

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS
CURSO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS

ISABELLA PAULA DE ARAÚJO

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS DE GOMA GELANA PARA
POTENCIAL APLICAÇÃO NA ENGENHARIA DE TECIDOS**

BELO HORIZONTE

2023

ISABELLA PAULA DE ARAÚJO

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS DE GOMA GELANA PARA
POTENCIAL APLICAÇÃO NA ENGENHARIA DE TECIDOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
no curso de Graduação em Engenharia de
Materiais do Centro Federal de Educação
Tecnológica de Minas Gerais como requisito
parcial para obtenção do título de Bacharel em
Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Hermes de Souza Costa

BELO HORIZONTE

2023

ISABELLA PAULA DE ARAÚJO

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS DE GOMA GELANA PARA
POTENCIAL APLICAÇÃO NA ENGENHARIA DE TECIDOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
no curso de Graduação em Engenharia de
Materiais do Centro Federal de Educação
Tecnológica de Minas Gerais como requisito
parcial para obtenção do título de Bacharel em
Engenharia de Materiais.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hermes de Souza Costa – Orientador

Prof^ª. Dr^ª. Aline Silva Magalhães

Prof^ª. Dr^ª. Mayra Aparecida Nascimento

AGRADECIMENTOS

A minha mãe, a minha irmã e a minha avó, por todo o apoio, cuidado e carinho, mesmo nos momentos mais difíceis, me incentivando a seguir meus sonhos.

Ao meu namorado, Rafael, que me sempre incentiva em todas as áreas da minha vida, sendo meu grande amigo e companheiro.

Ao meu orientador, o professor Hermes de Souza Costa, pela compreensão e por ter confiado em mim, me incentivando e compartilhando conhecimentos.

Ao Jorge Wanderson, por todo o suporte, disponibilidade e ajuda, assim como por todo o incentivo durante a execução do meu trabalho.

Aos amigos que fiz durante o curso, em especial, a Mariana e a Thaís, que foram grandes companheiras e tornaram tudo mais leve.

Agradeço a todos os professores que contribuíram com minha formação. Em especial para a professora Aline Bruna da Silva pelo apoio e confiança nos projetos que executamos durante a minha graduação e as professoras Aline Silva Magalhães e Mayra Aparecida Nascimento por estarem presente na banca e terem contribuído com minha formação acadêmica.

Por fim, agradeço ao CEFET-MG por todas as oportunidades ao longo da minha formação acadêmica.

RESUMO

Hidrogéis possuem grande potencial para aplicação na Engenharia de Tecidos, pois são materiais fáceis de moldar de acordo com a aplicação. A goma gelana é um polissacarídeo extraído da bactéria *Sphingomonas* (*Pseudomonas*) capaz de formar um hidrogel transparente, tendo como potencial aplicação curativos e *scaffolds* para crescimento celular. Dessa forma, a goma gelana é amplamente estudada para a produção de materiais para a área biomédica, farmacêutica e de cosméticos, devido a propriedades como biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixo custo, permitindo alta reprodutibilidade. Neste trabalho, foram produzidos hidrogéis de goma gelana por meio de uma solução polimérica de 1% (m/v) a temperatura de 90 °C. Os hidrogéis foram caracterizados por meio de análise morfológica qualitativa, FTIR, DSC, TGA, grau de intumescimento, taxa de degradação e comportamento mecânico de compressão. Os resultados mostraram que o hidrogel de goma gelana pode ser aplicado como curativo, uma vez que, apresentou transparência necessária para monitoramento de feridas. A análise estrutural apresentou espectros semelhantes para as amostras analisadas, contudo, o hidrogel de goma gelana que não passou pelo processo de secagem apresentou bandas relacionadas a reticulação da rede, semelhante as bandas apresentadas nos espectros de hidrogéis reticulados com cátions bivalentes. O hidrogel de goma gelana (HGG) apresentou maior estabilidade térmica que a goma gelana em pó (GG), devido a maior quantidade de água adsorvida permanecer até altas temperaturas. O efeito da imersão em água destilada e em PBS 0,1 M mostraram a estabilidade do hidrogel ao intumescimento e a degradação, não apresentando desestruturação após o final dos ensaios. Os resultados indicaram que o material produzido possui potencial estudo como curativos e *scaffolds* para Engenharia de Tecidos.

Palavras-chaves: Goma gelana, hidrogéis, *scaffolds*, Engenharia de Tecidos.

ABSTRACT

Hydrogels have great potential for application in Tissue Engineering, as they are materials that are easy to mold according to the application. Gellan gum is a polysaccharide extracted from the *Sphingomonas* (*Pseudomonas*) bacteria capable of forming a transparent hydrogel, with potential application in dressings and scaffolds for cell growth. Thus, gellan gum is widely studied for the production of materials for the biomedical, pharmaceutical and cosmetics areas, due to properties such as biocompatibility, biodegradability and low cost, allowing high reproducibility. In this work, gellan gum hydrogels were produced by a polymeric solution of 1% (w/v) at a temperature of 90 °C. The hydrogels were characterized by means of qualitative morphological analysis, FTIR, DSC, TGA, swelling degree, degradation rate and mechanical behavior of compression. The results showed that the gellan gum hydrogel can be applied as a dressing, as it presented the necessary transparency for monitoring wounds. The structural analysis showed similar spectra for the analyzed samples, however, the gellan gum hydrogel that did not go through the drying process showed bands related to network crosslinking, similar to the bands presented in the spectra of hydrogels crosslinked with divalent cations. The gellan gum (HGG) hydrogel showed greater thermal stability than the gellan gum (GG) powder, due to the greater amount of adsorbed water remaining at high temperatures. The effect of immersion in distilled water and 0,1 M PBS showed the stability of the hydrogel to swelling and degradation, not showing any disruption after the end of the tests. The results indicated that the material produced has potential for study as dressings and scaffolds for Tissue Engineering.

Keywords: Gellan gum, hydrogels, scaffolds, Tissue Engineering.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Diferentes matrizes da engenharia de tecidos	19
Figura 2 - Estrutura química da goma gelana (A1) nativa e (A2) desacetilada.....	22
Figura 3 - Processo de gelificação da goma gelana	24
Figura 4 - Fluxograma das etapas do desenvolvimento do trabalho	27
Figura 5 - Desenho esquemático da síntese dos hidrogéis de goma gelana	28
Figura 6 - Molde para ensaio confinado na máquina de compressão.....	31
Figura 7 - Aspecto dos hidrogéis de goma gelana	33
Figura 8 - Espectro FTIR das amostras de GG em pó, HGG seco e do HGG hidratado	34
Figura 9 - Termograma de DSC da goma gelana em pó e do hidrogel de goma gelana	36
Figura 10 - TGA da goma gelana em pó e do hidrogel de goma gelana	37
Figura 11 - Comportamento de intumescimento do hidrogel de goma gelana.....	39
Figura 12 - Comportamento de degradação do hidrogel de goma gelana	40
Figura 13 - Curva Tensão x Deformação obtida para o hidrogel de goma gelana	41
Figura 14 - Aspecto da amostra após o ensaio de compressão.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros do ensaio de compressão do hidrogel de goma gelana.....	32
Tabela 2 - Bandas de absorção e os grupos químicos referentes da goma gelana em pó.....	35
Tabela 3 - Dados de estabilidade térmica da goma gelana em pó e do hidrogel de goma gelana	37
Tabela 4 - Dados das propriedades mecânicas do hidrogel de goma gelana.....	41

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

CaCl₂ – Cloreto de Cálcio

CEFET-MG – Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais

DEMAT – Departamento de Engenharia de Materiais

DSC – Differential Scanning Calorimetry - Calorimetria Diferencial Exploratória

FDA – *Food and Drug Administration* - Administração de Drogas e Alimentos dos Estados Unidos

FTIR – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* - Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

GG – Goma Gelana

GI – Grau de Intumescimento

MEC – Matriz Extracelular

PBS – *Phosphate Buffered Saline* - Tampão-fosfato-salino

TD – Taxa de degradação

TGA – *Thermogravimetric Analysis* - Análise Termogravimétrica

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo principal.....	12
2.2 Objetivos específicos.....	12
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1 Engenharia de Tecidos	13
3.1.1 Scaffolds.....	14
<i>3.1.1.1 Propriedades da superfície.....</i>	<i>15</i>
<i>3.1.1.2 Porosidade.....</i>	<i>16</i>
<i>3.1.1.3 Perfil de degradação</i>	<i>17</i>
<i>3.1.1.4 Propriedades mecânicas.....</i>	<i>17</i>
3.1.2 Métodos de produção de scaffolds	18
<i>3.1.2.1 Eletrofiação</i>	<i>19</i>
<i>3.1.2.2 Evaporação do solvente</i>	<i>20</i>
<i>3.1.2.3 Congelamento-descongelamento.....</i>	<i>20</i>
3.3 Hidrogéis	20
3.3.1 Goma Gelana	21
3.3.2 Aplicações de hidrogéis de goma gelana.....	24
<i>3.3.2.1 Aplicações em tecidos muscoesqueléticos</i>	<i>25</i>
<i>3.3.2.2 Aplicações em tecidos neurais.....</i>	<i>25</i>
<i>3.3.2.3 Aplicações como scaffolds para liberação de fármacos</i>	<i>26</i>
4 MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1 Materiais.....	28
4.2 Métodos	28
4.2.1 Síntese dos hidrogéis de goma gelana	28

4.3 Caracterização da goma gelana e do hidrogel de goma gelana	29
4.3.1 Análise morfológica dos hidrogéis.....	29
4.3.2 Análise estrutural por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	29
4.3.3 Análise térmica por Análise Termogravimétrica (TGA) e por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	29
4.3.4 Análise do grau de intumescimento (GI).....	30
4.3.5 Análise da taxa de degradação (TD).....	30
4.3.6 Análise das propriedades mecânicas	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
5.1 Caracterização da goma gelana e do hidrogel de goma gelana.....	33
5.1.1 Análise morfológica dos hidrogéis.....	33
5.1.2 Análise estrutural por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	33
5.1.3 Análise térmica por Análise Termogravimétrica (TGA) e por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	36
5.1.4 Análise do grau de intumescimento (GI).....	38
5.1.5 Análise da taxa de degradação	39
5.1.6 Ensaio de compressão.....	41
6 CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS	44

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de biomateriais é o principal foco da Engenharia de Tecidos, que envolve as áreas da biologia celular, da medicina e da engenharia de biomateriais. Os biomateriais apresentam propriedades de interesse para substituição de tecidos e irão atuar restaurando, mantendo ou melhorando a função do tecido lesionado (GOONOO et al., 2013; JAFARI et al., 2017). Estes devem apresentar propriedades adequadas para cada aplicação, sendo que, as propriedades de superfície, porosidade, degradação e propriedades mecânicas são essenciais para que o material desempenhe a sua função. Dessa forma, estudos na área na Engenharia de Tecidos são importantes para que biomateriais que mimetizem a matriz extracelular (MEC) sejam desenvolvidos.

Os biomateriais para substituição de tecidos são chamados de *scaffolds* e podem apresentar matrizes de diferentes formas, como nanofibras, microesferas e hidrogéis (DHANDAYUTHAPANI et al., 2011). Hidrogéis produzidos a partir de polímeros de origem natural apresentam diversas propriedades de interesse, como biocompatibilidade e não são citotóxicos (ANDERSEN; AUK-EMBLEM; DORNISH, 2015; KACZMAREK; NADOLNA; OWCZAREK, 2019), sendo o alginato, o amido e a goma gelana materiais amplamente estudados na Engenharia de Tecidos (GANTAR et al., 2014) com ampla aplicação na indústria biomédica, farmacêutica e agrícola (ANDERSEN; AUK-EMBLEM; DORNISH, 2015; KACZMAREK; NADOLNA; OWCZAREK, 2019).

O presente trabalho foca na produção e caracterização de hidrogéis de goma gelana para potencial aplicação como *scaffolds* na Engenharia de Tecidos utilizando a gelificação da matéria prima em altas temperaturas, sem a utilização de reticulantes. Foram avaliadas as propriedades físico-químicas hidrogéis de goma gelana por meio das técnicas de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), as propriedades térmicas por Análise Termogravimétrica (TGA) e Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC), avaliação do grau de intumescimento e de degradação, e avaliação do comportamento mecânico empregando ensaio de compressão.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo principal

Produção e caracterização de hidrogéis de goma gelana (GG) para potencial aplicação como *scaffold* na Engenharia de Tecidos.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar os hidrogéis de GG por meio de análises das propriedades térmicas e estruturais, utilizando as técnicas de Análise Termogravimétrica (TGA), Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC), Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR);
- Avaliar o grau de intumescimento e de degradação dos hidrogéis de GG;
- Avaliar o comportamento mecânico dos hidrogéis de GG empregando ensaio de compressão.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Engenharia de Tecidos

A Engenharia de Tecidos é um campo interdisciplinar que aplica princípios da engenharia de biomateriais, da biologia celular e da medicina para o desenvolvimento de biomateriais que irão substituir tecidos vivos lesionados ou doentes, de forma que possam atuar restaurando, mantendo ou melhorando a função do tecido (GOONOO *et al.*, 2013; JAFARI *et al.*, 2017). Os biomateriais são projetados para não causarem respostas inflamatórias e promoverem suporte estrutural. Com a aplicação dos princípios da biologia celular, é possível a obtenção de materiais que irão atuar estimulando a regeneração, por meio da comunicação a nível celular com o corpo, promovendo suporte estrutural e diminuindo as respostas inflamatórias (PAWELEC; BEST; CAMERON, 2016). Dessa forma, para a restauração e substituição de tecidos lesionados ou doentes, a Engenharia de Tecidos atua desenvolvendo biomateriais como os *scaffolds*, que possuem como função mimetizar a MEC e promover a regeneração e produção de novos tecidos.

Os biomateriais podem ser produzidos a partir de quatro tipos de materiais: materiais metálicos, como titânio; materiais inorgânicos, como cerâmicas bioativas de hidroxiapatita; materiais orgânicos e materiais compósitos (ZHANG *et al.*, 2019). A escolha do material é realizada considerando a composição, a arquitetura, a microestrutura e a cristalinidade são pontos chaves para a aplicação na engenharia de tecidos, pois irão determinar o controle do ambiente local e a criação de um ambiente adequado para o crescimento celular, assim como a MEC (GOONOO *et al.*, 2013; SABREE; GOUGH; DERBY, 2015).

