até a neutralidade do meio. O gel será extraído da pele em banho termostatizado a 52 °C por 2 h em pH 4. A solução é filtrada e o material retido no filtro (gelatina) deverá ser colocado em ultrafreezer (-80 °C) por 48 h. O material será liofilizado, em seguida, armazenado em um dessecador.

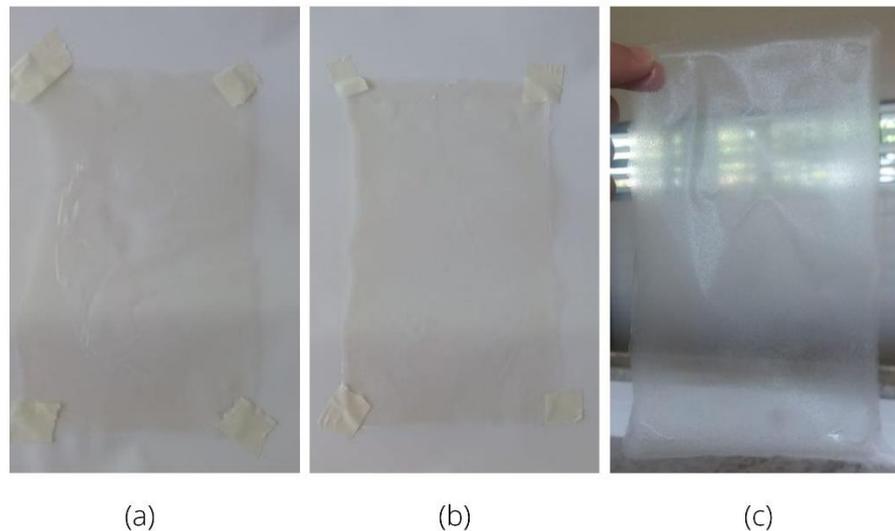
O preparo dos filmes utilizando a gelatina extraída da tilápia seguirá dentre as metodologias, descritas anteriormente, aquelas que apresentarem os melhores resultados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

PREPARO DE FILMES A BASE DE GELATINA COMERCIAL

Os filmes de gelatina obtidos nas concentrações estudadas apresentaram uma aparência homogênea, sem a presença de grânulos não solubilizados, de fissuras ou imperfeições. Os filmes F4 e F10 (Figura 1) preparados no molde PS apresentaram uma superfície com aspecto áspero e translúcido, devido a porosidade da superfície do molde.

Figura 1 – Imagens dos filmes de gelatina comercial contendo (a) 4 (F4), (b) 10 % (m/v) (F10) e (c) (F10).



Fonte: Autoria própria (2020).

A solução de preparo do filme F10 ficou aparentemente mais viscosa quando comparada com a solução do F4, de maneira que, promoveu a formação de um filme relativamente mais grosso em espessura. De modo qualitativo, ambos os filmes apresentaram uma boa resistência a tração e flexibilidade. No caso do filme F10, o glicerol atua como um agente plastificante, afastando as cadeias do polímero, diminuindo as forças intermoleculares entre estas cadeias e por consequência, as propriedades físicas e mecânicas do material polimérico são alterados. Por exemplo, os plastificantes promovem maior flexibilidade aos filmes finos de determinados polímeros.

De modo a evitar a formação de um filme com aspecto áspero e translúcido, foi feito filmes utilizando o molde de silicone. Os filmes F5M1 e F5M2 (Figura 2) apresentaram superfície lisa, transparente e de coloração levemente amarelada.

O filme F5M2, contendo o plastificante, apresentou um aspecto molhado após algumas horas da sua formação e com o manuseio. Este comportamento demonstra que o plastificante está sendo retirado facilmente do material polimérico, possivelmente por ter ultrapassado o limite do plastificante no polímero. Estes filmes aparentemente ficaram com espessura mais grossa que os filmes F4 e F10, contudo, ainda apresentaram boa flexibilidade e a resistência mecânica.

