ESTUDO DO PROCESSO DE BIOMINERALIZAÇÃO EM HIDROGÉIS BIOCOMPATÍVEIS DE ALGINATO/GELATINA

Liam Mori Miura (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Marcos Roberto Mauricio (Coorientador), Adley Forti Rubira (Orientador). E-mail: afrubira@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Exatas e da Terra / Química

Palavras-chave: freeze-thawn; hidrogel; carbonato de cálcio.

RESUMO

Hidrogéis a base de alginato de baixa e média viscosidade combinados com gelatina foram obtidos pelo método F-T, após 12 ciclos. Os hidrogéis formulados com o alginato de média viscosidade apresentaram melhores propriedades mecânicas, avaliado pelo módulo de Young. O processo de biomineralização do $CaCO_3$ *in vitro*, foi efetivo, revestindo a estrutura porosa dos hidrogéis com $CaCO_3$ com diferentes morfologias geométricas.

INTRODUÇÃO

O método *freeze-thawn*, F-T, permite a obtenção de hidrogéis reticulados fisicamente, explorando diferentes polímeros naturais e/ou sintéticos. O princípio básico da técnica consiste em controlar o processo de congelamento e descongelamento, induzindo a formação de uma estrutura organizada com porosidade controlada e boas propriedades mecânicas, evitando o uso de agentes reticulantes potencialmente tóxicos. Devido a estas características, hidrogéis biocompatíveis obtidos pelo método F-T, podem ser explorados como suportes ativos para o processo de biomineralização, *in vitro* e *in vivo*, sendo uma estratégia para a criação de materiais funcionais e personalizáveis com base em sua estrutura (Waresindo et al., 2023).

Nesse contexto, este trabalho tem como objetivo explorar o método F-T para o desenvolvimento de hidrogéis biocompatíveis, avaliando o alginato de baixa e média viscosidade combinado com gelatina. Os hidrogéis formulados serão avaliados como potenciais suportes para o processo de biomineralização com $CaCO_3$, um material inorgânico biocompatível.

MATERIAIS E MÉTODOS

A preparação dos hidrogéis a base de gelatina e alginato de sódio, foi iniciada investigando dois tipos distintos de alginato de sódio, sendo o alginato de sódio de baixa viscosidade, Mw 66,7 kDa, codificado como ALG^b, e o alginato de sódio de média viscosidade, Mw 92,6 kDa, codificado por ALG^m. Os hidrogéis foram

formulados a partir de soluções aquosas dos alginatos, ALG^{b} e $ALG^{b,}$ nas concentrações 1, 2 e 3% m/v, e da gelatina suína na concentração fixa de 3% m/v. Diferentes proporções das soluções estoque, v/v: 75/25, 50/50, 25/75 e 0/100, foram submetidas aos ciclos F-T, sendo 20 horas a 4,0 °C e 4 horas em temperatura ambiente, totalizando 12 ciclos. Ao término dos ciclos as amostras foram secas por liofilização. As amostras foram codificados como: $zALG_{xx}^{y}/Gel_{xx,}$ onde z, indica a concentração da solução de alginato, y, indica o tipo do alginato utilizado e xx, indica a proporção de mistura das soluções estoque.

A etapa de biomineralização foi realizada intumescendo os hidrogéis em 50,0 mL de solução de $CaCl_2$, 0,1 M, durante 8 horas. Após foram removidos, secos e transferidos para 50,0 mL de solução Na_2CO_3, 0,1 M, durante 2 horas, completando a etapa para formação do $CaCO_3$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1, apresenta em quais condições ocorreu efetivamente a formação do hidrogel estruturado, em termos das proporções de mistura alginato/gelatina e da concentração das soluções dos alginatos, 1, 2, e 3 % m/v. A sigla S, no gráfico, é referente à solução, ou seja, sem a formação visual do hidrogel e a sigla G, é referente à formação do hidrogel estruturado na condição ambiente, ambos após 12 ciclos F-T.