A MEC é composta de fibras, como colágeno e elastina; e uma matriz interfibrilar amplamente amorfa, constituída principalmente por proteoglicanos, glicoproteínas adesivas de ligação celular não colagenosas, solutos e água. É responsável por manter as células unidas, fornecendo suporte mecânico, e servir de local onde as células podem aderir, promover sinalização e interagir (RATNER, 2004). A engenharia de tecidos utiliza de diferentes métodos para a produção dos biomateriais, sendo eles: a implantação de células isoladas ou substitutos celulares no organismo, liberação de substâncias para induzir a estimulação dos tecidos e a colonização de células nas matrizes (CASCONE; LAMBERTI, 2020).

Na literatura são encontrados diversos estudos voltados para a produção de *scaffolds* que serão aplicados como substitutos buscando desempenhar a função da MEC, por exemplo, para engenharia de tecidos de cartilagens, tecido neural, válvulas cardíacas, entre outros.

Kim et al. (2021) produziram hidrogéis de goma gelana reforçado com fibras de seda para potencial aplicação na engenharia de tecidos de cartilagem. A goma gelana foi escolhida por apresentar a capacidade de absorção de água e semelhança com a cartilagem nativa. As análises mostraram que o material é adequado para aplicação como *scaffolds*, uma vez que apresentaram temperatura de gelificação adequada para encapsular células e outros biofatores, incremento no módulo de armazenamento e de compressão com a adição do reforço de fibra de seda, e biocompatibilidade de acordo com os estudos *in vitro*.

Aadil et al. (2019) estudaram a produção de *scaffolds* na forma de nanofibras de goma gelana e poli (álcool vinílico) (PVA) para aplicação na engenharia de tecidos. O material foi caracterizado quanto a capacidade de crescimento no volume da matriz e os resultados mostraram que a natureza favorável do material promoveu aumento no crescimento, na proliferação e na diferenciação das células, como por exemplo, para células neurais e cardíacas.

3.1.1 *Scaffolds*

Os *scaffolds* são biomateriais sólidos, porosos, tridimensionais e biocompatíveis, que atuam como estruturas suportes necessários para mimetizar o microambiente celular natural, auxiliando as células na produção dos tecidos, com as características desejadas, por meio da comunicação célula-matriz e célula-célula (GOONOO *et al.*, 2013). Isto é necessário, pois o crescimento, a diferenciação e a proliferação celular são processos programados para acontecer em microambientes com estruturas tridimensionais e com a presença de estímulos bioquímicos e biofísicos específicos, dirigidos pela bioquímica e pelas propriedades mecânicas da MEC (BOMKAMP *et al.*, 2022), que tem influência na organização celular, nas interações célula-célula e célula-matriz, exigindo especificidade, como bioreconhecimento, adesão física, comunicação elétrica e química, reorganização do citoesqueleto e/ou migração celular (RATNER, 2004).

Os *scaffolds* produzidos a partir de materiais poliméricos são os mais utilizados na Engenharia de Tecidos, pois apresentam propriedades de interesse, como elevada área superficial; alta porosidade, com tamanho de poros pequenos; biodegradação e propriedades

mecânicas, como compressão (DHANDAYUTHAPANI *et al.*, 2011). Polímeros naturais como proteínas e polissacarídeos são amplamente estudados na Engenharia de Tecidos, pois apresentam ampla disponibilidade, biocompatibilidade, elasticidade e biodegradabilidade (GANTAR *et al.*, 2014).

A norma internacional ISO 10993 (Avaliação Biológica de Dispositivos Médicos) determina que todos os materiais utilizados em humanos sejam submetidos a testes de biocompatibilidade *in vitro* e *in vivo* para verificar a resposta e o comportamento das células que interagem com eles. Dessa forma, os *scaffolds* devem ser projetados para não apresentarem nenhuma resposta local ou sistêmica indesejável, para diminuir o risco de rejeição ou falha do componente implantado (GOONOO *et al.*, 2013). Os *scaffolds* poliméricos podem ser produzidos por diferentes processos, logo, apresentam diferentes características, sendo algumas destas fundamentais para garantir que desempenhem a função desejada.

3.1.1.1 Propriedades da superfície

As propriedades físico-químicas da superfície do material, como química da superfície, área superficial, topografia e carga superficial são importantes para a biocompatibilidade do material (BOYAN *et al.*, 1996; MITCHELL; DAVIDSON; BRADLEY, 2005). A superfície do material é o local inicial de interação do material com as células e tecidos, logo, as propriedades de superfície irão influenciar nos eventos celulares iniciais (BOYAN *et al.*, 1996; DHANDAYUTHAPANI *et al.*, 2011).

A química da superfície influencia na interface célula-material, pois as células realizam ligações específicas com grupos funcionais na superfície dos biomateriais (RAVINDRAN GIRIJA *et al.*, 2020). Elevadas áreas superficiais também são desejadas, pois permitem que grande quantidade de células seja acomodada. Como grande parte das células é dependente da ancoragem na superfície, uma maior área superficial favorece a adesão (DHANDAYUTHAPANI *et al.*, 2011). A adesão celular à matriz é necessária para a sobrevivência de muitos tipos celulares. Dessa forma, é essencial que os *scaffolds* apresentem propriedades que favoreçam a adesão (MUNARIN *et al.*, 2011). Os mioblastos, por exemplo, como a maioria das células mesenquimais, são dependentes do contato com a superfície, ou seja, o crescimento celular só é observado quando essas células estão ligadas a superfície (POST; HOCQUETTE, 2017).

He et al. (2005b) estudaram a produção de nanofibras poliméricas eletrofiadas de poli (L-ácido láctico)-co-poli(ϵ -caprolactona) com colágeno, para mimetizar a MEC, considerando tanto o diâmetro das fibras eletrofiadas, quanto os componentes constituintes. Células endoteliais da artéria coronária humana (HCAECs) foram semeadas nas nanofibras. As análises mostraram que as nanofibras poliméricas com colágeno apresentaram aumento da adesão e da disseminação de HCAEC em meio de cultura sem soro e fatores de crescimento, evidenciando o efeito do colágeno no crescimento das células (HE *et al.*, 2005). Dessa forma, tanto a área superficial das nanofibras, quanto a presença do colágeno favoreceram o aumento da adesão.

A carga superficial também é uma propriedade importante. Alguns polímeros como poliestireno e polietileno, apresentam baixa carga superficial, sendo apolares em suas formas nativas. Isso limita a capacidade de auxiliar a adesão e o crescimento celular (MITCHELL; DAVIDSON; BRADLEY, 2005). Outra propriedade é a topografia da superfície, que pode afetar a resposta celular. Fibroblastos, por exemplo, são células que apresentam maior adesão celular em superfícies mais lisas, enquanto células semelhantes a osteoblastos apresentam maior adesão em superfícies mais ásperas, e células epiteliais apenas em superfícies lisas (BOYAN *et al.*, 1996).

Lin et al. (2013) investigaram a produção de *scaffolds* de quitosana e pectina por meio da técnica de eletrofiação. A pectina foi utilizada com o objetivo de melhorar as propriedades mecânicas da quitosana, promovendo aumento de 21% no módulo de Young, de 162% na tensão de ruptura e resistência à tração 104% maior que os *scaffolds* de quitosana pura. Além disso, foi capaz de manter morfologia fibrosa em solução salina por mais de duas semanas, fornecendo um substrato com propriedades texturais ideais para o crescimento de fibroblastos durante a cicatrização de feridas (LIN *et al.*, 2013).

3.1.1.2 Porosidade

A porosidade também é uma propriedade desejável em *scaffolds*. Está diretamente ligada a área superficial, uma vez que, estruturas altamente porosas que apresentam geometria aberta, com poros interconectados e com tamanho adequado, apresentam maior área superficial. Isso permite que ocorra maior difusão de oxigênio e nutrientes, facilitando o crescimento celular, a distribuição celular uniforme e favorecendo a neovascularização (DHANDAYUTHAPANI *et al.*, 2011; REISS; ROBERTSON; SUZUKI, 2021).

O biomaterial pode ser projetado para apresentar certa porosidade, assim como a porosidade pode ser criada no ambiente biológico, devido a degradação e dissolução do material (MARRELLA *et al.*, 2017). Contudo, para a utilização de *scaffolds* porosos, é necessário que a estrutura apresente propriedades mecânicas semelhantes ao tecido que será substituído, de forma que o material atenda a integridade estrutural necessária ao ser implantado (SABREE; GOUGH; DERBY, 2015).

Sangsen et al. (2012) produziram estruturas de colágeno-pectina compostas de colágeno derivado da pele de tubarões-bambu (*Chiloscyllium punctatum*) e pectina cítrica para potencial aplicação na Engenharia de Tecidos. O material produzido apresentou morfologia de superfície porosa com poros interligados, sendo adequados para penetração e proliferação celular; biocompatibilidade *in vitro* para células de mioblastos C2C12; e uma propriedade altamente elástica, que pode ser útil para aplicações em Engenharia de Tecidos (SANGSEN; BENJAKUL; OUNGBHO, 2011).

3.1.1.3 Perfil de degradação

O perfil de degradação do material está relacionado a estrutura química, a hidrofilicidade/hidrofobicidade, a estrutura cristalina ou amorfa, a temperatura de transição vítrea (T_g), ao peso molecular, entre outros (DHANDAYUTHAPANI *et al.*, 2011). O perfil de degradação também está relacionado a porosidade, pois o aumento da porosidade está diretamente relacionado ao aumento da área superficial. Materiais com maior área superficial promovem maior contato do material com o tecido. A taxa de degradação deve ser simultânea com o crescimento do novo tecido, de forma que, o tecido que está se formando substitua o material que está sendo degradado, caso contrário, isto pode comprometer a estabilidade mecânica e estrutural do biomaterial antes que ocorra a substituição do tecido lesionado (GOONOO *et al.*, 2013).

3.1.1.4 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas indicam como o material irá responder às forças físicas, quando submetido a um estado de tensão, sendo importantes para garantir a biocompatibilidade estrutural. Esta se refere as propriedades mecânicas do material implantado, como o módulo de

elasticidade ou de Young, rigidez e transmissão de carga adequada na interface (CAPURRO; BARBERIS, 2014; RAMAKRISHNA *et al.*, 2001).

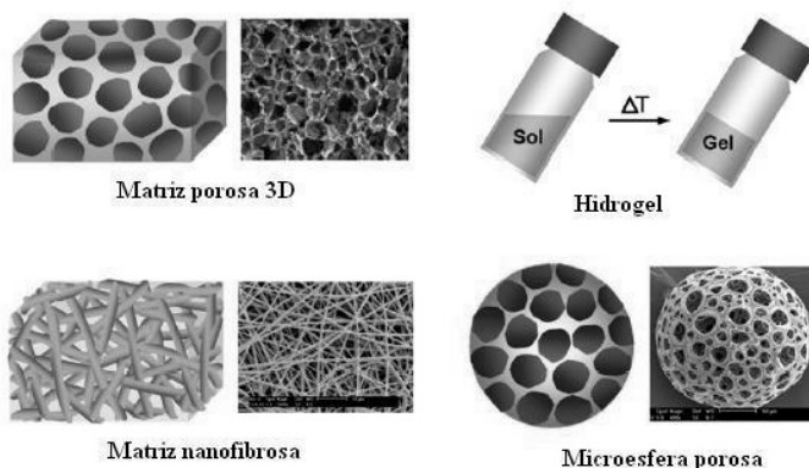
Os *scaffolds* poliméricos tem suas propriedades mecânicas ligadas ao seu peso molecular e a sua cristalinidade e, além disso, podem afetar a taxa e o mecanismo de degradação (GOONOO *et al.*, 2013). As diferenças nas ligações químicas e nas interações intermoleculares também irão definir a diferença entre as propriedades mecânicas de materiais metálicos, cerâmicos e poliméricos. Os materiais poliméricos apresentam fortes ligações covalentes entre os átomos de uma molécula, contudo, as ligações de van der Waals e de hidrogênio entre as moléculas são fracas, o que faz com que estes materiais apresentem menores módulos de elasticidade (WANG *et al.*, 2020). Polissacarídeos, geralmente, apresentam baixa resistência e rigidez, o que limita o seu uso para tecidos moles (DHANDAYUTHAPANI *et al.*, 2011). Contudo, a produção de *scaffolds* híbridos, modificações, processamento, entre outros parâmetros, podem melhorar as propriedades do material e ampliar a possibilidade de aplicações desses biomateriais.

Kim *et al.* (2017) investigaram as propriedades mecânicas de um material híbrido tubular formado por nanofibras eletrofiadas de fibroína de seda, microfibras de policaprolactona (PCL) e hidrogel de alginato. Os hidrogéis, apesar de apresentarem o microambiente semelhante ao da MEC, não conseguem manter a sua forma quando aplicados *in vivo*, sendo necessário a construção de um material híbrido, para manter a funcionalidade celular. A fibroína de seda e o PCL atuam como reforço estrutural do biomaterial, mimetizando a arquitetura da MEC. Dessa forma, o híbrido se mostra flexível, apresentando as propriedades mecânicas necessárias para aplicação na regeneração de tecidos (KIM *et al.*, 2017).

3.1.2 Métodos de produção de *scaffolds*

Os *scaffolds* podem apresentar matrizes de diferentes formas, como por exemplo, na forma de nanofibras, espumas, de microesferas e de hidrogéis (DHANDAYUTHAPANI *et al.*, 2011), que podem ser produzidos por diferentes técnicas. A Figura 1 apresenta *scaffolds* de diferentes matrizes.

Figura 1 - Diferentes matrizes da engenharia de tecidos.



Fonte: CORRÊA, 2018.

3.1.2.1 Eletrofiação

A técnica de eletrofiação ou *electrospinning* permite a produção de *scaffolds* na forma de nanofibras, sendo a técnica mais simples e mais barata para a fabricação de fibras contínuas de dimensões que vão desde valores micrométricos a manométricos. São materiais que apresentam elevada área superficial específica e alta proporção de fibra (GUIBO *et al.*, 2013; SHEPA; MUDRA; DUSZA, 2021). O processo consiste na aplicação de uma tensão na solução polimérica, que se torna eletricamente carregada e, com a formação do campo elétrico, as nanofibras são formadas. Isso ocorre, pois, quando a força de repulsão eletrostática supera a tensão superficial da solução e ocorre a evaporação do solvente, há uma redução da mobilidade das cadeias poliméricas, que se solidificam na forma das nanofibras (BADMUS *et al.*, 2021; SHNEIDER *et al.*, 2021).

