



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

FRANCISCA VANESSA CARNEIRO CANAFÍSTULA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS À BASE DE GOMA GUAR
OXIDADA E GELATINA**

FORTALEZA

2020

FRANCISCA VANESSA CARNEIRO CANAFÍSTULA

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS À BASE DE GOMA GUAR
OXIDADA E GELATINA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Química.
Área de concentração: Química.

Orientadora: Prof. Dra. Judith Pessoa de Andrade Feitosa.

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- C219s Canafistula, Francisca Vanessa Carneiro.
Síntese e caracterização de hidrogéis à base de goma guar oxidada e gelatina / Francisca Vanessa Carneiro
Canafistula. – 2020.
71 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação
em Química, Fortaleza, 2020.
Orientação: Profa. Dra. Judith Pessoa de Andrade de Feitosa.
1. Hidrogéis. 2. Base de Schiff. 3. Oxidação. I. Título.

CDD 540

FRANCISCA VANESSA CARNEIRO CANAFÍSTULA

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS À BASE DE GOMA GUAR
OXIDADA E GELATINA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Química.
Área de concentração: Química.

Aprovada em: 02/03/2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Judith Pessoa de Andrade Feitosa (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Jeanny da Silva Maciel
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Francisco Helder Almeida Rodrigues
Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA)

Aos meus queridos pais, Fernanda e Antônio.
Ao meu amado irmão, Vinícius e tia-mãe
Franciete.

AGRADECIMENTOS

À Deus, toda honra e toda glória a Ele tudo que vivi até hoje.

Aos meus pais, Fernanda Carneiro Canafístula e Antônio Canafístula, pelo apoio, dedicação, incentivo, atenção e amor incondicional destinado a mim.

Ao meu irmão Vinícius, pelo seu amor e companheirismo em todos os momentos da minha vida.

À minha tia-mãe Franciete, pelo amor, carinho, apoio, conselhos, dedicação e todo suporte ao longo da minha vida.

À toda a minha família, avós, tias, tios, irmãos, primas e primos pelo apoio, torcida e incentivo, em especial aos meus tios Gláucia e José Francisco e minha prima-irmã Thalyta.

À minha orientadora, Profa. Judith Feitosa, pela acolhida no laboratório, orientação, confiança, dedicação, atenção e conhecimento transmitido para o desenvolvimento deste trabalho.

As professoras do Laboratório de Polímeros (LabPol) Regina Célia, Pablyana Cunha e Jeanny Maciel pelas dúvidas tiradas e todo suporte no desenvolvimento do trabalho.

A todos os colegas do LabPol, pela acolhida e amizade, ajuda nos experimentos, conhecimentos transmitidos e convivência sempre alegre e divertida, tornando essa jornada mais leve.

Aos professores participantes da banca examinadora Pablyana Cunha, Jeanny Maciel e Audísio Filho pelas valiosas colaborações e sugestões.

Ao Prof. Luiz Gonzaga e ao doutorando Wellinson Gadelha, do Laboratório de Bioinorgânica pela disponibilidade do ultrassom.

Ao Prof. Dráulio Sales, pela amizade, carinho, ensinamentos, conselhos e incentivo para ingressar no mestrado.

Ao Prof. Helder Almeida, por gentilmente ter aceito compor a banca de defesa do mestrado.

Aos amigos de graduação Danielle, Erick, Sara e Carol, que mesmo distante se fazem presentes, pelo carinho, amizade e torcida.

Ao “Seu Assis” (*in memorian*), que nos deixou recentemente, que foi mais do que um técnico de laboratório durante minha graduação, foi um amigo e grande conselheiro.

Aos amigos de sempre, Tarcio, Marcio, Alana, Elaine e Fiama pela amizade, apoio

e incentivo que mesmo distantes, se fazem presente em todos os momentos.

Ao meu grande amigo e irmão Neto Azevedo, pela amizade desde a iniciação científica, pelo companheirismo de sempre, parceria, conselhos e toda ajuda na realização deste trabalho. Meu muito obrigada!!! A Rita, pela amizade, apoio e conselhos desde o início do mestrado.

Aos amigos: Raelle Gomes (companheira desde os tempos de IC e agora de mestrado), pela amizade, conversas, conselhos e pela ajuda nos últimos detalhes das figuras); Matheus Xavier (pela amizade que aprendemos a cultivar, por todos os momentos de diversão, purificação de goma guar e pelas caronas no fim do dia); Carlos Rhamon (pelas risadas de sempre, por toda sua alegria todos os dias e ajuda nos testes de reologia); Irisvan Ribeiro (pela convivência sempre alegre e divertida, pela secagem dos géis tão prontamente realizadas), Ribamar Júnior (companheiro de bancada pela ajuda em alguns experimentos e pela convivência sempre alegre), Laís Ramos (pela amizade, por todas as dúvidas tiradas e pelos momentos de descontração. Te devo muitos R\$ 10,00), Leonira Morais (pela amizade, por todas as dúvidas tiradas, artigos trocados e pela companhia em alguns experimentos) e o Everton Lucas (por todas as dúvidas tiradas e ajuda na realização de alguns experimentos) por todos os momentos de descontração e risadas, pelos cafés na cantina, pela ajuda nos experimentos e pela amizade que aprendemos a cultivar nesse último ano.

A Nádia e Débora, pelas análises de FTIR e TG tão prontamente realizadas.

Ao Venícios, Everton e Laís pelas análises de RMN.

Ao CENAUREMN pelas análises de Ressonância Magnética Nuclear.

À Laís, Venícios e Irisvan pelas análises de GPC.

A Central Analítica pelas análises de Microscopia Eletrônica de Varredura.

A Universidade Federal do Ceará por toda estrutura.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFC, em especial as queridas: Célia, Lorraine e Lana pela convivência sempre alegre e divertida e por todo suporte e ajuda quando necessária.