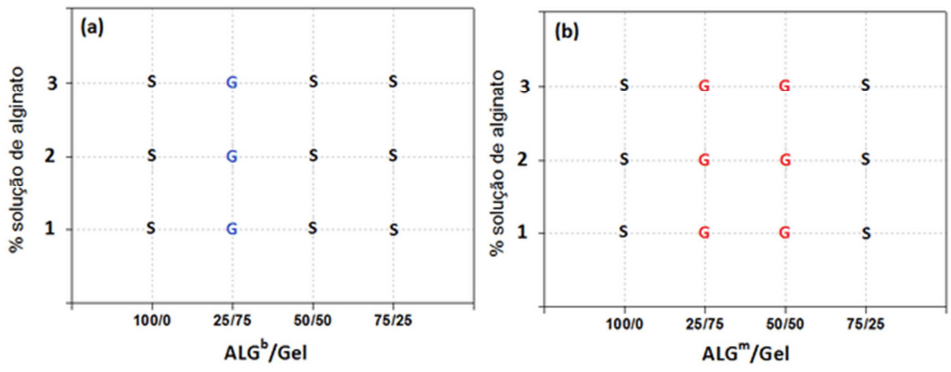


Figura 1. Formação do hidrogel estruturado alginato/gelatina em função do tipo de alginato, concentração e proporção de mistura das soluções.

Para o alginato de baixa viscosidade, somente a condição 25/75, ALG_{25}^{b}/Gel_{75}, resultou na formação efetiva do hidrogel, enquanto que o alginato de média viscosidade nas proporções 25/75 e 50/50, geraram o hidrogel estruturado ao término dos ciclos F-T. A propriedade mecânica dos hidrogéis foi verificada por meio do ensaio mecânico de tensão versus deformação, tendo como resposta o Módulo de Young, E. A análise foi realizada em triplicata e o valor médio é apresentado na Tabela 1.

Analisando os valores do Módulo de Young, é observado que os hidrogéis formulados com o alginato de baixa ou média viscosidade, apresentam valores entre

0,24 – 0,36 kPa, resultado superior ao da gelatina pura, 0,12 kPa. Este aumento sugere que ao longo dos ciclos F-T, as interações intermoleculares entre as cadeias poliméricas e a organização estrutural favorecem a formação do hidrogel.

Tabela 1. Valores do Módulo de Young, E, para os hidrogéis alginato/gelatina.

Amostra	E (MPa)
Gelatina	$1{,}2\times10^{-4}$ ±- $2{,}6\times10^{-6}$
$1ALG^{b}_{25}/Gel_{75}$	$2{,}8\times10^{-4}$ ±- $1{,}7\times10^{-5}$
$2ALG^{b}_{25}/Gel_{75}$	$3{,}5\times10^{-4}$ ± $1{,}3\times10^{-5}$
$3ALG^{b}_{25}/Gel_{75}$	$2{,}5\times10^{-4}$ ± $1{,}1\times10^{-5}$
$1ALG^{m}_{50}/Gel_{50}$	$2{,}7\times10^{-4}$ ± $1{,}1\times10^{-5}$
$2ALG^{m}_{50}/Gel_{50}$	$2{,}4\times10^{-4}$ ± $9{,}8\times10^{-6}$
$3ALG^{m}_{50}/Gel_{50}$	$3{,}6\times10^{-4}$ ± $1{,}1\times10^{-5}$
$1ALG^{m}_{25}/Gel_{75}$	$3{,}3\times10^{-4}$ ± $9{,}1\times10^{-6}$
$2ALG^{m}_{25}/Gel_{75}$	$3{,}4\times10^{-4}$ ± $1{,}1\times10^{-5}$
$3ALG^{m}_{25}/Gel_{75}$	$2{,}9\times10^{-4}$ ± $1{,}3\times10^{-5}$

Comparando as amostras, ALG^{b}_{25}/Gel_{75} e ALG^{m}_{50}/Gel_{50}, não é observado mudança significativa no módulo de Young em função do tipo, concentração e proporção da solução de alginato utilizada. Contudo, os hidrogéis ALG^{m}_{25}/Gel_{75}, apresentam uma resposta ligeiramente superior do módulo de Young, indicando estruturas mais rígidas e resistentes a deformação, sendo a condição escolhida para o processo de biomineralização.

A Figura 2(A), apresenta os espectros de FTIR para o hidrogel $3ALG^{m}_{25}/Gel_{75}$ bem como para as amostras mineralizadas. No espectro do hidrogel, é possível identificar a banda em 1640 cm^{-1}, atribuída ao estiramento assimétrico do grupo COO^{-}, presente no alginato, sobreposta com a vibração C=O de amida I da gelatina. A banda em 1540 cm^{-1}, é atribuída à vibração N-H de amida II, presente na gelatina. Para as amostras mineralizadas, é observado o surgimento de dois novos picos, característicos do $CaCO_3$. Os picos em 880 cm^{-1} e 701 cm^{-1}, são atribuídos à deformação fora do plano e a deformação no plano do grupo CO_3^{2-}, respectivamente. O surgimento destes novos picos evidencia o crescimento do $CaCO_3$ nos hidrogéis formulados com as diferentes concentrações da solução do alginato de média viscosidade. A morfologia e distribuição do $CaCO_3$ sobre os hidrogéis foi analisado por meio de imagens de MEV, Figura 2 (B, C e D). Para os hidrogéis, $1ALG^{m}_{25}/Gel_{75}$, e $2ALG^{m}_{25}/Gel_{75}$, é observado que o $CaCO_3$ mineralizou com estruturas predominantes no formato de agulhas, revestindo toda a estrutura porosa. Já no hidrogel, $3ALG^{m}_{25}/Gel_{75}$, o $CaCO_3$ apresenta morfologia esférica, formando aglomerados distribuídos por toda a estrutura porosa do hidrogel. A partir dos resultados obtidos, é possível sugerir que a quantidade de alginato presente na estrutura do hidrogel pode influênciar a estrutura do $CaCO_3$ durante a etapa de biomineralização.