A eletrofiação é uma técnica que permite o controle dos parâmetros do processo, para a obtenção de nanofibras com as propriedades desejadas, sejam elas mecânicas, elétricas, ópticas, biomédicas, entre outras (BADMUS *et al.*, 2021; DE ÁVILA; ÁVILA; TRIPLETT, 2013; SHEPA; MUDRA; DUSZA, 2021; ZERAATI *et al.*, 2021). A partir do controle dos parâmetros do processo, nanofibras com diferentes propriedades são obtidas, sendo eles parâmetros relacionados a solução polimérica, como o peso molecular do polímero, a viscosidade, a tensão superficial e a condutividade elétrica da solução; parâmetros relacionados ao equipamento são a tensão aplicada para a geração do campo elétrico, a distância de trabalho e a velocidade de rotação do coletor; e os parâmetros ambientais, relacionados a temperatura e umidade. Dessa

forma, a reprodutibilidade de nanofibras com as mesmas propriedades é o principal desafio dessa técnica (COSTA *et al.*, 2012; DE ÁVILA; ÁVILA; TRIPLETT, 2013; MELE, 2020)

3.1.2.2 *Evaporação do solvente*

A técnica de evaporação do solvente permite a produção de *scaffolds* na forma de hidrogéis, filmes, espumas e micropartículas. Consiste na solubilização do polímero pelo solvente indicado, seguido do vazamento em moldes, com a remoção do solvente por meio da secagem ou liofilização, obtendo-se uma estrutura porosa (CORRÊA, 2018). No caso de micropartículas, a evaporação da fase orgânica volátil da emulsão baseada em óleo/água resulta na solidificação de partículas insolúveis em água. Agentes terapêuticos podem ser incorporados as matrizes poliméricas para a produção de *scaffolds* com liberação controlada de fármacos (URBANIAK; MUSIAŁ, 2019).

3.1.2.3 *Congelamento-descongelo*

A técnica de congelamento-descongelo é utilizada para a produção de hidrogéis, de forma que, durante o congelamento-descongelo de uma solução polimérica aquosa, a água congela causando separação de fases que leva à formação de microcristais. Os ciclos de congelamento e descongelamento facilitam o reforço dos cristais existentes dentro da estrutura e oferecem maior cristalinidade, uma vez que, a reação irá acontecer de forma mais lenta, permitindo que a estrutura cristalina se forme mais lentamente (GUPTA *et al.*, 2019).

3.3 Hidrogéis

Hidrogéis são materiais que apresentam redes poliméricas tridimensionais com capacidade de reter grande quantidade de água em sua estrutura, sendo materiais fáceis de moldar de acordo com a aplicação (HU *et al.*, 2022; KACZMAREK; NADOLNA; OWCZAREK, 2019). Podem ser classificados em categorias, como os hidrogéis provenientes de materiais naturais, como as proteínas, incluindo colágeno, fibrina e sericina, e os polissacarídeos, incluindo alginato, quitosana, celulose, amido e hialuronano; também dos semissintéticos, que são à base de polímeros naturais que sofreram modificação química, como o alginato, gelatina e dextrano; e dos sintéticos, como poli (etileno glicol) (PEG), poli (álcool

vinílico) (PVA), poli (N-vinil pirrolidona) (PVP) e poli (ácido acrílico) (PAA), e seus copolímeros (STANCU; LUNGU; IOVU, 2014).

Hidrogéis de origem natural, como alginato, quitosana, goma gelana e amido de milho são materiais de grande interesse, pois apresentam biocompatibilidade, não são citotóxicos e possuem condições adequadas de geleificação (ANDERSEN; AUK-EMBLEM; DORNISH, 2015). Os grupos hidrofílicos como -OH e -COOH presentes na estrutura desses polissacarídeos, assim como a facilidade de reticulação por diferentes processos químicos e físicos, faz com que esses polímeros de origem natural sejam amplamente utilizados para a produção de hidrogéis, com ampla aplicação na indústria biomédica, farmacêutica e agrícola (KACZMAREK; NADOLNA; OWCZAREK, 2019).

Os hidrogéis são amplamente aplicados na medicina regenerativa, como *scaffolds* para organização celular; bioadesivos; matriz com composto ativo para estimular a reparação ou para encapsulamento e liberação de células; entre outras (CASCONI; LAMBERTI, 2020). Os hidrogéis também podem aprisionar medicamentos ou outros materiais de interesse nos espaços entre as cadeias de polímeros, por dispersão ou dissolução, protegendo o composto ativo de condições indesejáveis do ambiente no qual será aplicado e permitindo a liberação no local desejado (OLIVEIRA CARDOSO *et al.*, 2017).

Os hidrogéis apresentam estruturas porosas, com poros entre 20 e 500 μm , dependendo do tipo de polímero, concentração de polímero e do processamento. Contudo, muitas vezes apresentam baixa resistência mecânica, o que dificulta o manuseio e aumenta o desgaste (MARTIN *et al.*, 2022). Apesar da adição de cátions bivalentes como o cálcio e magnésio, por exemplo, ser uma forma de produzir hidrogéis com propriedades mecânicas melhoradas, na presença de cátions bivalentes, a GG, por exemplo, pode formar ligações iônicas que deixam o hidrogel muito duro, porém, quebradiço (WANG; WEN; BAI, 2016), como também apresentam baixa estabilidade em condições fisiológicas, devido a substituição dos cátions divalentes por monovalentes *in vivo* (SEO *et al.*, 2023). A produção de hidrogéis com a utilização de reticulantes podem retardar a degradabilidade do material, como também serem citotóxicos (DE OLIVEIRA *et al.*, 2020).

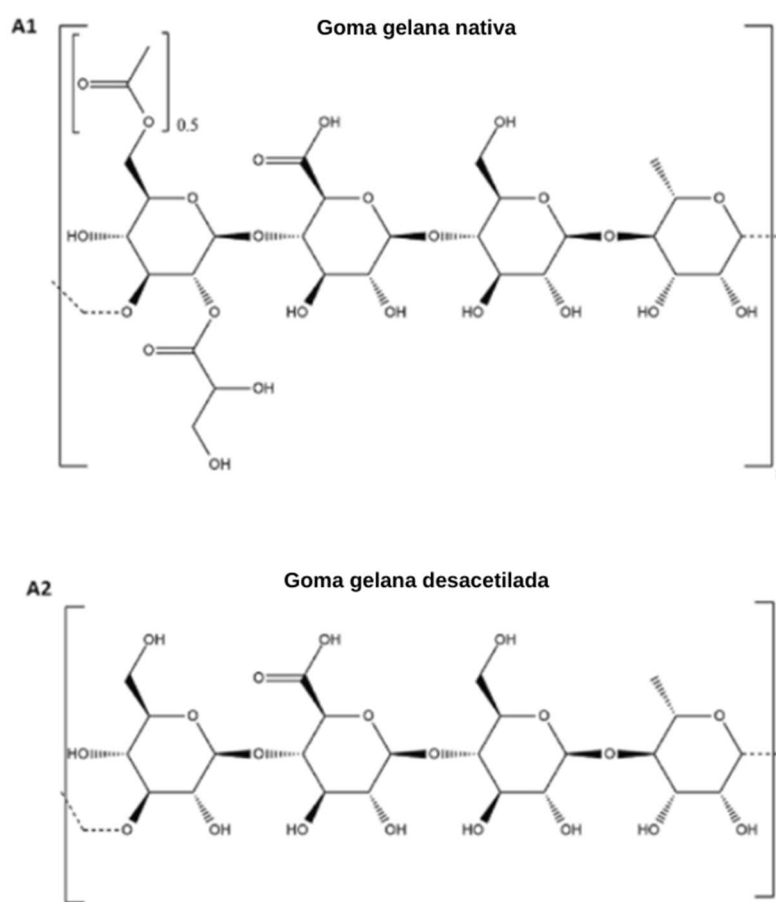
3.3.1 Goma Gelana

A goma gelana (GG) é um polímero natural obtido por meio do processo de fermentação a partir de bactérias do gênero *Sphingomonas* (*Pseudomonas*) (AADIL *et al.*, 2019;

SAHRARO; BARIKANI; DAEMI, 2018). A GG foi aprovada pelo *Food and Drug Administration* (FDA) em 1992 como aditivo alimentar e, com isso, começou a ser amplamente estudada para a produção de materiais voltados para a área biomédica, farmacêutica e de cosméticos, devido a sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixo custo (CASSANELLI; NORTON; MILLS, 2018; GOMES *et al.*, 2023). Os géis de GG apresentam a transparência como propriedade de interesse para a realização de análises microscópicas de células e tecidos (CORRÊA, 2018). Apresenta estabilidade em uma ampla faixa de pH, que pode ser de 3,5 a 8,0. Contudo, ambientes mais ácidos ou alcalinos podem provocar redução do crescimento celular, sendo o valor ótimo para a produção entre 6,5 a 7,0 (LAIA, 2015).

Quimicamente, a GG é um tetrassacarídeo composto por dois resíduos de 1-ramnose, ácido d-glucurônico e D-glicose como unidades repetidas (SEO *et al.*, 2023), na proporção de 1:1:2 (DE OLIVEIRA *et al.*, 2020). A Figura 2 apresenta a estrutura química dos dois tipos de goma gelana.

Figura 2 - Estrutura química da goma gelana (A1) nativa e (A2) desacetilada.



Fonte: Adaptado de GOMES *et al.*, 2023.

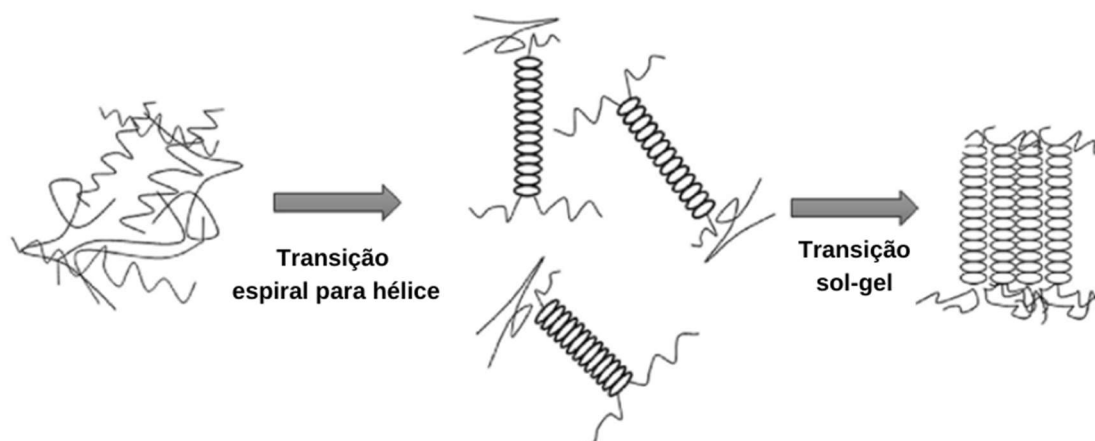
Existem dois tipos de GG, a nativa (Figura 2-A1) e a desacetilada (Figura 2-A2), sendo a primeira conhecida como GG de alta acila, na qual, há em média um gliceril por unidade repetitiva e um acetil para cada duas unidades repetitiva; e a segunda conhecida como GG de baixa acila, obtida por meio de tratamento alcalino da GG nativa (GOMES *et al.*, 2023; PATIL *et al.*, 2010). A configuração molecular da GG afeta a estrutura tridimensional do gel e, com isso, as suas propriedades (CASSANELLI; NORTON; MILLS, 2018). Os grupos hidroxila formados durante a desacetilação e o grupo carboxila livre na subunidade do ácido glucurônico podem ser modificados para melhorar as propriedades físico-químicas e biológicas (RAQUEL MAIA *et al.*, 2018).

A substituição das acilas afetam a reologia da GG, sendo que, os géis, antes termorreversíveis, macios e elásticos, passam a ser mais rígidos, quebradiços e apresentam uma maior estabilidade térmica, pois a ausência dos grupos acetil e gliceril permitem uma maior interação entre as cadeias poliméricas, formando estruturas mais compactas com a conformação de dupla hélice (BAJAJ *et al.*, 2007).

Os hidrogéis de GG apresentam como vantagem frente a outros polímeros naturais a facilidade de processamento em água e a alta reprodutibilidade de lote para lote, assim como a possibilidade de ajustar o seu grau de reticulação, as suas propriedades mecânicas e o seu processo de gelificação por rota física (GANTAR *et al.*, 2014; SAHRARO; BARIKANI; DAEMI, 2018).

A gelificação da GG (Figura 3) ocorre por meio de processos físicos, baseados em aquecimento. Isto é, inicialmente ocorre o aumento da temperatura e o polímero adquire a conformação de um estado desordenado de espiral simples. Com o resfriamento da solução de GG para a temperatura ambiente ocorre a alteração da conformação, formando uma dupla hélice que é estabilizada por ligações internas de hidrogênio (BANERJEE; BHATTACHARYA, 2012). Com a agregação dos elementos da dupla hélice é formada uma rede tridimensional (3D), organizada, que favorece o aumento da cristalinidade do material (COUTINHO *et al.*, 2010). A gelificação da goma gelana pode ocorrer em torno de 39°C, de forma rápida, devido a baixa viscosidade da GG na faixa de temperatura de 42°C (SILVA-CORREIA; OLIVEIRA; REIS, 2016).

Figura 3 - Processo de gelificação da goma gelana.



Fonte: Adaptado de GOMES et al. 2023.

A obtenção dos hidrogéis de goma gelana por meio de reticulação química tem sido alvo de estudos recentes. Contudo, a maioria dos hidrogéis de GG são produzidos por meio do estudo dos diferentes tipos de concentração, grau de acilação e da adição de íons gelificantes, como cátions monos ou bivalentes (SILVA-CORREIA; OLIVEIRA; REIS, 2016). Dependendo da aplicação, é possível a produção de hidrogéis esponjosos pela técnica de liofilização, seguido de reidratação do material (GANTAR *et al.*, 2014).

Um dos métodos mais utilizados para a produção de hidrogéis de goma gelana é a fundição seguida de liofilização. O método funciona da seguinte forma: uma solução de goma gelana é colocada em moldes, um gel sólido é formado ao reagir com cátions bivalentes ou devido a diminuição da temperatura de processamento e secagem. Em seguida, o material é congelado, seguido pela liofilização (RAQUEL MAIA *et al.*, 2018).

Os métodos de secagem também influenciam na estrutura do *scaffolds*, sendo que, os secos em estufa podem apresentar rachaduras na superfície, os secos a vácuo superfícies mais lisas e os liofilizados, estrutura mais solta. Dessa forma, o método de secagem também apresenta influência na taxa de intumescimento e, com isso, na taxa de liberação de proteínas (RAQUEL MAIA *et al.*, 2018).