Aos órgãos CNPq, FUNCAP e INOMAT pelo auxílio financeiro ao projeto.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há
tempo para todo propósito debaixo do céu”
(Eclesiastes 3:1)

RESUMO

Hidrogéis podem ser definidos como redes tridimensionalmente reticulados, que absorvem e retêm água e/ou fluídos biológicos sem se dissolver. Essa classe de materiais apresenta diversas características, tais como: semelhança com a matriz extracelular dos tecidos (MEC) e suporte para o crescimento celular e meio de transporte de nutrientes, aumentando a viabilidade e proliferação celular. Essas propriedades permitem seu uso em diversas aplicações biomédicas, incluindo engenharia de tecidos, curativos e administração de medicamentos. Hidrogéis obtidos via reticulação por reação de base de *Schiff*, preparados a partir de polímeros naturais, têm ganhado especial atenção, visto que estes possuem biodegradabilidade e biocompatibilidade. Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi sintetizar hidrogéis à base de goma guar oxidada (GGOX) e gelatina (GELP) via reticulação por reação de base de *Schiff*, visando a aplicação como curativos no tratamento de feridas. A goma guar (GG) foi degradada a fim de aumentar a solubilidade, oxidada com periodato de sódio em três diferentes graus de oxidação (20, 50 e 80%) e caracterizada por FTIR, RMN (^1H e ^{13}C), GPC, TG e reologia. A modificação foi confirmada por FTIR e RMN ^1H . Os cromatogramas de GPC para GG e os derivados oxidados mostram que a massa molar de pico (M_{pk}) diminuiu com o aumento do grau de oxidação de GG. Os hidrogéis foram preparados pela mistura de seus precursores (GGOX e GELP), em diferentes razões volume/volume (v/v) de GGOX/GELP (20:80, 30:70 e 40:60). Os hidrogéis foram caracterizados por tempo de gelificação, FTIR, reologia, TG, MEV, intumescimento e degradação. A reação de reticulação dos hidrogéis foi confirmada por FTIR. O tempo de gelificação (T_{gel}) mostrou ser dependente do grau de oxidação e da razão GGOX/GELP. A gelificação se mostrou eficiente, uma vez que melhorou as propriedades mecânicas e morfológica desses materiais. Os hidrogéis GGOX80/GELP apresentaram boas propriedades mecânicas, taxa de intumescimento e tempo de degradação adequados para atuarem como candidatos para futuras aplicações biomédicas no campo de curativos e/ou engenharia de tecidos.

Palavras-chave: hidrogéis; base de Schiff; oxidação.

ABSTRACT

Hydrogels can be defined as three-dimensionally reticulated networks, which absorb and retain water and/or biological fluids without dissolving. This class of materials has several characteristics such as: similarity to the extracellular tissue matrix (ECM) and support for cell growth and nutrient transport, increasing cell viability and proliferation. These properties allow its use in several biomedical applications, including tissue engineering, wound dressings and drug administration. Hydrogels obtained via cross-linking by *Schiff's* base reaction prepared from natural polymers have gained special attention, since they have biodegradability and biocompatibility. In this sense, the objective of this work was to synthesize hydrogels based on oxidized guar gum (GGOX) and gelatin (GELP) via cross-linking by *Schiff's* base reaction, aiming at the application as wounds dressings. Guar gum (GG) was depolymerized in order to increase solubility, oxidized with sodium periodate in different degrees of oxidation (20, 50 and 80%) and characterized by FTIR, NMR, GPC, TG and rheology. The change was confirmed by FTIR and NMR. The GPC chromatograms of GG and oxidized derivatives show that the peak molar mass (M_{pk}) decreases with increasing GG oxidation. Hydrogels were prepared by mixing their precursors (GGOX and GELP), in different volume/volume (v/v) ratios of GGOX/GELP (20:80, 30:70 and 40:60). The hydrogels were characterized by gelation time, FTIR, rheology, TG, SEM, swelling and degradation. The crosslinking reaction of the hydrogels was confirmed by FTIR. The gelation time (T_{gel}) was dependent on the degree of oxidation and on the GGOX/GELP ratio. The gelation was efficient, since it improved the mechanical and morphological properties of these materials. The GGOX80/GELP hydrogels showed good mechanical properties, swelling rate and adequate degradation time to act as candidates for future biomedical applications in the field of dressings and/or tissue engineering.

Keywords: hydrogels; *Schiff* base; oxidation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Mecanismo de formação de imina (base de Schiff) entre um aldeído e uma amina primária.....	18
Figura 2	– Estrutura de uma galactomanana com razão M/G de 2:1.....	20
Figura 3	– Seletividade da reação do periodato com unidades de açúcar com diferentes padrões de ligação: resíduos ligados 1→2 (a), 1→3 (b) e 1→4 (c).....	22
Figura 4	– Mecanismo proposto para oxidação de uma unidade de galactose pelo íon periodato.....	23
Figura 5	– Imagem do hidrogel pré-curado após 24 horas.....	30
Figura 6	– Imagens dos hidrogéis GGOX80/GELP liofilizados - imagem transversal (I) 20:80, (II) 30:70 e (III) 40:60.....	30
Figura 7	– Goma guar antes e depois do processo de purificação.....	33
Figura 8	– Espectros na região do infravermelho de GGP e GGD.....	34
Figura 9	– Espectros de RMN ¹ H de GGP e GGD obtidos a 70 °C em D ₂ O.....	35
Figura 10	– Cromatogramas para as amostras de GGP e GGD.....	36
Figura 11	– Curvas de viscosidade para soluções aquosas de GGP e GGD a 25 °C.....	37
Figura 12	– Curvas de TGA de GGP e GGD em atmosfera de ar sintético.....	38
Figura 13	– Reação entre uma unidade de manose oxidada e NH ₂ OH.HCl.....	39
Figura 14	– Estrutura da goma guar oxidada.....	40
Figura 15	– Espectros na região do infravermelho de GGD e de seus derivados oxidados (a) 4000-400 cm ⁻¹ e (b) região ampliada entre 1800-1600 cm ⁻¹	40
Figura 16	– Espectros de RMN ¹ H de GGD e de seus derivados oxidados obtidos a 70 °C em D ₂ O.....	42
Figura 17	– Espectros de RMN ¹³ C de GGP e GGOX50 obtidos a 70 °C em D ₂ O.....	43
Figura 18	– Estruturas possíveis para derivados dialdeídicos: a) aldeídos livres, b) hemiacetal intramolecular, c) hemiacetal e d) aldeídos hidratados.....	44
Figura 19	– Cromatogramas para as amostras de GGD e seus derivados oxidados.....	45
Figura 20	– Curvas de viscosidade para as soluções em tampão PBS (pH 7,4) de GGD e	