Figura 2 – Imagens dos filmes de gelatina comercial contendo (a) 5 % (m/v) sem glicerol (F5M1) e (b) 5 % (m/v) com glicerol (F5M2)



(a)



(b)

Fonte: Autoria própria (2020).

OBTENÇÃO DE COLÁGENO E GELATINA DA PELE DE TILÁPIA DO NILO E PREPARO DE FILMES.

Esta etapa do trabalho não pode ser realizada em virtude da pandemia acometido no começo do mês de março de 2020 até o presente momento, restringindo o acesso aos locais, inclusive as dependências da universidade. Contudo, durante este período foi acordado uma parceria com a UNEPE de piscicultura, da UTFPR câmpus Dois Vizinhos, sob a responsabilidade do professor Ricardo Sado. Esta UNEPE é uma unidade experimental de Ensino e Pesquisa alocado na fazenda experimental dentro deste câmpus e serão os colaboradores deste trabalho no sentido de fornecer e abater os peixes.

Ainda, no mês de junho foi encaminhado os documentos ao Comitê de Ética em Pesquisa de uso de Animais (CEUA) da UTFPR, de modo a avaliar e autorizar o abate dos peixes para obtenção da pele e extração do colágeno. Este pedido foi realizado para formalizar todo o procedimento referente ao abate dos animais. Até o momento, este pedido foi analisado três vezes e por meio de pareceres foi exigido algumas adequações no formulário de pedido e no projeto de pesquisa apresentado no ato da submissão ao CEUA.

CONCLUSÃO

Os filmes de gelatina foram preparados utilizando um produto comercial. Este procedimento permitiu escolher o melhor método de obtenção de filmes

finos com aspecto homogêneo, transparente e flexível. Portanto, esta etapa do trabalho foi fundamental para posteriormente preparar, utilizando este método, os filmes de colágeno e de gelatina obtidos da extração da pele de tilápia do Nilo. A parceria com a UNEPE de piscicultura foi um avanço e uma oportunidade para a execução futura do trabalho, pois a experiência e as metodologias consolidadas aplicadas nesta unidade de Ensino auxiliará na relevância científica do presente trabalho. O encaminhamento das documentações ao CEUA e todo o trâmite acerca do uso de animais em experimentos é fundamental e de extrema importância ao trabalho. Portanto, o presente trabalho é promissor na obtenção de futuros materiais poliméricos inovadores base na preparação de artefatos em diversas áreas de aplicação.

AGRADECIMENTOS

A UTFPR, ao professor Ricardo Sado responsável pela UNEPE piscicultura.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA DE NOTÍCIAS DO PARANÁ “**Líder na produção de pescados, Paraná prevê crescimento de 20%**”. Governo do Estado do Paraná, Secretaria de agricultura, 2019. Disponível

em: <http://www.aen.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=101686&tit=Lider-na-producao-de-pescados-Parana-preve-crescimento-de-20>. Acesso em: 12 ago. 2019.

Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR.10004. **Resíduos sólidos – classificação**. v.19 (2004). Disponível em:

<https://www.gedweb.com.br/visualizador-lite/Viewer.asp?ns=170&token={8C6DF545-62A7-48D3-9726-FDAE11BEBA33}&i=False&pdf=True&s=True&u=True&lim=0&sid=970938732&cnpj=75.101.873/0008-66&email=&tracking=gabrielap.2016@alunos.utfpr.edu.br>. Acesso em 20 set.2019.

POTRICH, F. R. & BOSCOLO.R; SIGNOR. A; NEU. D; FEIDEN. A; SIGNOR. AL. Digestibilidade protéica da farinha de resíduos da filetagem de tilápias e farinha de vísceras de aves para o piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) **Scientia Agraria Paranaensis**, n. 11, p.66–72, 2012. Disponível em: <http://e-revista.unioeste.br/index.php/scientiaagraria/article/view/5433> Acesso em: 17 mar.2020.