3.3.2 Aplicações de hidrogéis de goma gelana

A goma gelana é um polímero natural que possui propriedades gelificantes e baixas concentrações, em torno de 1% (m/v) são suficientes para a produção de materiais (SILVA-

CORREIA; OLIVEIRA; REIS, 2016), o que permite a sua aplicação como *scaffolds* em tecidos muscoesqueléticos, neurais, oculares, entre outros.

3.3.2.1 Aplicações em tecidos muscoesqueléticos

Hidrogéis podem ser injetados na área do transplante, assumir a forma do defeito e estar na forma de gel à temperatura corporal. A GG, por exemplo, é um biomaterial atrativo para aplicações de engenharia de tecidos musculoesqueléticos (LEE *et al.*, 2011). Devido a presença de ácido glucurônico em sua estrutura, a GG apresenta similaridade estrutural com os glicosaminoglicanos nativos da cartilagem articular (TRUCCO *et al.*, 2022), sendo o reparo de cartilagem o principal alvo de estudos de hidrogéis de GG (OLIVEIRA *et al.*, 2010; STEVENS *et al.*, 2016).

Oliveira et al. (2010) estudaram a produção de hidrogéis de GG com células autólogas para regenerar defeitos na cartilagem articular do joelho. Os hidrogéis com fatores de crescimento e condrócitos articulares ou células-tronco adiposas incorporados apresentaram maior semelhança com cartilagem nativa e integração do *scaffold* com o local do defeito. Após 8 semanas, os ensaios *in vivo* realizados em coelhos evidenciaram que ocorreu o reparo da cartilagem local, o que coloca os hidrogéis de GG com células autólogas incorporadas como biomateriais promissores para reparo de defeitos da cartilagem articular.

Gantar et al. (2014) produziram hidrogéis de GG reforçados com vidro bioativo. As análises mostraram que as células-tronco derivadas do tecido adiposo humano aderiram, proliferaram e permaneceram viáveis dentro da estrutura do hidrogel de GG, evidenciando que o biomaterial pode ser utilizado para aplicações na regeneração do tecido ósseo.

3.3.2.2 Aplicações em tecidos neurais

O uso de *scaffolds* poliméricos de origem natural fornecem ambientes adequados para o cultivo celular voltado para a regeneração de tecidos neurais. O transplante de células-tronco quando ocorre lesão da medula espinhal pode ser melhorado com a incorporação das células-tronco em matrizes naturais. A GG modificada com peptídeos da matriz extracelular (GRGDS) foi estudada para aumentar a adesão celular e aumentar a sobrevivência das células, sendo que o hidrogel de GG atuou na liberação e proteção das células durante o transplante (DAS; GIRI, 2020; SILVA *et al.*, 2013).

3.3.2.3 Aplicações como scaffolds para liberação de fármacos

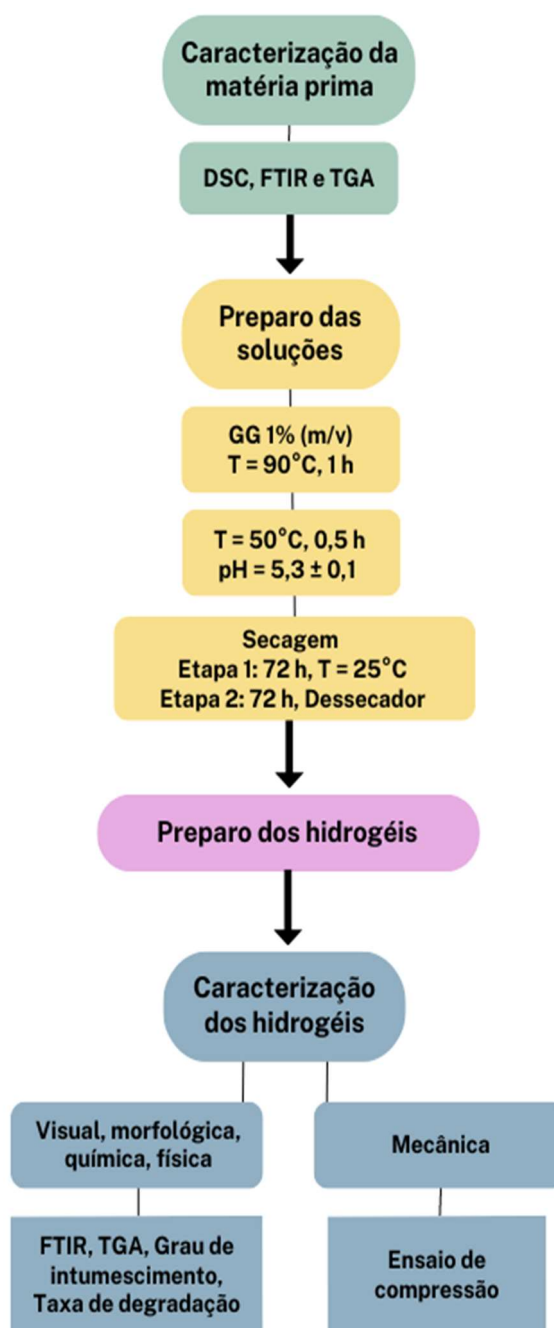
A alta transparência e possibilidade de administração reprodutível dos hidrogéis de GG permite a sua aplicação em tecidos oculares. Podem ser utilizados como carregadores de fármacos e/ou células ou serem modificados com reticulantes para alcançar as propriedades mecânicas adequadas (SEO *et al.*, 2023).

Seo et al. (2023) produziram hidrogéis de GG modificados com metacrilato e com o tratamento de fotorreticulação, para carregamento de células para tecidos da córnea. Como é um tecido transparente localizado na parte mais externa do olho, é essencial para a transmissão de luz, sendo o valor de transmissão ideal para uma córnea humana de 78 a 80%. Os hidrogéis modificados com metacrilato, apresentaram transmitância de $80,2 \pm 0,5$, enquanto os hidrogéis modificados com metacrilatos e fotorreticulados apresentaram baixa transmitância, $71,80 \pm 0,14$. Quanto ao carregamento celular, o hidrogel que passou pelo processo de fotorreticulação apresentou resistência a compressão semelhante à da córnea humana, fornecendo condições adequadas para o crescimento das células endoteliais, pois uma maior quantidade de células vivas foi observada.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são apresentados os materiais e a metodologia que foram utilizados para obtenção e caracterização da goma gelana em pó (GG) e dos hidrogéis de goma gelana (HGG). A Figura 4 apresenta as etapas do desenvolvimento do trabalho.

Figura 4 - Fluxograma das etapas do desenvolvimento do trabalho.



Fonte: Próprio autor.

4.1 Materiais

Os materiais utilizados para a síntese dos hidrogéis foram: goma gelana em pó de baixa acila da Sigma-Aldrich® (Gelzan™ CM, $F_w = 1.000.000$); ácido acético glacial na concentração de 1% (v/v) (CH_3COOH) da Synth®; resina acrílica e líquido polimerizante.

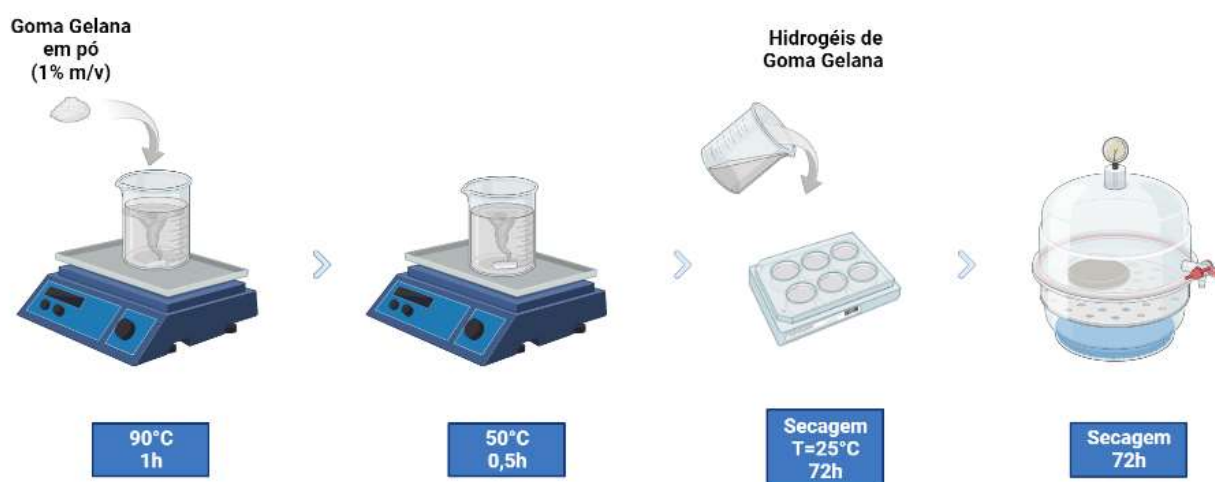
4.2 Métodos

4.2.1 Síntese dos hidrogéis de goma gelana

As soluções poliméricas de 1% (m/v) de goma gelana foram produzidas a partir da solubilização em água destilada, sob agitação magnética por 1h a temperatura de 90°C , até completa solubilização do material. Em seguida, abaixou-se a temperatura para 50°C por 30 minutos (KHANG *et al.*, 2015; SEO *et al.*, 2023). Para a correção do pH da solução à $5,3 \pm 0,1$ após a solubilização foram adicionadas gotas de ácido acético na concentração de 1% (v/v) e mantido sob a mesma agitação por 30 minutos (CORRÊA, 2018; LAIA, 2015).

As soluções foram vertidas em placa para cultura celular de 6 poços, com poços de 3,5 cm de diâmetro e secas em temperatura ambiente por 72 h. Em seguida, foram retiradas da placa e permaneceram mais 72 h no dessecador, permitindo que uma maior área superficial estivesse em contato com o ambiente, favorecendo a secagem. A síntese é apresentada na Figura 5.

Figura 5 - Desenho esquemático da síntese dos hidrogéis de goma gelana.



Fonte: Próprio autor.

4.3 Caracterização da goma gelana e do hidrogel de goma gelana

4.3.1 Análise morfológica dos hidrogéis

A análise morfológica dos hidrogéis foi realizada qualitativamente quanto ao aspecto de homogeneidade a olho nu e registrado por meio de fotografias, avaliando a presença de descontinuidades, a transparência e a estruturação dos hidrogéis.

4.3.2 Análise estrutural por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A análise Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) foi utilizada para analisar os grupos funcionais presentes na goma gelana e no hidrogel de goma gelana. Os espectros foram obtidos na faixa de comprimento de onda entre $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ com resolução de 4 cm^{-1} e 128 varreduras. Para a caracterização, a amostra HGG seco foi seca em estufa a 40°C por 4 h, seguida de armazenamento em dessecador por 24 h, enquanto a amostra HGG hidratada foi utilizada hidratada para avaliar a influência da presença de água na estrutura.

4.3.3 Análise térmica por Análise Termogravimétrica (TGA) e por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As análises térmicas foram realizadas por Análise Termogravimétrica (TGA) e por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), para verificar a estabilidade térmica da goma gelana e do hidrogel de goma gelana. A Análise Termogravimétrica foi realizada em atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, com taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, utilizando faixa de temperatura entre 25°C e 900°C , com massa de aproximadamente 6,82 mg para GG e de 9,67 mg para HGG. Para a caracterização, os hidrogéis foram secos em estufa a 40°C por 4 h. Em seguida, foram armazenadas em dessecador por 24 h.

A Calorimetria Exploratória Diferencial foi realizada sob atmosfera de oxigênio com vazão de $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, com massa de 6,38 mg de goma gelana em pó em suporte de alumínio, no intervalo de temperatura de 30 a 400°C .

4.3.4 Análise do grau de intumescimento (GI)

A análise do grau de intumescimento (GI) foi realizada para avaliar a densidade de reticulação dos hidrogéis de goma gelana por meio da capacidade de absorção de água do hidrogel para diferentes tempos de imersão em água destilada. As amostras em triplicata foram secas em estufa a 40 °C até estabilização do peso e pesadas em balança analítica. Em seguida, foram imersas em água destilada por 0,5 h, 1 h, 1,5 h e 2 h. Após a imersão, as amostras foram retiradas e pesadas novamente. O ensaio foi realizado em temperatura ambiente (CORRÊA, 2018; COSTA JÚNIOR, 2008).

O intumescimento dos hidrogéis foi calculado em função da massa total inicial da amostra (Equação 1), onde m_i é a massa inicial da amostra e m_f é a massa após o tempo final de imersão.

$$GI = \frac{m_F - m_I}{m_I} \times 100 \quad (\text{Eq.1})$$

4.3.5 Análise da taxa de degradação (TD)

A análise da taxa de degradação foi realizada para avaliar a degradação do hidrogel para diferentes tempos de imersão em Tampão-fosfato-salino (PBS). As amostras em triplicata foram secas em estufa a 40 °C até estabilização do peso e pesadas em balança analítica. Em seguida, foram imersas em PBS 0,1 M por 7 dias, sendo pesadas nos intervalos de 1, 3, 5 e 7 dias. O ensaio foi realizado em temperatura ambiente (COSTA JÚNIOR, 2008).

A taxa de degradação dos hidrogéis foi calculada em função da massa total inicial da amostra (Equação 2), onde m_{si} é a massa seca inicial e m_{sf} é a massa após pesagem final.

$$TD = \frac{m_{si} - m_{sf}}{m_{sf}} \times 100 \quad (\text{Eq.2})$$

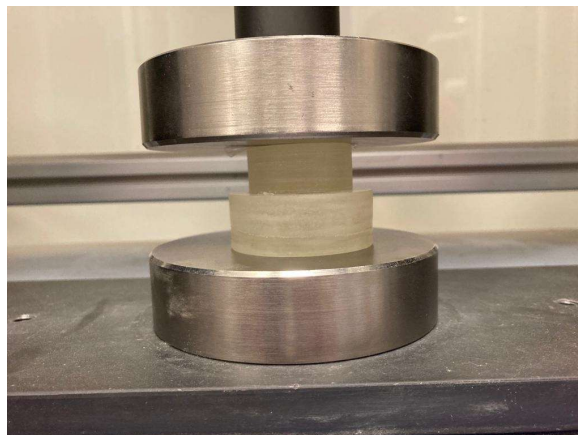
4.3.6 Análise das propriedades mecânicas

A análise das propriedades mecânicas foi realizada por meio do ensaio de compressão confinado, para a determinação da deformação e da tensão de ruptura. Os hidrogéis foram

hidratados para o ensaio, pois o comportamento mecânico deve ser testado conforme a aplicação do material (CORRÊA, 2018). Ensaio confinados são indicados para materiais que serão aplicados em locais onde a resistência do fluido deve ser considerada (TORMOS e MADIHALLY, 2017). Para manter a estrutura durante o ensaio, os hidrogéis foram imersos em solução de CaCl_2 de 2% (m/v), em torno de 2 minutos, de forma que a reticulação ocorresse apenas na superfície e a amostra adquirisse o formato do molde.