	seus derivados oxidados na concentração de 5% (m/v) 25 °C.....	46
Figura 21	– Curvas de TGA (a) e DTG (b) de GGD e seus derivados oxidados em atmosfera de ar sintético.....	48
Figura 22	– Tempo de gelificação pelo método da barra magnética dos hidrogéis com diferentes graus de oxidação em várias razões (v/v) de GGOX/GELP na temperatura de 37 °C.....	50
Figura 23	– Determinação reológica do tempo de gelificação para os hidrogéis e GGOX80/GELP em diferentes razões, na temperatura de 37 °C.....	51
Figura 24	– Esquema da reação de reticulação das matrizes poliméricas GGOX e gelatina.....	52
Figura 25	– Representação esquemática da formação da base de Schiff.....	53
Figura 26	– Aminoácidos da gelatina envolvidos na reticulação com a goma guar oxidada.....	53
Figura 27	– Espectros na região do infravermelho dos hidrogéis GGOX80/GELP nas razões 20:80, 30:70 e 40:60.....	54
Figura 28	– G' em função do tempo para os hidrogéis GGOX80/GELP.....	55
Figura 29	– Curvas de TGA (a) e DTG (b) de GGOX80, GELP e dos hidrogéis GGOX/GELP nas razões 20:80, 30:70 e 40:60 em atmosfera de ar sintético...	57
Figura 30	– Micrografias da secção superficial dos hidrogéis de GGOX80/GELP nas razões 20:80 (a), 30:70 (b) e 40:60 (c).....	58
Figura 31	– Intumescimento dos hidrogéis GGOX80/GELP nas razões 20:80, 30:70 e 40:60 em tampão PBS.....	60
Figura 32	– Imagem do hidrogel GGOX80/GEL 40:60 antes e após 30 dias imersos em PBS.....	61
Figura 33	– Cinética de degradação in vitro das diferentes razões dos géis e GGOX80/GELP em PBS (pH 7,4) à 37 °C.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Materiais à base de gelatina e derivados dialdeídicos de polissacarídeos via reticulação base de <i>Schiff</i>	24
Tabela 2 – Relação entre o grau de oxidação teórico e quantidade de periodato de sódio.....	27
Tabela 3 – Teor de nitrogênio e proteínas.....	33
Tabela 4 – Massa molar de pico (M_{pk}) de GGP antes e após a degradação por ultrassom.....	36
Tabela 5 – Graus de oxidação teórico e experimental.....	39
Tabela 6 – Valores de massa molar de pico (M_{pk}) e volume de eluição (V_e) obtidos para GGD e seus derivados oxidados.....	45
Tabela 7 – Valor da viscosidade de GGD e de seus derivados a 25 °C na taxa de cisalhamento em 700 s ⁻¹	46
Tabela 8 – Parâmetros obtidos das curvas de TGA para a GGD e derivados oxidados em atmosfera de ar sintético.....	49
Tabela 9 – Tempo de gelificação para os hidrogéis formulados a partir de GGOX e GELP.....	52
Tabela 10 – Parâmetros obtidos a partir da análise reológica dos hidrogéis em 37 °C.....	56
Tabela 11 – Parâmetros obtidos das curvas de TGA para GGOX80, GELP e dos hidrogéis em diferentes razões em atmosfera de ar sintético.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FTIR	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho
Gal	Galactose
G'	Módulo de armazenamento
G''	Módulo de perda
GG	Goma Guar
GGP	Goma Guar Purificada
GGD	Goma Guar Degradada
GELP	Gelatina de porco
GGOX20	Goma Guar Oxidada 20%
GGOX50	Goma Guar Oxidada 50%
GGOX80	Goma Guar Oxidada 80%
GO	Grau de oxidação
GPC	Cromatografia de permeação em gel
Man	Manose
M/G	Razão manose/galactose
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
M _{pk}	Massa molar de pico
PBS	Tampão Fosfato
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
T _{gel}	Tempo de gelificação
TGA	Análise Termogravimétrica
V _e	Volume de eluição
W	Grau de intumescimento

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	Hidrogéis e aplicações biomédicas	16
1.2	Galactomananas	19
1.3	Goma Guar	20
1.4	Oxidação com periodato de sódio	21
1.5	Gelatina	23
2	OBJETIVOS	25
2.1	Objetivo Geral	25
2.2	Objetivos específicos	25
3	MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1	Materiais	26
3.2	Purificação da goma guar	26
3.3	Degradação da goma guar em ultrassom	26
3.4	Oxidação da goma guar com periodato de sódio	26
3.5	Caracterização da goma guar, goma guar degradada e derivados oxidados	27
3.5.1	<i>Análise elementar – teor de proteínas</i>	27
3.5.2	<i>Espectroscopia de absorbância na região do infravermelho (FTIR)</i>	27
3.5.3	<i>Ressonância magnética nuclear (RMN)</i>	28
3.5.4	<i>Cromatografia de permeação em gel (GPC)</i>	28
3.5.5	<i>Reologia de Fluxo</i>	28
3.5.6	<i>Análise Termogravimétrica (TGA)</i>	28
3.5.7	<i>Determinação do grau de oxidação por titulação potenciométrica</i>	29
3.6	Preparação e caracterização dos hidrogéis de GGOX/GELP	29
3.6.1	<i>Tempo de Gelificação</i>	30
3.6.2	<i>Espectroscopia de absorbância na região do infravermelho (FTIR)</i>	31
3.6.3	<i>Reologia</i>	31
3.6.4	<i>Análise Termogravimétrica (TGA)</i>	31
3.6.5	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	31
3.6.6	<i>Intumescimento</i>	32
3.6.7	<i>Degradação</i>	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33