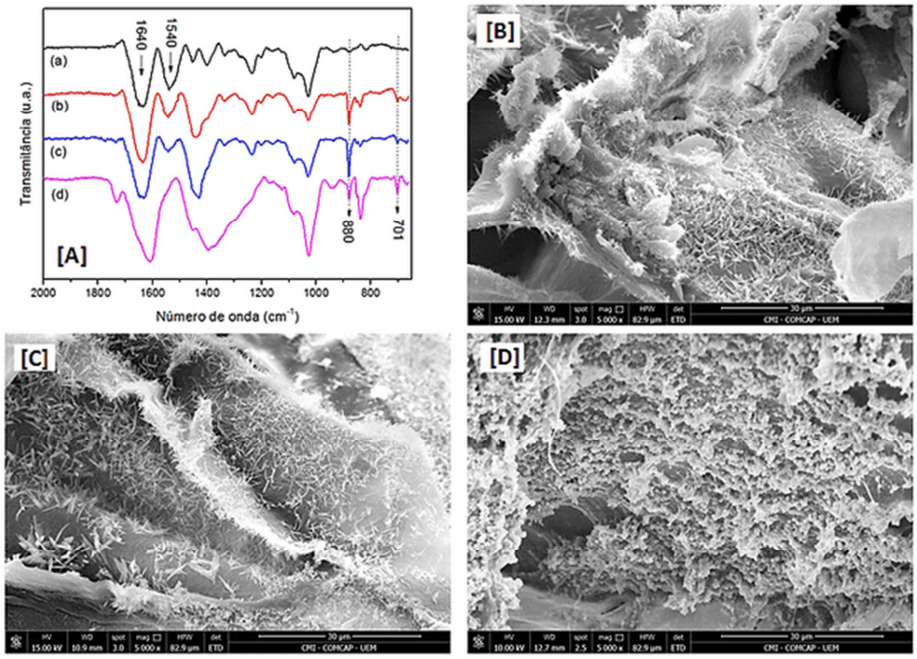


Figura 2. [A] Espectro de FTIR para: (a) $3ALG_{25}^{m}/Gel_{75}$, (b) $1ALG_{25}^{m}/Gel_{75}CaCO_3$, (c) $2ALG_{25}^{m}/Gel_{75}CaCO_3$ e (d) $3ALG_{25}^{m}/Gel_{75}CaCO_3$. [B, C e D] Imagem de MEV para o hidrogel mineralizado: $1ALG_{25}^{m}/Gel_{75}CaCO_3$, $2ALG_{25}^{m}/Gel_{75}CaCO_3$, e $3ALG_{25}^{m}/Gel_{75}CaCO_3$ respectivamente.

CONCLUSÕES

A técnica FT possibilitou a obtenção dos hidrogéis a base de alginato e gelatina, sendo observado que o alginato de baixa viscosidade foi efetivo na proporção 25/75, enquanto que o alginato de média viscosidade resultou em hidrogéis estruturados nas proporções 50/50 e 25/75. A análise do módulo de Young demonstrou uma discreta diferença de rigidez entre os hidrogéis. Os hidrogéis foram suscetíveis ao processo de biomineralização, sendo observado o recobrimento da estrutura porosa do hidrogel com $CaCO_3$ com diferentes morfologias.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, CNPq, Fundação Araucária, ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP/UEM) e à UEM.

REFERÊNCIAS

WARESINDO, W. X. et al. Freeze–thaw hydrogel fabrication method: basic principles, synthesis parameters, properties, and biomedical applications. **Materials Research Express**, v. 10, n. 2, 17 fev. 2023. Disponível em: https://iopscience.iop.org/article/10.1088/20531591/acb98e?utm_source=researchgate.net&utm_medium=article. Acesso em: 20 nov. 2025.