Os moldes foram produzidos por meio de embutimento, com resina acrílica e líquido polimerizante, e foram faceados e torneados para obtenção dos diâmetros adequados, conforme apresentado na Figura 6. O ensaio foi realizado de maneira confinada em molde de formato cilíndrico de 3,5 cm de diâmetro. A resistência mecânica da resina acrílica não foi considerada durante o ensaio.

Figura 6 - Molde para ensaio confinado na máquina de compressão.



Fonte: Próprio autor.

A velocidade de ensaio foi determinada considerando o comprimento útil da amostra, conforme apresentado na Equação 3, sendo a taxa de deformação utilizada igual a $0,001 \text{ s}^{-1}$ (CHANDRAN E BAROCAS, 2004).

$$v = \varepsilon \times l_{\text{útil}} \times 60 \quad (\text{Eq.3})$$

onde: v - velocidade do ensaio [mm/min]; $l_{\text{útil}}$ - comprimento útil da amostra [mm]; ε - taxa de deformação [s^{-1}].

A área foi calculada segundo a Equação 4:

$$A = \frac{\pi \times d^2}{4} \quad (\text{Eq.4})$$

onde: d - diâmetro [mm²].

Os parâmetros do ensaio são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Parâmetros do ensaio de compressão do hidrogel de goma gelana.

Amostra	Comprimento útil (mm)	Diâmetro (mm)	Área Inicial (mm²)	Velocidade do ensaio (mm/min)
Hidrogel de Goma Gelana	10,7	35	962,11	0,64

Fonte: Próprio autor.

O limite de resistência à compressão (LRC) foi calculado a partir da divisão do valor da carga máxima alcançada no ensaio de compressão pela área inicial do corpo de prova, como apresentado na Equação 5.

$$\text{LRC} = F_{\text{máx}} / A_0 \quad (\text{Eq.5})$$

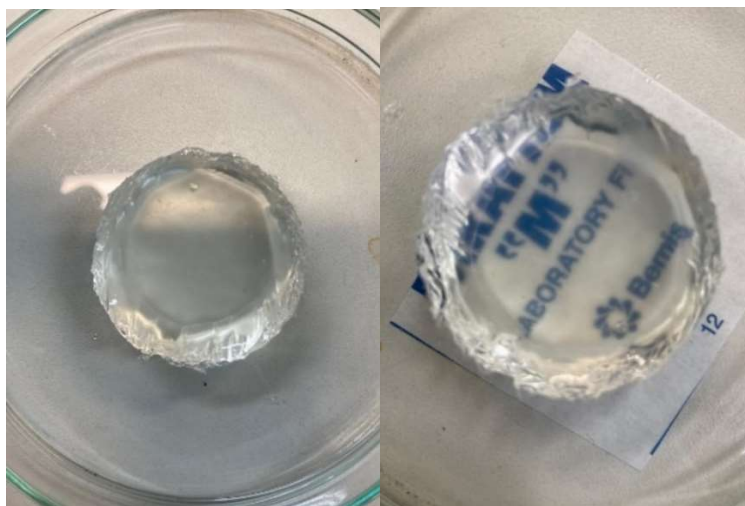
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Caracterização da goma gelana e do hidrogel de goma gelana

5.1.1 Análise morfológica dos hidrogéis

A Figura 7 apresenta os aspectos macro morfológicos observados nos hidrogéis de goma gelana. Os hidrogéis apresentaram aspecto transparente, o que pode influenciar na sua aplicação. A transparência dos hidrogéis é importante para aplicações como curativo, de forma que permite um fácil monitoramento da cicatrização das feridas (MUKTAR *et al.*, 2021). É possível observar que os hidrogéis apresentaram uma estruturação, sem a presença de fissuras ou descontinuidades a partir de uma observação macrovisual, apesar de não apresentar reticulantes em sua formulação. Os hidrogéis apresentaram facilidade de manuseio, flexibilidade e fácil desprendimento do molde.

Figura 7 - Aspecto dos hidrogéis de goma gelana.



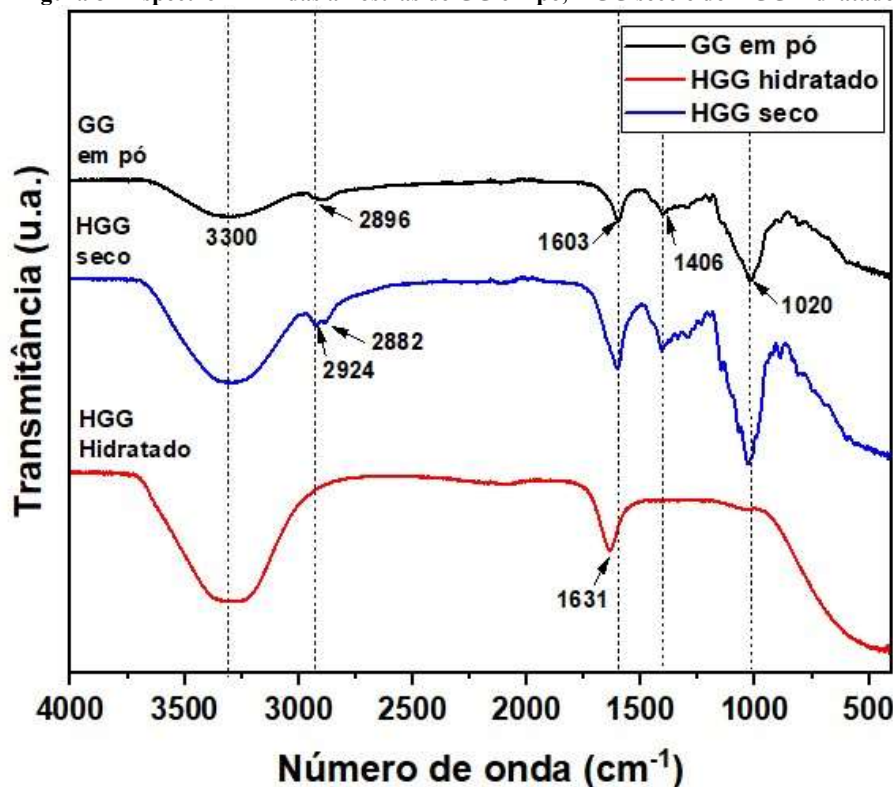
Fonte: Próprio autor.

5.1.2 Análise estrutural por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A estrutura química da goma gelana e do hidrogel foi analisada por meio dos espectros de FTIR, considerando as bandas na região entre 4000 cm^{-1} e 400 cm^{-1} . A Figura 8 apresenta

os espectros de FTIR da goma gelana em pó (GG em pó), do hidrogel de goma gelana após secagem (HGG seco) e do hidrogel de goma gelana hidratado (HGG hidratado).

Figura 8 - Espectro FTIR das amostras de GG em pó, HGG seco e do HGG hidratado.



Fonte: Próprio autor.

De modo geral, é possível observar que os espectros de GG, HGG seco e de HGG hidratado são semelhantes, sendo que o espectro da goma gelana encontrado está de acordo com a literatura, apresentando espectros que são comuns aos polissacarídeos. A banda de absorção em torno de 3300 cm^{-1} , presente no espectro das três amostras, está relacionada ao estiramento do grupo hidroxila (-OH) (MUKTAR *et al.*, 2021; SEO *et al.*, 2023). Devido a presença do grupo hidroxila em sua estrutura, a goma gelana provavelmente realiza contato intermolecular com outros polímeros por ligações de hidrogênio (NAJI-TABASI; SHAHIDI-NOGHABI; DOVOM, 2023).

As bandas de absorção centradas em 2896 cm^{-1} para a GG em pó e em 2924 cm^{-1} para HGG correspondem as vibrações de estiramento de C-H (WU *et al.*, 2022; CAO *et al.*, 2021; KHANG *et al.*, 2015) e aquelas bandas observadas em 1406 cm^{-1} e 1600 cm^{-1} nos dois espectros estão relacionadas ao alongamento simétrico e assimétrico do ânion do ácido carboxílico, respectivamente (DE OLIVEIRA *et al.*, 2020; YANG *et al.*, 2013). Para o HGG hidratado, ocorre o deslocamento da banda de absorção relacionada ao alongamento assimétrico do ânion

do ácido carboxílico de 1603 cm^{-1} para 1631 cm^{-1} , semelhante ao espectro de hidrogéis reticulados com cátions bivalentes, devido a ligação iônica formada pela carboxila com os cátions (KUSUKTHAM; PRASERTGUL; SRINUN, 2014; SARMENTO *et al.*, 2006; WATERHOUSE; WANG; SUN-WATERHOUSE, 2014).

É relatado na literatura a presença de uma banda de absorção em 1660 cm^{-1} , atribuída aos grupos acilados (DE OLIVEIRA *et al.*, 2020). Contudo, essa banda não foi observada em nenhum espectro, devido a goma gelana utilizada ser do tipo baixa acila. As regiões entre 1500 e 400 cm^{-1} são importantes para diferenciar os diferentes tipos de gomas existentes, assim como, diferenciar de outros polissacarídeos, atuando como uma impressão digital de cada material. No espectro do HGG seco, é possível observar uma banda de absorção em 1070 cm^{-1} que está relacionada ao dobramento do C-H metil, assim como as ligações glicosídicas, não sendo observada em outras gomas (THOMBARE *et al.*, 2023).

As bandas em torno de 1020 cm^{-1} estão relacionadas a vibração de estiramento de C-O (CAO *et al.*, 2021; WANG; WEN; BAI, 2016), que correspondem as ligações glicosídicas associadas a unidades de açúcar galacturônico (HAZAANA; SELVASEKARAPANDIAN, 2023; NAJI-TABASI; SHAHIDI-NOGHABI; DOVOM, 2023), sendo este um pico característico de polissacarídeos comumente encontrado em torno de 1025 cm^{-1} (SEO *et al.*, 2023). A banda de absorção em torno de 890 cm^{-1} corresponde ao alongamento C-O para alquil éter (VIJAN *et al.*, 2012). A Tabela 2 apresenta as principais bandas de absorção do espectro de FTIR da goma gelana m pó, do hidrogel de goma gelana seco e hidratado com os seus respectivos grupos químicos.

Tabela 2 - Bandas de absorção e os grupos químicos referentes da GG, HGG seco e HGG hidratado.

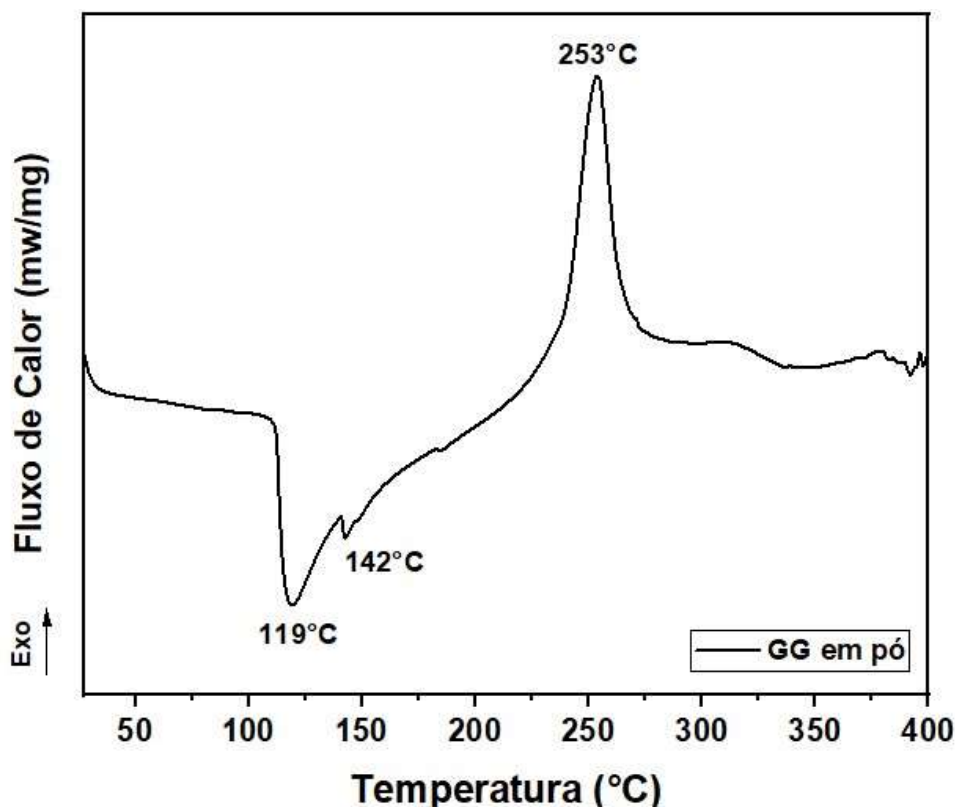
Bandas de absorção	Grupos químicos
3300 cm^{-1}	Estiramento de O-H
2896 cm^{-1}	Estiramento de C-H
1600 cm^{-1}	Estiramento assimétrico de COO^-
1406 cm^{-1}	Estiramento simétrico de COO^-
1020 cm^{-1}	Estiramento de C-O

Fonte: Próprio autor.

5.1.3 Análise térmica por Análise Termogravimétrica (TGA) e por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

O termograma da análise térmica por DSC da GG em pó é apresentado na Figura 9.

Figura 9 - Termograma de DSC da GG em pó.