4.1	Degradação da goma guar em ultrassom.....	33
4.1.1	<i>Análise elementar – teor de proteínas.....</i>	33
4.1.2	<i>Espectroscopia de absorbância na região do infravermelho (FTIR).....</i>	34
4.1.3	<i>Ressonância magnética nuclear (RMN).....</i>	35
4.1.4	<i>Cromatografia de permeação em gel (GPC).....</i>	36
4.1.5	<i>Reologia de Fluxo.....</i>	37
4.1.6	<i>Análise Termogravimétrica (TGA).....</i>	37
4.2	Caracterização dos derivados oxidados.....	38
4.2.1	<i>Determinação do grau de oxidação por titulação potenciométrica.....</i>	38
4.2.2	<i>Espectroscopia de absorbância na região do infravermelho (FTIR).....</i>	40
4.2.3	<i>Ressonância magnética nuclear (RMN).....</i>	41
4.2.4	<i>Cromatografia de permeação em gel (GPC).....</i>	44
4.2.5	<i>Reologia de Fluxo.....</i>	45
4.2.6	<i>Análise Termogravimétrica (TGA).....</i>	47
4.3	Caracterização dos hidrogéis.....	49
4.3.1	<i>Tempo de Gelificação.....</i>	49
4.3.2	<i>Espectroscopia de absorbância na região do infravermelho (FTIR).....</i>	53
4.3.3	<i>Reologia.....</i>	54
4.3.4	<i>Análise Termogravimétrica (TGA).....</i>	56
4.3.5	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....</i>	58
4.3.6	<i>Intumescimento.....</i>	59
4.3.7	<i>Degradação.....</i>	60
5	CONCLUSÃO.....	64
	REFERÊNCIAS.....	65

1 INTRODUÇÃO

1.1 Hidrogéis e aplicações biomédicas

De acordo com a Sociedade Brasileira de Queimaduras, só no Brasil, cerca de um milhão de pessoas sofrem de queimaduras por ano, sendo que 200 mil procuram assistência hospitalar, 40 mil demandam hospitalização e cerca de 2.500 pacientes vão a óbito direta ou indiretamente em função de suas lesões. Dentre as lesões cutâneas mais comuns, queimaduras e úlceras são às que aparecem mais frequentemente (ARRUDA *et al.*, 2018).

Existe uma diversidade de materiais destinados ao tratamento de regeneração de pele custeado pelo governo, porém, o custo dos curativos e a necessidade de sua frequente troca torna o tratamento caro. Segundo Bagher *et al.*, 2020, mais de 6,5 milhões de pessoas apresentaram feridas crônicas e não cicatrizantes, cujo custo anual de tratamento excede 25 bilhões de dólares nos Estados Unidos. Um dos grandes desafios da pesquisa nessa área, consiste no desenvolvimento de biomateriais que apresentem um conjunto de requisitos de forma a tornar a sua utilização viável, a partir de matérias-primas de baixo custo, fácil acesso e com características adequadas para a função destinada.

Nos últimos anos, a engenharia de tecidos está em progresso constante na preparação de *scaffolds* para aplicação biomédica. Uma variedade de curativos vem sendo desenvolvido na forma de membranas, nanofibras, filmes, espuma, hidrogel, entre outros (Zhu *et al.*, 2019). Hidrogéis são definidos como materiais poliméricos tridimensionalmente reticulados, que absorvem e retêm água e/ou fluídos biológicos sem se dissolver. A semelhança com a matriz extracelular dos tecidos (MEC), suporte para o crescimento celular e meio de transporte de nutrientes proporciona o aumento da viabilidade e proliferação celular, permitindo seu uso em diversas aplicações biomédicas, incluindo engenharia de tecidos, curativos e administração de medicamentos (PAN *et al.*, 2015).

Os hidrogéis como curativos vêm se destacando devido às suas características, tais como: (a) mantêm um ambiente úmido ao redor da ferida, (b) permitem a passagem de oxigênio e nutrientes ao tecido em desenvolvimento, (c) atuam como um substituto da pele e tendem a resistir à infecções de microrganismos, (d) possuem capacidade de absorver e reter os exsudatos da ferida e, ao mesmo tempo, promover a proliferação de fibroblastos e a formação do epitélio e (e) são facilmente removíveis sem causar dano ao ferimento (SAGHAZADEH *et al.*, 2018).

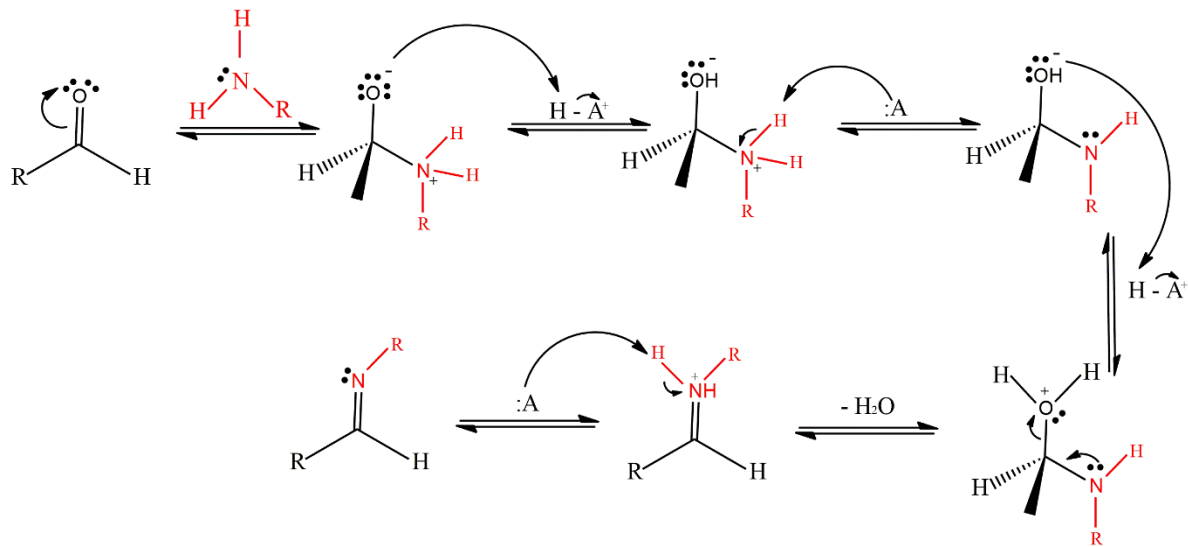
O fato dos hidrogéis apresentarem propriedades mecânicas e taxa de

intumescimento ajustáveis para atender a demanda de diferentes tecidos tornou esses materiais promissores no processo de cicatrização de feridas. Quando comparados à maioria dos curativos comerciais, a alta capacidade de retenção de água os tornam particularmente suaves para as feridas e sua natureza não pegajosa causam menos desconforto ao paciente e podem diminuir a dor durante o processo de cicatrização (SAGHAZADEH *et al.*, 2018).