ALVES. A; LIMA JÚNIOR. E; PICCOLO, N; DE MIRANDA, M; LIMA VERDE, M; FERREIRA JÚNIOR, A; SILVA, P; FEITOSA, V; DE BANDEIRA, T; MATHOR, M; DE MORAES, M. Study of tensiometric properties, microbiological and collagen content in Nile tilapia skin submitted to different sterilization methods. Cell and Tissue Banking, **Cell and Tissue Banking**, v. 19, n. 3, p. 373–382, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29380095/> Acesso em: 2 nov.2019.

BANDEIRA, S; DA SILVA, R. DE MOURA, J et al. Modified Gelatin Films from Croaker Skins: Effects of pH, and Addition of Glycerol and Chitosan. **Journal of Food Process Engineering**, v. 38, n. 6, p. 613–620, dez. 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jfpe.12191> Acesso em: 15 out. 2019.

CHEN. J; GAO. K; SHU. L; SHUJUN. W; JEEVITHAN. E; BIN. B; DONG. J; LIU. N; WENHUI. W. Fish Collagen Surgical Compress Repairing Characteristics on Wound Healing Process In Vivo, **Marine drugs**, n. 17, p.1–2, 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/17/1/33>. Acesso em: 10 mar.2020.

SOUZA FERREIRA. G; MACIEL. L, DALMASS. M; GONÇALVES M. **Tilápia-do-nilo Criação e cultivo em viveiros no estado do Paraná**. GIA, Curitiba, 2015. *E-book*.

FERREIRA. T; SILVA. D; LÚCIA. A & PENNA, B. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais Chemical characteristics and functional properties of collagen. Artig. Orig. Artic. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, n. 71, p. 530–539, 2012. Disponível em: <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/pdf/rial/v71n3/v71n3a14.pdf> Acesso em: 20 out.2019.

GALAN, G; FRANCO, M; SCAPINELLO, C; OLIVEIRA, E. SOUZA; GASPARINO, E; D.VESCO, A. Farinha de carcaça de tilápia do Nilo em dietas para coelhos: desempenho e lipídeos séricos. **Scientia Agraria Paranaensis** SAP 12, p.193–204, 2013. Disponível em: <http://www.bibliotekevirtual.org/index.php/2013-02-07-03-02-35/2013-02-07-03-03-11/1108-sap/v12n03/10672-farinha-de-carcaca-de-tilapia-do-nilo-em-dietas-para-coelhos-desempenho-e-lipideos-sericos.html>. Acesso em: 15 mar.2020.

LIMA JUNIOR, E.M. Tecnologias inovadoras: uso da pele da tilápia do Nilo no tratamento de queimaduras e feridas, **Revista Brasileira de Queimaduras**, n. 16, p.1–2, 2018. Disponível em: <http://www.rbqueimaduras.com.br/details/339/pt-BR/tecnologias-inovadoras--uso-da-pele-da-tilapia-do-nilo-no-tratamento-de-queimaduras-e-feridas#:~:text=Os%20resultados%20foram%20animadores%3A%20a,queimaduras%20de%20segundo%20grau%20superficial>. Acesso em: 12 set.2019.

OLIVEIRA. V; CUNHA. M; NASCIMENTO. T; ASSIS C; BEZERRA. R; PORTO.A. Colágeno : características gerais e produção de peptídeos bioativos - uma revisão com ênfase nos subprodutos do pescado Collagen : general characteristics and production of bioactive peptides, **Acta of fisheries and Aquatic Resources** n. 5, p.56–68, 2017. Disponível em: http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552012000300014&lng=pt. Acesso em: 25 out.2019.

SANTOS. J; ESQUERDO.V; MOURA. C; PINTO.L. Crosslinking agents effect on gelatins from carp and tilapia skins and in their biopolymeric films. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 539, p. 184–191, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775717311068>. Acesso em: 12 nov.2019.

ZHANG. Y; VENUGOPAL. J; HUANG. Z; LIM. C; RAMAKRISHNA. S. Crosslinking of the electrospun gelatin nanofibers, **Polymer**, n. 47, p. 2911–2917, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386106001789?via%3Dihub>. Acesso em: 15 nov.2019.