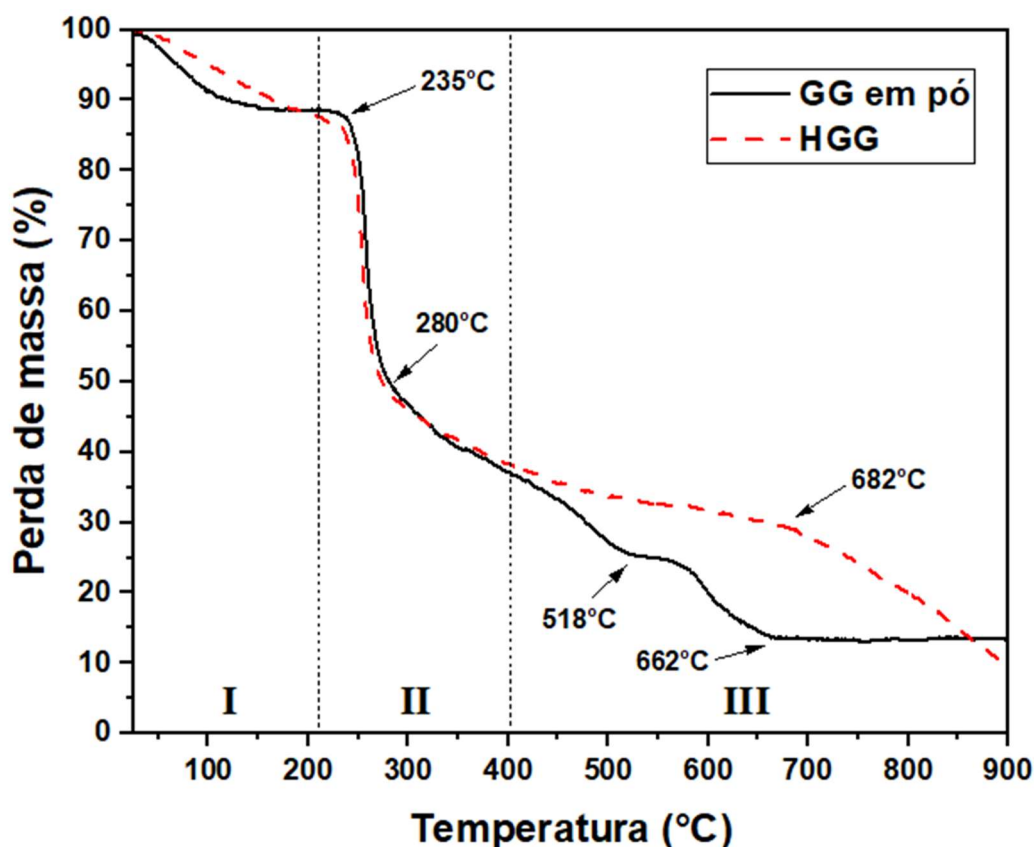


Fonte: Próprio autor.

O termograma exibiu um pico endotérmico em 119 °C que corresponde ao processo de desidratação da amostra de goma gelana em pó, devido a evaporação da água (CARDOSO *et al.*, 2021). É possível observar um pico exotérmico em 253 °C que está relacionado a degradação da amostra, devido a desintegração das cadeias moleculares (CARDOSO *et al.*, 2021; DE OLIVEIRA CARDOSO *et al.*, 2020; XU *et al.*, 2007).

A análise termogravimétrica foi utilizada para analisar a estabilidade térmica da goma gelana e do hidrogel de goma gelana. A degradação térmica foi determinada na faixa de temperatura de 25 a 900 °C. O termograma da Figura 10 apresenta a curva de perda de massa percentual versus temperatura, sob atmosfera de oxigênio, e a Tabela 3 apresenta os dados da goma gelana em pó e do hidrogel de goma gelana.

Figura 10 - TGA da goma gelana em pó e do hidrogel de goma gelana.



Fonte: Próprio autor.

Tabela 3 - Dados de estabilidade térmica da goma gelana em pó e do hidrogel de goma gelana.

Amostra	Perda de massa (%)			Resíduo em 900°C
	I (25 a 210°C)	II (210 a 400°C)	III (400 a 900°C)	
Goma Gelana em pó	11,46	61,73	86,65	13,35
Hidrogel de Goma Gelana	12,38	62,83	90,23	9,77

Fonte: Próprio autor.

É possível observar três eventos térmicos nas curvas de TGA das duas amostras. Em 38 °C, inicia-se o primeiro evento térmico para GG e HGG, com perda de massa de 11,46% e de 12,38%, respectivamente, relacionada a perda de água das amostras (KRISHNA; VISHALAKSHI, 2017). A perda de água pode ser observada desde a temperatura ambiente até

aproximadamente 100°C, que ocorre de forma gradual (CARDOSO, 2014). O início do segundo evento térmico que ocorre em 210 °C para as duas amostras, com perda de massa em torno de 40%, está relacionado à decomposição da cadeia dos polissacarídeos, com a quebra de ligações C-H e das ligações glicosídicas C-O-C, levando a formação de um material intermediário (SHABANI; DINARI, 2022), o que está em concordância com os dados de degradação apresentados no termograma de DSC da goma gelana em pó.

O terceiro evento térmico que se inicia em 400 °C apresenta uma perda de massa mais lenta com o aumento da temperatura (MANDA *et al.*, 2018), que ocorre de forma gradual até 900 °C, com a formação de resíduos. Reações endotérmicas de oxidação e hidrólise seguidas de reações exotérmicas de pirólise de polissacarídeos ocorrem durante a fase de degradação dos polímeros naturais (HALIM *et al.*, 2012). A massa residual pode estar relacionada aos compostos inorgânicos que restaram após a degradação da goma gelana (MANDA *et al.*, 2018), sendo que a GG e a HGG apresentaram, respectivamente, massa residual de 13,35% e 9,77%.

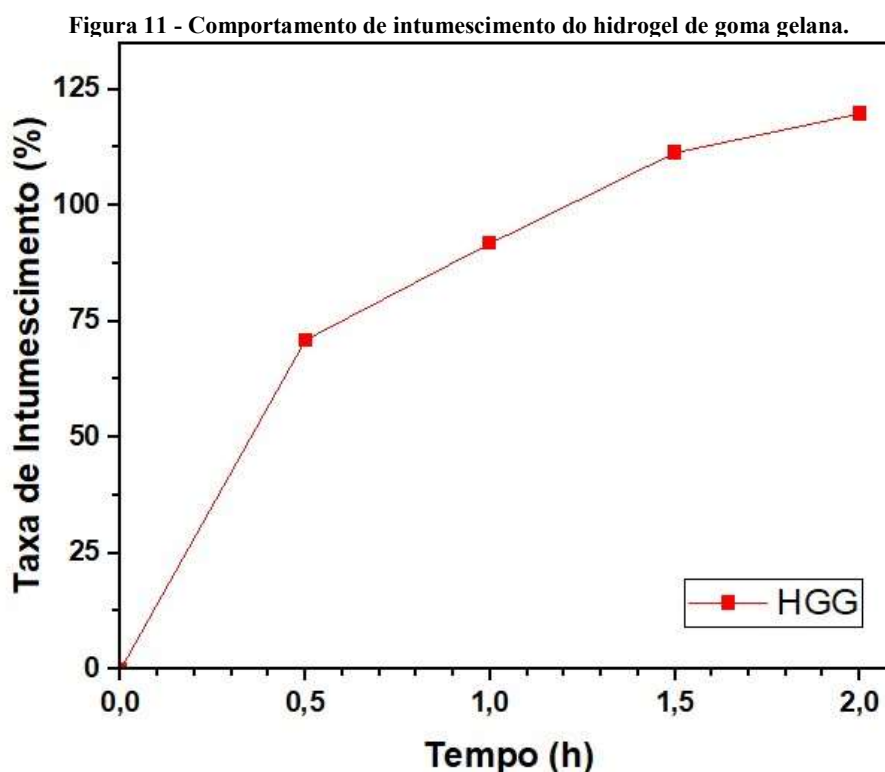
Contudo, apesar de GG e HGG apresentaram comportamentos térmicos semelhantes, é possível observar que o HGG exibe uma menor perda de massa na faixa de temperatura de 400 a 850 °C, mantendo uma maior estabilidade térmica. Isso ocorre, pois, como a estrutura não está reticulada, os ácidos carboxílicos presentes na estrutura da goma gelana realizam mais interações com a água, devido a presença de mais grupos para realizarem ligações de hidrogênio, aumentando a quantidade de água associada à rede do hidrogel, de forma que a água adsorvida permanece na estrutura até maiores temperaturas (XU *et al.*, 2018b).

5.1.4 Análise do grau de intumescimento (GI)

A análise do grau de intumescimento apresenta a avaliação da densidade de reticulação dos hidrogéis, uma vez que, altas taxas de intumescimento correspondem a baixas densidades de reticulação (XU *et al.*, 2018b). O resultado do ensaio do grau de intumescimento (GI) dos hidrogéis de goma gelana é apresentado na Figura 11 para os tempos de 0 h, 0,5 h, 1,0 h, 1,5 h e 2,0 h.

É possível observar que houve grande absorção de água entre os tempos 0 h e 0,5 h. O caráter hidrofílico da goma gelana permite a absorção de água, que irá determinar a transição da estrutura vítrea, ou seja, a entrada de água na estrutura desidratada, hidratando os grupos hidrofílicos e transformando os hidrogéis em estruturas semelhantes as esponjosas, para a

formação de géis elásticos quando hidratados, com manutenção da estrutura. Dessa forma, hidrogéis que apresentam grande teor de água são semelhantes a MEC, atraindo interesse para aplicações como estruturas tridimensionais (LAIA, 2015; MANDA *et al.*, 2018).

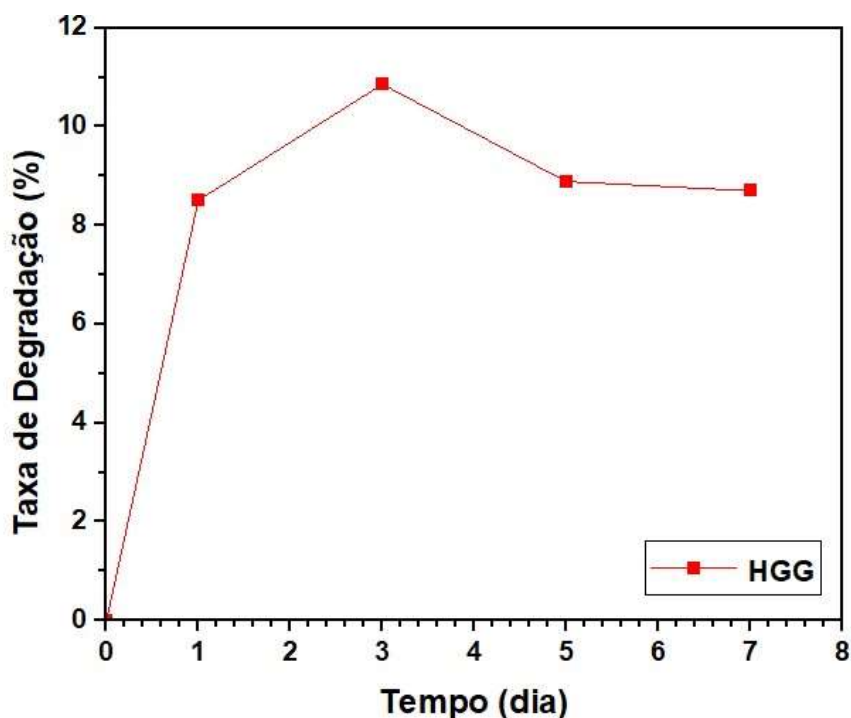


Contudo, é observada uma tendência de estabilização no tempo de 2 h. Nessa etapa, possivelmente, as moléculas de água entram nos interstícios da rede do hidrogel, preenchendo os microporos e os macroporos abertos e fechados, podendo levar a desintegração do material, caso o material alcance a taxa máxima de intumescimento (LAIA, 2015). A taxa de intumescimento e o tamanho dos poros da estrutura durante o inchaço do gel é importante para potencial aplicação na liberação de fármacos, uma vez que, o aumento dos poros permite a liberação do fármaco de forma controlada (WU *et al.*, 2022). Os hidrogéis não apresentaram ruptura da estrutura para os tempos de imersão utilizados no ensaio.

5.1.5 Análise da taxa de degradação

O perfil de degradação dos hidrogéis de goma gelana foi obtido com a imersão dos hidrogéis em PBS 0,1 M. O resultado do ensaio da taxa de degradação é apresentado na Figura 12 para os tempos de 1, 3, 5 e 7 dias.

Figura 12 - Comportamento de degradação do hidrogel de goma gelana.



Fonte: Próprio autor.

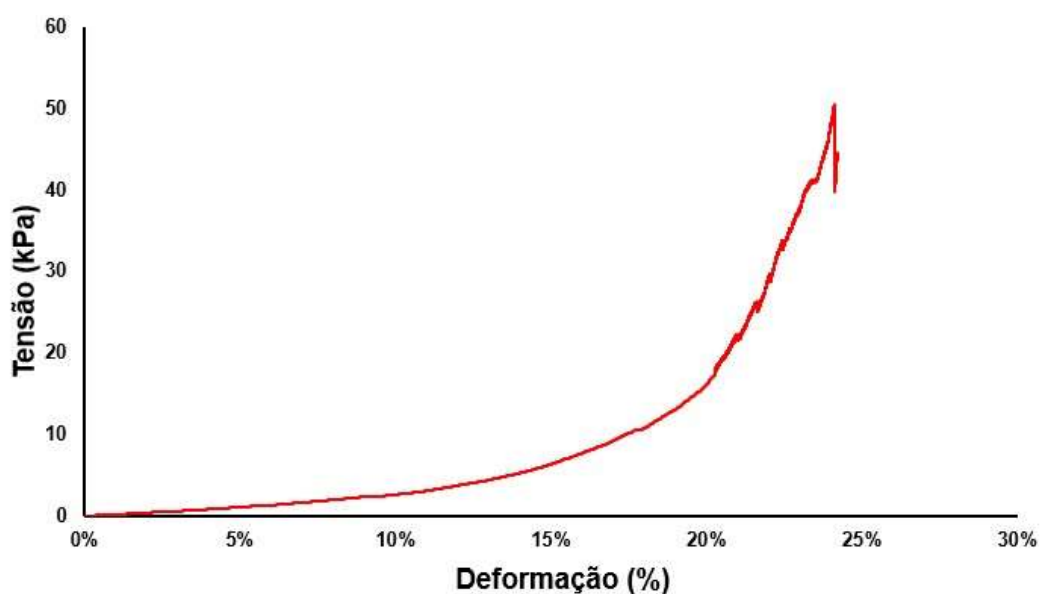
A aplicação de materiais como *scaffolds* para a Engenharia de Tecidos exigem que, para melhores resultados de reparação do tecido, os materiais dos *scaffolds* apresentem biodegradabilidade correspondente a taxa de crescimento do tecido, de forma que ocorra a substituição do *scaffolds* pelo novo tecido formado (LI *et al.*, 2020). Contudo, de acordo com a literatura, os hidrogéis de goma gelana apresentam alta estabilidade em PBS (XU *et al.*, 2018b).