Hidrogéis podem ser obtidos por meio de reticulações químicas (formação de ligação covalente entre os grupos funcionais das cadeias poliméricas) ou físicas. As ligações covalentes podem ser formadas por reações de *Michael*, reações de *Click*, reações via base de *Schiff*, entre outras. Os hidrogéis reticulados fisicamente são estabilizados por associações não covalentes tais como: forças eletrostáticas, ligações de hidrogênio e/ou interações hidrofóbicas (RADHAKRISHNAN *et al.*, 2017). Dentre os exemplos de reticulação química, a reticulação via base de *Schiff* apresenta a vantagem de ser uma reação rápida e processada em condições suaves (Li *et al.*, 2020).

As bases de *Schiff* são compostos provenientes da condensação de aminas (amina primária) com compostos carbonílicos (aldeídos e algumas cetonas) que dão origem ao grupo imina (-R-C=N-), em que o grupo substituinte é o H, alquil ou aril. Esta classe de substâncias foi primeiramente sintetizada por Hugo Schiff em 1864, e por essa razão recebeu seu nome. Elas são estáveis em condições básicas e neutras, porém susceptíveis à hidrólise em meio ácido. A Figura 1 apresenta o mecanismo para formação da base de *Schiff*.

Figura 1 - Mecanismo de formação de imina (base de *Schiff*) entre um aldeído e uma amina primária



Fonte: Adaptado de Klein, Vol. 2, 2016.

A reação se processa em condições brandas, podendo ser processadas em pH do meio fisiológico e tem somente água como subproduto (JIA; LI, 2015). Outra característica importante é a reversibilidade com a mudança de pH, podendo se degradar em ambientes ácidos. Portanto, os hidrogéis preparados a partir dessa reação têm excelentes perspectivas no campo biomédico, incluindo administração de medicamento, regeneração de tecidos, cicatrização de feridas, curativos, *bioprinting* e biossensores devido à sua simplicidade, reversibilidade, sensibilidade ao pH e biocompatibilidade (XIN; YUAN, 2012; XU; LIU; HSU, 2019).

Vários polímeros naturais e sintéticos, bem como suas combinações, têm sido utilizados na preparação de hidrogéis (CHEN *et al.*, 2017). Em particular, os polímeros naturais de diferentes fontes, como ácido hialurônico, pectina, alginato, gelatina, colágeno, dextrana e quitosana, apresentam algumas vantagens em relação aos polímeros sintéticos. São elas: alta biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade, semelhança com a matriz extracelular tecidual, e capacidade de direcionar o crescimento celular durante o processo de regeneração tecidual (MUZZARELLI *et al.*, 2012; YU *et al.*, 2013). Além disso, os polímeros naturais apresentam grupos funcionais em sua estrutura tais como: hidroxila, amino e/ou ácido carboxílico), o que os torna susceptíveis a vários tipos de modificações químicas, que são propícias para introdução de grupos reticuláveis ou bioativos nos polissacarídeos precursores (PARK; WOO; LEE, 2014).

Geralmente, são necessárias modificações químicas para a introdução dos grupos aldeídicos nos polímeros naturais para a síntese de hidrogéis via reação base de *Schiff*. Os polímeros podem ser modificados através da oxidação com periodato de sódio, na qual ocorre a conversão de dióis vicinais em grupos aldeído. A introdução desses grupos permite que esses biopolímeros possam atuar como um agente macroreticulante para outros polímeros que contenham em sua estrutura grupos amino (como quitosana, gelatina e colágeno).

1.2 Galactomananas

Galactomananas são heteropolissacarídeos neutros encontrados no endosperma de sementes da família *Leguminosae*, que desempenham o papel de reserva. São compostas por uma cadeia principal formada por unidades monossacarídicas de β -D-manopiranoose unidas por ligações glicosídicas (1 \rightarrow 4), substituídas em O-6, por unidades monossacarídicas de α -D-galactopiranoose (CERQUEIRA *et al.*, 2011; ALBUQUERQUE *et al.*, 2014).

Embora as galactomananas sejam extraídas de diferentes espécies e apresentem a mesma estrutura básica, elas variam em relação à razão manose/galactose (M/G), massa molar e distribuição de unidades de galactose ao longo da cadeia principal. Geralmente, as galactomananas com maior teor de galactose são solúveis em água, e apresentam a menor capacidade de formação de gel. Às que têm o maior teor de manose apresentam tendência de interagir com outros polissacarídeos (VEDRUSCOLO *et al.*, 2009; PRAJATI *et al.*, 2013).

As galactomananas se destacam devido à sua capacidade de formar soluções altamente viscosas, mesmo em concentrações baixas, que são afetadas pelo pH, força iônica e temperatura. Devido às propriedades físico-químicas e reológicas, essas gomas têm sido alvo de intensas pesquisas, principalmente na área industrial e acadêmica, sendo amplamente usadas na indústria farmacêutica, têxtil, de cosméticos e alimentos, entre outras (SHAHBUDDIN *et al.*, 2013; SHARMA *et al.*, 2018).

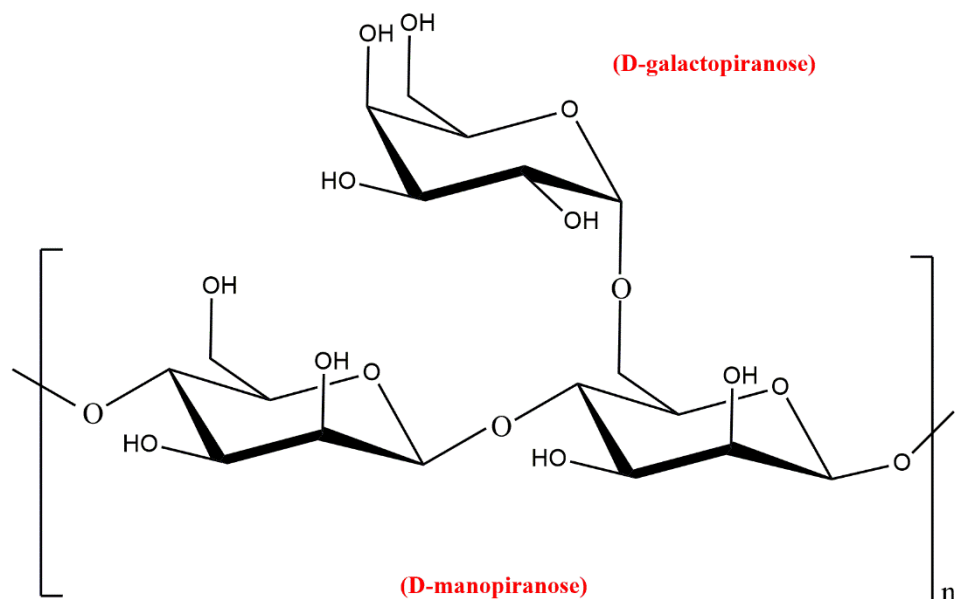
As principais fontes de galactomananas comerciais são: a goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*, razão M/G 2:1), goma alfarroba (*Ceratonia siliqua*, razão M/G 3,5:1) e goma tara (*Caesalpinia spinose*, razão M/G 3:1) (FRANCO *et al.*, 2013), com um consumo estimado de 70 a 80 e 12 a 14 mil toneladas por ano para as duas primeiras gomas. Dentre essas fontes de galactomanana, a goma guar se destaca pela facilidade de obtenção e baixo custo.