É possível observar que inicialmente ocorre um ganho significativo de massa após o 1º dia de imersão, provavelmente, devido a expansão da rede polimérica e, com isso, absorção de água, promovendo o aumento da massa até o 3º dia (DA SILVA *et al.*, 2018). Em seguida, é observada uma queda com estabilização no 5º e 7º dia de imersão em PBS, indicando que houve compressão da rede polimérica, seguido de contração, com diminuição da massa devido a liberação da água (DA SILVA *et al.*, 2018). Esse comportamento indica que os hidrogéis de goma gelana podem ser aplicados como curativos, pois, taxas de degradação mais lenta apresentam melhores índices de fechamento de feridas e promovem o processo de cicatrização, sendo essa propriedade extremamente interessante para aplicação do hidrogel como curativos de feridas diabéticas (XU *et al.*, 2018a). Os hidrogéis não apresentaram ruptura da estrutura para os tempos de imersão utilizados no ensaio.

5.1.6 Ensaio de compressão

A curva de tensão x deformação obtidas a partir do ensaio de compressão realizado com o hidrogel de goma gelana é apresentada no gráfico da Figura 13. É possível observar que, inicialmente, a amostra apresenta baixos valores de tensão, sendo possível perceber um aumento em função da deformação. Isso ocorre, devido a expulsão da água que preenche os poros do hidrogel durante a compressão (CORRÊA, 2018; ESCHWEILER et al., 2021).

Figura 13 - Curva Tensão x Deformação obtida para o hidrogel de goma gelana.



Fonte: Próprio autor.

A amostra sofreu ruptura, apresentando extravasamento de material, evidenciado na curva tensão x deformação pelo decaimento da tensão de compressão, com limite de resistência a compressão em torno de 50,6 kPa e com deformação máxima de 24%, conforme apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 - Dados das propriedades mecânicas do hidrogel de goma gelana.

Amostra	Tensão de ruptura (kPa)	Deformação (%)
Hidrogel de Goma Gelana	50,6	24

Fonte: Próprio autor.

A Figura 14 apresenta o aspecto da amostra após o ensaio mecânico de compressão.

Figura 14 - Aspecto da amostra após o ensaio de compressão.



Fonte: Próprio autor.

A resistência mecânica a compressão é importante para o desenvolvimento dos tecidos, uma vez que, muitos processos biológicos são dependentes da detecção e resposta das células aos sinais químicos e mecânicos da matriz extracelular (MEC) (RINGER et al., 2017). No pulmão, por exemplo, a resistência mecânica da pressão hidrostática e do peristaltismo das vias aéreas afetam fenótipos celulares pulmonares, como também a composição da MEC pulmonar. Logo, são essenciais para o desenvolvimento pulmonar (URBANCZYK; LAYLAND; SCHENKE-LAYLAND, 2020).

A MEC apresenta diferentes valores de resistência a compressão para diferentes partes do corpo, como por exemplo, no cérebro está em torno de 1-3 kPa, no músculo está em torno de 23-42 kPa, vasos sanguíneos 1,16-860 MPa, tendão 136–820 MPa ou osso 15–40 GPa (YI; XU; LIU, 2022). Portanto, os valores apresentados no ensaio de compressão evidenciam o potencial estudo do hidrogel de goma gelana como *scaffolds* para substituição de tecido neural e tecido muscular, uma vez que, não foi considerada a influência da resistência a compressão da resina acrílica durante o ensaio, assim como a necessidade de modificação do hidrogel para garantir biocompatibilidade.

6 CONCLUSÃO

O presente trabalho estudou a produção e caracterização de hidrogéis de goma gelana sem reticulantes para potencial aplicação como biomaterial na Engenharia de Tecidos. A análise morfológica permitiu a observação de hidrogéis sem descontinuidade, estruturados e transparentes, permitindo uma ampla variedade de aplicações.

A análise da estrutura química por meio do FTIR, de modo geral, permitiu a visualização de espectros semelhantes para as amostras GG, HGG seco e HGG hidratado, com bandas de absorção características de goma gelana para GG e HGG seco, mostrando que a produção do hidrogel não provocou modificações significativas na estrutura do material. Contudo, o HGG hidratado apresentou bandas relacionadas a reticulação da rede, semelhante as bandas apresentadas nos espectros de hidrogéis reticulados com cátions bivalentes. As análises térmicas mostraram que GG e HGG apresentaram comportamentos térmicos semelhantes, sendo que o HGG apresentou maior estabilidade térmica.

A análise do grau de intumescimento e da taxa de degradação evidenciaram que o hidrogel de goma gelana produzido apresentou estabilidade em água destilada e em PBS 0,1 M, não apresentaram desestruturação, de forma que, o comportamento do material possibilita o seu estudo para aplicações como curativos. Por fim, o ensaio de comportamento mecânico de compressão evidenciou o potencial estudo do material para aplicação na área médica, como *scaffolds* para substituição de tecido neural e tecido muscular.

REFERÊNCIAS

- AADIL, K. R.; NATHANI, A.; SHARMA, C. S.; LENKA, N.; GUPTA, P. Investigation of poly(vinyl) alcohol-gellan gum based nanofiber as scaffolds for tissue engineering applications. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 54, 2019.
- ANDERSEN, T.; AUK-EMBLEM, P.; DORNISH, M. 3D Cell Culture in Alginate Hydrogels. **Microarrays**, v. 4, n. 2, p. 133–161, 2015.
- BADMUS, M.; LIU, J.; WANG, N.; RADACSI, N.; ZHAO, Y. Hierarchically electrospun nanofibers and their applications: A review. **Nano Materials Science**, v. 3, n. 3, p. 213–232, 2021.
- BAJAJ, I. B.; SURVASE, S. A.; SAUDAGAR, P. S.; SINGHAL, R. S. Gellan gum: Fermentative production, downstream processing and applications. **Food Technology and Biotechnology**, v. 45, n. 4, p. 341–354, 2007.
- BANERJEE, S.; BHATTACHARYA, S. Food Gels: Gelling Process and New Applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 4, p. 334–346, 2012.
- BOMKAMP, C.; SKAALURE, S. C.; FERNANDO, G. F.; BEN-ARYE, T.; SWARTZ, E. W.; SPECHT, E. A. Scaffolding Biomaterials for 3D Cultivated Meat: Prospects and Challenges. **Advanced Science**, v. 9, n. 3, p. 1–40, 2022.
- BOYAN, B. D.; HUMMERT, T. W.; DEAN, D. D.; SCHWARTZ, Z. Role of material surfaces in regulating bone and cartilage cell response. **Biomaterials**, v. 17, n. 2, p. 137–146, 1996.
- CAO, D.; LV, Y.; ZHOU, Q.; CHEN, Y.; QIAN, X. Guar gum/gellan gum interpenetrating-network self-healing hydrogels for human motion detection. **European Polymer Journal**, v. 151, 2021.
- CAPURRO, M.; BARBERIS, F. **Evaluating the mechanical properties of biomaterials**. [s.l.] Woodhead Publishing Limited, 2014.
- CARDOSO, V. Síntese e caracterização de hidrogéis de amido retrogradado e goma gelana utilizados como matriz em sistemas de liberação cólon específica de fármacos. **Aleph**, p. 198, 2014.

CARDOSO, V. M. DE O. et al. Rational design of nanocarriers based on gellan gum/retrograded starch exploiting polyelectrolyte complexation and ionic cross-linking processes: A potential technological platform for oral delivery of bevacizumab. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 66, 2021.

CASCONE, S.; LAMBERTI, G. Hydrogel-based commercial products for biomedical applications: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 573, 2020.

CASSANELLI, M.; NORTON, I.; MILLS, T. Role of gellan gum microstructure in freeze drying and rehydration mechanisms. **Food Hydrocolloids**, v. 75, p. 51–61, 2018.

CHANDRAN, P. L.; BAROCAS, V. H. Microstructural Mechanics of Collagen Gels in Confined Compression: Poroelasticity, Viscoelasticity, and Collapse. **The Journal of Biomechanical Engineering**, v. 126, n. 2, p. 152-66, Abr. 2004.

CORRÊA, L. T. DOS R. Desenvolvimento e Caracterização de Scaffolds 3D de Alginato de Sódio e Goma Gelana. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Engenharia de Materiais, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.

COSTA JÚNIOR, E. DE S. Desenvolvimento de matriz de Quitosana/PVA, quimicamente reticulado para aplicação potencial em engenharia de tecido epitelial. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de UFMG, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

COSTA, R. G. F; OLIVEIRA, J. E.; PAULA, G. F.; PICCIANI, P. H.S.; MEDEIROS, E. S.; RIBEIRO, C.; MATTOSO, L. H.C. Eletrofiação de polímeros em solução. Parte I: Fundamentação teórica. **Polimeros**, v. 22, n. 2, p. 170–177, 2012.

COUTINHO, D. F.; SANT, S. V.; SHIN, H.; OLIVERIA, J. T.; GOMES, M. E.; NEVES, N. M.; KHADEMHOSEINI, A.; REIS, R. L. Modified Gellan Gum hydrogels with tunable physical and mechanical properties. **Biomaterials**, v. 31, n. 29, p. 7494–7502, 2010.

DA SILVA, L. P.; JHA, A. K.; CORRELO, V; M.; MARQUES, A. P.; REIS, R. L.; HEALY, K. Gellan Gum Hydrogels with Enzyme-Sensitive Biodegradation and Endothelial Cell Biorecognition Sites. **Advanced Healthcare Materials**, v. 7, n. 5, p. 1–12, 2018.

DAS, M.; GIRI, T. K. Hydrogels based on gellan gum in cell delivery and drug delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 56, 2020.

DE ÁVILA, J.; ÁVILA, A. F.; TRIPLETT, M. H. Caracterização Morfológica de Nanomembranas de Poliamida-66 Dopadas com Grafeno Obtidas por Electrospinning. **Polimeros**, v. 23, n. 1, p. 74–81, 2013.

DE OLIVEIRA, A. C.; Sabino, R. M.; SOUZA, P. R.; MUNIZ, E. C.; POPAT, K. C.; KIPPER, M. J.; ZOLA, R. S.; MARTINS, A. F. Chitosan/gellan gum ratio content into blends modulates the scaffolding capacity of hydrogels on bone mesenchymal stem cells. **Materials Science and Engineering C**, v. 106, 2020.

DE OLIVEIRA CARDOSO, V. M.; EVANGELISTA, R. C; GREMIÃO, M. P. D.; CURY, B. S. F. Insights into the impact of cross-linking processes on physicochemical characteristics and mucoadhesive potential of gellan gum/retrograded starch microparticles as a platform for colonic drug release. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 55, 2020.

DHANDAYUTHAPANI, B.; YOSHIDA, Y.; MAEKAWA, T.; KUMAR, D. S. Polymeric scaffolds in tissue engineering application: A review. **International Journal of Polymer Science**, v. 2011, n. 2, 2011.

ESCHWEILER, J.; HORN, N.; RATH, B.; BETSCH, M.; BARONCINI, A.; TINGART, M.; MIGLIKORINI, F. The Biomechanics of Cartilage — An Overview. 2021.

KHANG, G.; LEE, S. K.; KIM, H. N.; SILVA-CORREIA, J.; GOMES, M. E.; VIEGAS, C. A. A.; DIAS, I. R.; OLIVEIRA, J. M.; REISET, R. L. Biological evaluation of intervertebral disc cells in different formulations of gellan gum-based hydrogels. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 9, p. 265–275, 2015.

GANTAR, A.; SILVA, L. P.; OLIVEIRA, J. M.; MARQUES, A. P.; CORRELO, V. M.; NOVAK, S.; REIS, R. L. Nanoparticulate bioactive-glass-reinforced gellan-gum hydrogels for bone-tissue engineering. **Materials Science and Engineering C**, v. 43, p. 27–36, 2014.

GOMES, D.; BATISTA-SILVA, J. P.; SOUSA, A.; PASSARINHA, L. A. Progress and opportunities in Gellan gum-based materials: A review of preparation, characterization and emerging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 311, 2023.

GOONOO, N.; BHAW-LUXIMON, A.; BOWLIN, G. L.; JHURRY, D. An assessment of biopolymer- and synthetic polymer-based scaffolds for bone and vascular tissue engineering. **Polymer International**, v. 62, n. 4, p. 523–533, 2013.

GUIBO, Y.; ZHAO, Q.; ZHAO, Y.; YUAN, Y.; YANG, Y. The electrospun polyamide 6 nanofiber membranes used as high efficiency filter materials: Filtration potential, thermal treatment, and their continuous production. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 128, n. 2, p. 1061–1069, 2013.

GUPTA, A.; KOWALCZUK, M.; HEASELGRAVE, W.; BRITLAND, S. T.; MARTIN, C.; RADECKA, I. The production and application of hydrogels for wound management: A review. **European Polymer Journal**, v. 111, n. September 2018, p. 134–151, 2019.

HALIM, N. F. A. MAJID, S. R.; AROF, A. K.; KAJZAR, F. Molecular Crystals and Liquid Crystals Gellan Gum-LiI Gel Polymer Electrolytes. **Molecular Crystals and Liquid Crystals**, v. 554, n. 1, p. 37–41, 2012.

HAZAANA, S. A.; SELVASEKARAPANDIAN, A. J. S. Development and characterization of biopolymer electrolyte based on gellan gum (GG) with lithium chloride (LiCl) for the application of electrochemical devices. **Polymer Bulletin**, v. 80, n. 5, p. 5291–5311, 2023.

HE, W.; MA, Z. W.; YONG, T.; TEO, W. E.; RAMAKRISHNA, S. Fabrication of collagen-coated biodegradable polymer nanofiber mesh and its potential for endothelial cells growth. **Biomaterials**, v. 26, n. 36, p. 7606–7615, 2005.

HU, Z. CHENG, J.; XU, S.; CHENG, X.; ZHAO, J.; KENNY LOW, Z. W.; CHEE, P. L.; LU, Z.; ZHENG, L.; KAI, D. PVA/pectin composite hydrogels inducing osteogenesis for bone regeneration. **Materials Today Bio**, v. 16, 2022.

JAFARI, M.; PAKNEJAD, Z.; RAD, M. R.; MOTAMEDIAN, S. R.; EGHBAL, M. J.; NADJMI, N.; KHOJASTEH, A. Polymeric scaffolds in tissue engineering: a literature review. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 105, n. 2, p. 431–459, 2017.

KACZMAREK, B.; NADOLNA, K.; OWCZAREK, A. The physical and chemical properties of hydrogels based on natural polymers. *In*: CHEN, Y. Hydrogels based in natural polymers, Elsevier Inc., 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816421-1.00006-9>.