1.3 Goma Guar (GG)

A goma guar é obtida a partir do endosperma das sementes de *Cyamopsis tetragonolobus*, pertencente à família *Leguminosae*. Ele é composto por cerca de 80% de galactomanana, 12% de água, 5% de proteínas, 2% de cinzas e 0,7% de gordura (GEORGE; SHAH; SHRIVASTAV, 2019).

Geralmente, a planta guar é cultivada nos subcontinentes indianos e no hemisfério sul, como nas regiões semiáridas do Brasil, África do Sul e Austrália. Ela ainda pode ser encontrada no sul dos Estados Unidos (Texas e Arizona). Índia e Paquistão são responsáveis por 90% da produção mundial de goma guar, sendo 80% fabricados apenas pela Índia. Estima-se que nos anos de 2013 – 2014, cerca de 650 mil toneladas de goma guar foram produzidas pela Índia, das quais 601 mil toneladas foram comercializadas e mais de 50% exportada para os Estados Unidos. Atualmente, a goma guar apresenta um mercado mundial anual estimado de 150 mil toneladas (THOMBARE *et al.*, 2016; SHARMA *et al.*, 2018). Alguns autores relataram a relação M/G para a goma guar de 1,6:1 a 1,8:1, mas a relação de aproximadamente 2:1 também é relatada (Figura 2) (THOMBARE *et al.*, 2016; DRESSLER *et al.*, 2003).

Figura 2 - Estrutura da goma guar com razão M/G de 2:1



Fonte: elaborada pela autora.

A goma guar é um produto extensivamente usado em vários setores da indústria, especialmente por formar soluções altamente viscosas, mesmo em baixas concentrações, devido a sua alta massa molar. Apresenta, também, capacidade de hidratar-se em água fria, caráter não-iônico e interações intermoleculares, através de ligações de hidrogênio. Além disso, a goma guar é um material não tóxico, adequada ao consumo humano e aplicações biomédicas (SHAHBUDDIN *et al.*, 2013).

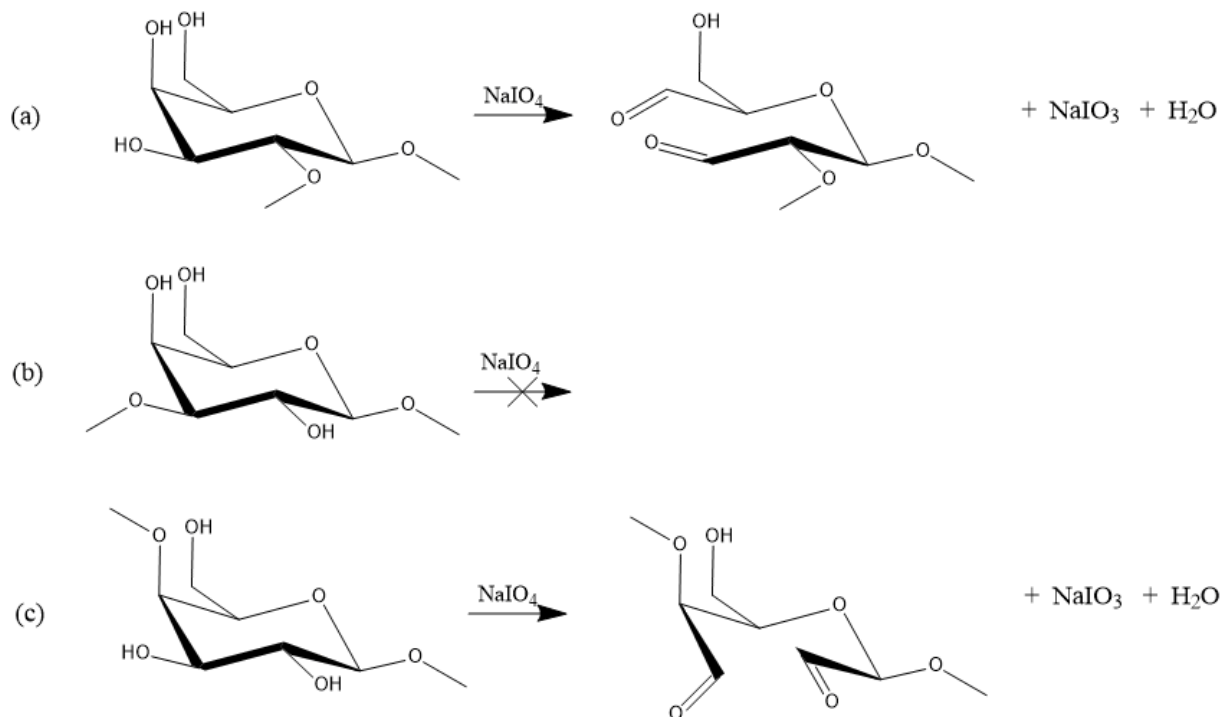
A galactomanana pode ser quimicamente modificada por apresentar grupos hidroxila disponíveis ao longo da sua cadeia, o que amplia suas perspectivas de aplicação, como em alimentos, tintas e pigmentos, campo petrolífero, papel, tratamento de água e indústrias farmacêuticas (SHARMA *et al.*, 2018). Alguns dos derivados da GG reportados na literatura são: carboximetil (DODI *et al.*, 2011), hidroximetil (LAPASIN *et al.*, 1991), hidroxipropil (LAPASIN *et al.*, 1995), O-carboximetil O-hidroxipropil (SHI; ZHANG, 2007), goma guar oxidada com TEMPO (CASTRO *et al.*, 2016), oxidada com periodato de sódio (LIMA *et al.*, 2020; VARMA *et al.*, 1997), goma guar sulfatada (VISMARA *et al.*, 2012), entre outros.

1.4 Oxidação com periodato de sódio

A oxidação com periodato de sódio é considerada como um método simples e clássico, bastante utilizado na caracterização e elucidação estrutural de carboidratos complexos (BRUNEEL; SCHACHT, 1993). A reação com o periodato permite a introdução de grupos dialdeídos em polissacarídeos ou glicoproteínas (KRISTIANSEN, K.; POTTHAST; CHRISTENSEN, 2010).

A oxidação de polissacarídeos com periodato é seletiva e envolve a conversão de hidroxilas vicinais em grupos dialdeídos. A Figura 3 mostra a seletividade do íon periodato em relação à unidade de galactose e os produtos dialdeídicos obtidos a partir de diferentes padrões de ligação. A única situação em que a unidade monossacarídica não é oxidada pelo íon periodato é a representada pela Figura 3b. Nessa situação, a unidade de galactose apresenta padrão de ligação 1→3, não contendo assim hidroxilas vicinais.

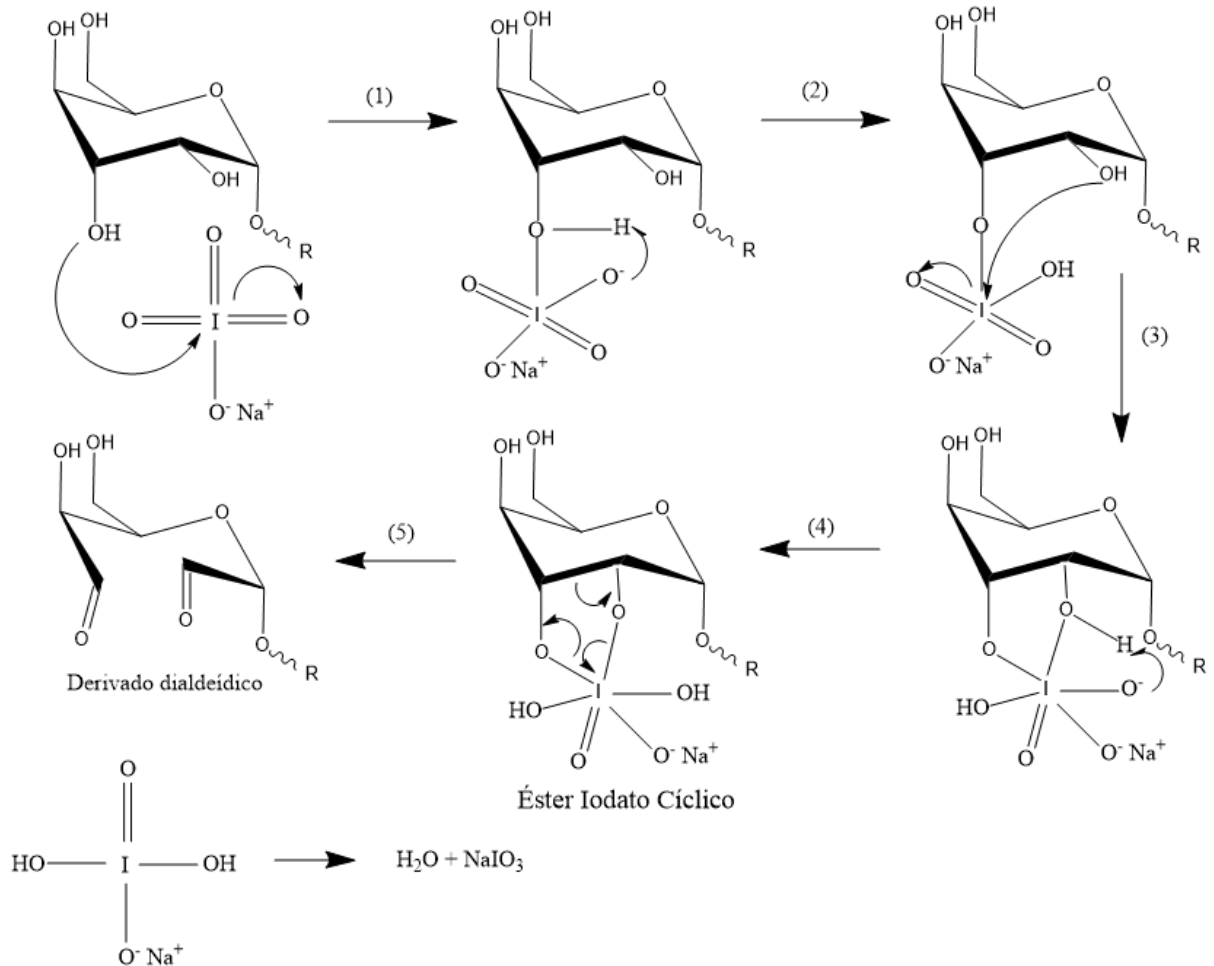
Figura 3 - Seletividade da reação do periodato com unidades de açúcar com diferentes padrões de ligação: resíduos ligados 1→2 (a), 1→3 (b) e 1→4 (c)



Fonte: Adaptado de Kristiansen *et al.* (2010).

No caso de unidades glicosídicas contendo três hidroxilas vicinais, uma dupla oxidação poderá ocorrer tendo 1 mol de ácido fórmico como subproduto, mediante consumo de dois mols de periodato (BRUNEEL; SCHACHT, 1993; KRISTIANSEN; POTTHAST; CHRISTENSEN, 2010). O mecanismo de oxidação de uma unidade de galactose pelo íon periodato é mostrado na Figura 4. Esse mecanismo envolve a formação de um intermediário de 5 membros chamado de éster iodato cíclico (etapa 4), seguido da clivagem de ligação concertada para gerar os derivados dialdeídos (etapa 5). Para que a reação se processe, os grupos hidroxila adjacentes devem estar orientados na posição equatorial-equatorial ou axial-equatorial. Dióis vicinais quando orientados na posição rígida trans axial-axial impedem a reação, pois não é possível a formação do intermediário reacional cíclico (éster iodato cíclico) (WANG *et al.*, 2013; KRISTIANSEN; POTTHAST; CHRISTENSEN, 2010).