KIM, J. H.; CHOI, Y.; YI, H.; WANG, J. H.; CHO, D. A cell-laden hybrid fiber/hydrogel composite for ligament regeneration with improved cell delivery and infiltration A cell-laden

hybrid fiber/hydrogel composite for ligament regeneration with improved cell delivery and in filtration. **Biomed. Mater.**, v. 12, n. 5, 2017.

KRISHNA, K. A.; VISHALAKSHI, B. Gellan gum-based novel composite hydrogel: Evaluation as adsorbent for cationic dyes. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 47, p. 1–9, 2017.

KUSUKTHAM, B.; PRASERTGUL, J.; SRINUN, P. Morphology and Property of Calcium Silicate Encapsulated with Alginate Beads. **Silicon**, v. 6, n. 3, p. 191–197, 2014.

LAIA, A. G. S. Estudo de filmes e hidrogéis a base de alginato e goma gelana visando aplicações na regeneração de discos intervertebrais. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Engenharia de Materiais, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

LEE, H.; FISHER, S.; KALLOS, M. S.; HUNTER, C. J. Optimizing gelling parameters of gellan gum for fibrocartilage tissue engineering. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 98 B, n. 2, p. 238–245, 2011.

LI, A.; XU, H.; YU, P.; XING, J.; DING, C.; YAN, X.; XIE, J. Injectable hydrogels based on gellan gum promotes in situ mineralization and potential osteogenesis. **European Polymer Journal**, v. 141, 2020.

LIN, H. Y.; CHEN, H. H.; CHANG, S. H.; NI, T. S. Pectin-chitosan-PVA nanofibrous scaffold made by electrospinning and its potential use as a skin tissue scaffold. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 24, n. 4, p. 470–484, 2013.

MANDA, M. G.; SILVA, L. P.; CERQUEIRA, M. T.; PEREIRA, D. R.; OLIVEIRA, M. B.; MANO, J. F.; MARQUES, A. P.; OLIVEIRA, J. M.; CORRELO, V. M.; REIS, R. L. Gellan gum-hydroxyapatite composite spongy-like hydrogels for bone tissue engineering. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 106, n. 2, p. 479–490, 2018.

MARRELLA, A.; LAGAZZO, A.; BARBERIS, F.; CATELANI, T.; QUARTO, R.; SCAGLIONE, S. Enhanced mechanical performances and bioactivity of cell laden-graphene oxide/ alginate hydrogels open new scenario for articular tissue engineering applications. **Carbon**, Jan., 2017.

MARTIN, A.; NYMAN, J. N.; REINHOLDT, R.; CAI, J.; SCHAEDEL, A. L.; VAN DER PLAS, M. J.A.; MALMSTEN, M.; RADES, T.; HEINZ, A. In Situ Transformation of Electrospun Nanofibers into Nanofiber-Reinforced Hydrogels. **Nanomaterials**, v. 12, n. 14, 2022.

MELE, E. Electrospinning of Essential Oils. **Polymers**, v. 12, n. 4, 2020.

MITCHELL, S. A.; DAVIDSON, M. R.; BRADLEY, R. H. Improved cellular adhesion to acetone plasma modified polystyrene surfaces. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 281, n. 1, p. 122–129, 2005.

MUKTAR, M. Z.; Ameerul, M.; Bakar, A.; Anuar, K.; Amin, M.; Rose, L. C.; Iryani, W.; Ismail, W.; Razali, M. H.; Izwan, S.; Razak, A. Gellan Gum Hydrogels Filled Edible Oil Microemulsion for Biomedical Materials : Phase Diagram, Mechanical Behavior and In Vivo Studies. **Polymers**, V. 13, n. 19, p. 1–19, 2021.

MUNARIN, F.; GUERREIRO, S. G.; GRELLIER, M. A.; TANZI, M. C.; BARBOSA, M. A.; PETRINI, P.; GRANJA, P. L. Pectin-based injectable biomaterials for bone tissue engineering. **Biomacromolecules**, v. 12, n. 3, p. 568–577, 2011.

NAJI-TABASI, S.; SHAHIDI-NOGHABI, M.; DOVOM, A. M. Investigating the fabrication and functional properties of new composite hydrogels containing gellan/ alginate/ xanthan gum. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 105, n. 3, p. 637–649, 2023.

CARDOSO, V. M. O.; CURY, B. S. F.; EVANGELISTA, R. C.; GREMIÃO, M. P. D. Development and characterization of cross-linked gellan gum and retrograded starch blend hydrogels for drug delivery applications. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 65, p. 317–333, 2017.

OLIVEIRA, J. T.; GARDEL, L. S.; RADA, T.; MARTINS, L.; GOMES, M. E.; REIS, R. L. Injectable gellan gum hydrogels with autologous cells for the treatment of rabbit articular cartilage defects. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 28, n. 9, p. 1193–1199, 2010.

PATIL, J. S.; KAMALAPUR, M. V.; MARAPUR, S. C.; KADAM, D. V. Ionotropic gelation and polyelectrolyte complexation: The novel techniques to design hydrogel particulate sustained, modulated drug delivery system: A review. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v. 5, n. 1, p. 241–248, 2010.

PAWELEC, K. M.; BEST, S. M.; CAMERON, R. E. Collagen: A network for regenerative medicine. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 4, n. 40, p. 6484–6496, 2016.

POST, M. J.; HOCQUETTE, J.-F. New Sources of Animal Proteins: Cultured Meat. *In*: PURSLOW, P. P. New aspects of meat quality. Elsevier Ltd, 2017.

RAMAKRISHNA, S.; MAYER, J.; WINTERMANTEL, E.; LEONG, K. W. Biomedical applications of polymer-composite materials : a review. **Composite Science and Technology**, v. 61, n. 9, p. 1189-1224, 2001.

RAQUEL MAIA, F.; CORRELO, V. M.; OLIVEIRA, J. M.; REIS, R. L. Natural Origin Materials for Bone Tissue Engineering. *In*: ATALA, A. et al. Principles of Regenerative Medicine, 3 ed., Elsevier Inc., 2018.

RATNER, B. **Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine**. 2 ed, 2004.

RAVINDRAN GIRIJA, A.; PALANINATHAN, V.; STRUDWICK, X.; BALASUBRAMANIAN, S.; DASAPPAN NAIR, S.; COWIN, A. J. Collagen-functionalized electrospun smooth and porous polymeric scaffolds for the development of human skin-equivalent. **RSC Advances**, v. 10, n. 45, p. 26594–26603, 2020.

REISS, J.; ROBERTSON, S.; SUZUKI, M. Cell sources for cultivated meat: Applications and considerations throughout the production workflow. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 14, 2021.

RINGER, P.; COLO, G.; FÄSSLER, R.; GRASHOFF, C. Sensing the mechano-chemical properties of the extracellular matrix. **Matrix Biology**, v. 64, p. 6–16, 2017.

SABREE, I.; GOUGH, J. E.; DERBY, B. Mechanical properties of porous ceramic scaffolds: Influence of internal dimensions. **Ceramics International**, v. 41, n. 7, p. 8425–8432, 2015.

SAHRARO, M.; BARIKANI, M.; DAEMI, H. Mechanical reinforcement of gellan gum polyelectrolyte hydrogels by cationic polyurethane soft nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 187, p. 102–109, 2018.

SANGSEN, Y.; BENJAKUL, S.; OUNGBHO, K. Fabrication of novel shark collagen-pectin scaffolds for tissue engineering. **BMEiCON-2011 - 4th Biomedical Engineering International Conference**, p. 273–278, 2011.

SARMENTO, B.; FERREIRA, D.; VEIGA, F.; RIBEIRO, A. Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionotropic pre-gelation through DSC and FTIR studies. **Carbohydrate Polymers**, v. 66, n. 1, p. 1–7, 5 out. 2006.

SEO, J. S.; TUMURSUKH, N.; CHOI, J. H.; SONG, Y.; JEON, G.; KIM, N. E.; KIM, S. J.; KIM, N.; SONG, J. E.; KHANG, G. Modified gellan gum-based hydrogel with enhanced mechanical properties for application as a cell carrier for cornea endothelial cells. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 236, 2023.

SHABANI, S.; DINARI, M. Itaconic acid - modified layered double hydroxide / gellan gum nanocomposites for Congo red adsorption. **Scientific Reports**, p. 1–11, 2022.

SHEPA, I.; MUDRA, E.; DUSZA, J. Electrospinning through the prism of time. **Materials Today Chemistry**, v. 21, 2021.

SHNEIDER, M.; SUI, X. M.; GREENFELD, I.; WAGNER, H. D. Electrospinning of epoxy fibers. **Polymer**, v. 235, 2021.

SILVA, N. A.; MOREIRA, J.; RIBEIRO-SAMY, S.; GOMES, E. D.; TAM, R. Y.; SHOICHET, M. S.; REIS, R. L.; SOUSA, N.; SALGADO, A. J. Modulation of bone marrow mesenchymal stem cell secretome by ECM-like hydrogels. **Biochimie**, v. 95, n. 12, p. 2314–2319, 2013.

SILVA-CORREIA, J.; OLIVEIRA, J. M.; REIS, R. L. Gellan Gum-based Hydrogels for Tissue Engineering Applications. **Biomaterials from Nature for Advanced Devices and Therapies**, p. 320–336, 2016.

STANCU, I. C.; LUNGU, A.; IOVU, H. Hydrogels for bone regeneration. *In*: DUBRUEL, P. Biomaterials for Bone Regeneration, Woodhead Publishing Limited, 2014.

STEVENS, L. R.; GILMORE, K. J.; WALLACE, G. G.; PANHUIS, M. Tissue engineering with gellan gum. **Biomaterials Science**, v. 4, n. 9, p. 1276–1290, 2016.

THOMBARE, N.; MAHTO, A.; SINGH, D.; CHOWDHURY, A. R.; ANSARI, M. F. Comparative FTIR Characterization of Various Natural Gums: A Criterion for Their Identification. **Journal of Polymers and the Environment**, 2023.

TORMOS, C. J.; MADIHALLY, S. V. Chitosan for cardiac tissue engineering and regeneration. *In*: JENNINGS, J. A.; BUMGARDNER, J. D. Chitosan based biomaterials. Woodhead Publishing, 2017.

TRUCCO, D.; RIACCI, L.; VANNOZZI, L.; MANFERDINI, C.; ARRICO, L.; GABUSI, E.; LISIGNOLI, G.; RICOTTI, L. Primers for the Adhesion of Gellan Gum-Based Hydrogels to the Cartilage: A Comparative Study. **Macromolecular Bioscience**, v. 22, n. 10, p. 1–15, 2022.

URBANCZYK, M.; LAYLAND, S. L.; SCHENKE-LAYLAND, K. The role of extracellular matrix in biomechanics and its impact on bioengineering of cells and 3D tissues. **Matrix Biology**, v. 85–86, p. 1–14, 2020.

URBANIĄK, T.; MUSIAŁ, W. Influence of solvent evaporation technique parameters on diameter of submicron lamivudine-poly-ε-caprolactone conjugate particles. **Nanomaterials**, v. 9, n. 9, 2019.

VIJAN, V.; KAITY, S.; BISWAS, S.; ISAAC, J.; GHOSH, A. Microwave assisted synthesis and characterization of acrylamide grafted gellan, application in drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 1, p. 496–506, 2012.

WANG, F.; WEN, Y.; BAI, T. The composite hydrogels of polyvinyl alcohol–gellan gum–Ca²⁺ with improved network structure and mechanical property. **Materials Science and Engineering C**, v. 69, p. 268–275, 2016.

WANG, L.; WANG, C.; WU, S.; FAN, Y.; LI, X. Influence of mechanical properties of biomaterials on degradability, cell behaviors and signaling pathways: current progress and challenges. **Biomaterials Science**, n. 10, 2020.

WATERHOUSE, G. I. N.; WANG, W.; SUN-WATERHOUSE, D. Stability of canola oil encapsulated by co-extrusion technology: Effect of quercetin addition to alginate shell or oil core. **Food Chemistry**, v. 142, p. 27–38, 2014.

WU, T.; CHENG, J.; ZHANG, J.; ZHAO, H.; SUI, W.; ZHU, Q.; JIN, Y.; ZHANG, M. Hypoglycemic Activity of Self-Assembled Gellan Gum-Soybean Isolate Composite Hydrogel-Embedded Active Substance-Saponin. **Foods**, v. 11, Nov. 2022.

XU, Q.; GUO, L.; SIGEN, A.; GAO, Y.; ZHOU, D.; GREISER, U.; CREAGH-FLYNN, J.; ZHANG, H.; DONG, Y.; CUTLAR, L.; WANG, F.; LIU, W.; WANG, W.; WANG, W.

Injectable hyperbranched poly(β -amino ester) hydrogels with on-demand degradation profiles to match wound healing processes. **Chemical Science**, v. 9, n. 8, p. 2179–2187, 2018a.

XU, X.; LI, B.; KENNEDY, J. F.; XIE, B. J.; HUANG, M. Characterization of konjac glucomannan-gellan gum blend films and their suitability for release of nisin incorporated therein. **Carbohydrate Polymers**, v. 70, n. 2, p. 192–197, 2007.

XU, Z.; LI, Z.; JIANG, S.; BRATLIE, K. M. Chemically Modified Gellan Gum Hydrogels with Tunable Properties for Use as Tissue Engineering Scaffolds. **ACS Omega**, v. 3, n. 6, p. 6998–7007, 2018b.

YANG, F.; XIA, S.; TAN, C.; ZHANG, X. Preparation and evaluation of chitosan-calcium-gellan gum beads for controlled release of protein. **European Food Research and Technology**, v. 237, n. 4, p. 467–479, 2013.

YI, B.; XU, Q.; LIU, W. An overview of substrate stiffness guided cellular response and its applications in tissue regeneration. **Bioactive Materials**, v. 15, p. 82–102, 2022.

ZERAATI, M.; POURMOHAMAD, R.; BAGHCHI, B.; SINGH CHAUHAN, N. P.; SARGAZI, G. Optimization and predictive modelling for the diameter of nylon-6,6 nanofibers via electrospinning for coronavirus face masks. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 25, n. 11, 2021.

ZHANG, Q.; WU, W.; QIAN, C.; XIAO, W.; ZHU, H.; GUO, J.; MENG, Z.; ZHU, J.; GE, Z.; CUI, W. Materials Science & Engineering C Advanced biomaterials for repairing and reconstruction of mandibular defects. **Materials Science & Engineering C**, v. 103, 2019.