Figura 4 - Mecanismo proposto para oxidação de uma unidade de galactose pelo íon periodato



Fonte: elaborada pela autora.

Nos últimos anos, a modificação de polissacarídeos usando periodato de sódio tem sido amplamente relatada na literatura. Alguns polissacarídeos estudados são: galactomanana de *Delonix regia* (LIMA *et al.*, 2020), goma do cajueiro (Maciel *et al.*, 2019), alginato (BALAKRISHNAN; JAYAKRISHNAN, 2005; JEJURIKAR *et al.*, 2012), celulose (DASH *et al.*, 2013; KIM *et al.*, 2017), dextrana (WEI *et al.*, 2018), carboximetilcelulose (JIANG *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2016), goma xantana (GUO, *et al.*, 2014), pululana (BRUNNEEL; SCHACHT, 1993; ZHANG *et al.*, 2019), escleroglucana (CHRISTENSEN; AASPRONG; STOKKE, 2001), entre outros.

1.5 Gelatina

A gelatina é uma proteína natural obtida a partir da hidrólise parcial do colágeno, que é um constituinte da matriz extracelular dos animais vertebrados, como pele, ossos e

cartilagens. As fontes mais abundantes de gelatina são: pele de porco (46%), pele bovina (29,4%), carne suína e bovina (23,1%) e peixes (1,5%) (GÓMEZ-GUILLÉN *et al.*, 2011; HASAN *et al.*, 2018).

A obtenção da gelatina depende da matéria-prima do colágeno utilizada (como a fonte e idade do animal), processo de desnaturação e tipo de colágeno, composição e propriedades (GÓMEZ-GUILLÉN *et al.*, 2011). A gelatina origina-se da dissociação térmica das cadeias polipeptídicas do colágeno. O colágeno insolúvel é convertido em gelatina solúvel através de hidrólise ácida ou básica. Esse processo pode resultar em dois diferentes tipos de gelatina: Tipo A e Tipo B, obtidas a partir de um pré-tratamento ácido e básico, respectivamente (DUONSEILLE *et al.*, 2015).

Como todas as proteínas, a gelatina é composta de L-aminoácidos unidos por ligações peptídicas e é constituída por uma sequência de tripeptídeos, glicina –X-Y, onde X e Y podem ser qualquer um dos aminoácidos que compõem a gelatina. A prolina tem preferência pela posição X e a hidroxiprolina pela posição Y (DUONSEILLE *et al.*, 2015).

A gelatina é uma biopolímero extremamente versátil, produzida em larga escala a baixo custo. Suas principais características são: solubilidade em água e capacidade de formação de gel termo-reversível, além da capacidade de formar filmes e membranas. Por essas razões é muito utilizada nas indústrias alimentícia, cosmética, farmacêutica, entre outras (GHOSH *et al.*, 2018).

Na área biomédica, tem sido reportada sua utilização como biomaterial em engenharia de tecidos, curativos e liberação de fármacos, principalmente devido à sua excelente biodegradabilidade, biocompatibilidade, baixa toxicidade, propriedades de adesão e proliferação celular (PINTILIESCU-GASPAR; STANCIUC; CRACIUNESCU, 2019). Apesar dessas vantagens, a aplicação da gelatina é limitada em temperatura fisiológica, pois a mesma se torna líquida, degrada-se rapidamente e apresenta propriedades mecânicas muito baixas, limitando assim seu uso em aplicações clínicas (HASAN *et al.*, 2018; PAN *et al.*, 2015). Essa limitação pode ser superada pela reticulação química usando diferentes agentes reticulantes, como o formaldeído, glutaraldeído, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropilo) -carbodiimida (EDC) e genipina. No entanto, alguns deles apresentam citotoxicidade e baixa compatibilidade (ZHANG *et al.*, 2019).

Uma alternativa viável para contornar tal problemática é a reticulação química da gelatina com polissacarídeos oxidados, obtendo, assim, materiais biocompatíveis e biodegradáveis, sem o uso de agentes reticulantes tóxicos. Várias combinações de gelatina e derivados dialdeídos são reportados na literatura, como pode ser visto na Tabela 1.

Tabela 1 – Materiais à base de gelatina e derivados dialdeídicos de polissacarídeos via reticulação base de *Schiff*

Polissacarídeo			[GEL] ^c %	OX:GEL ^d	Aplicação	Referência
Nome	% (m/v) ^a	GO ^b				
Goma do Cajueiro	5	17, 45 e 70%	5	1:1	Engenharia de tecidos	Maciel <i>et al.</i> , 2019
Salecan	5	10,6%	5	4:1; 3:1; 2:1; 1:1; 1:2; 1:3 e 1:4	Liberação de fármacos	Fan <i>et al.</i> , 2020
Dextrana	10	41%	20	3:7; 4:6; 5:5; 6:4 e 7:3	Engenharia de tecidos	Pan <i>et al.</i> , 2015
Pululana	1, 2, 3, 4 e 5	-	10	1:1	Aplicações biomédicas	Zhang <i>et al.</i> , 2019
Alginato de sódio	5	33%	5	70:30; 60:40; 50:50; 40:60 e 30:70	Engenharia de tecidos	Sarker <i>et al.</i> , 2014
Sulfato de condroitina	10	20, 40, 60 e 80%	20	1:1	Curativos	Dawlee <i>et al.</i> , 2005
Nanocristal de celulose	1, 2, 3 e 4	49,39%	8	2:8; 3:8 e 4:8	Engenharia de tecidos	Jiang <i>et al.</i> , 2018
Xantana	1%	7,88; 22,52; 32,75 e 45,03%	10	1:1	Engenharia de Alimentos	Guo <i>et al.</i> , 2014
Succinoglicana	1, 2 e 3	85%	10	1:1	Aplicações biomédicas	Kim <i>et al.</i> , 2020

Fonte: elaborada pela autora.

^aConcentração % (m/v)

^bGrau de oxidação experimental

^cConcentração da Gelatina % (m/v)

^dProporçãoderivado dialdeídico:gelatina (v/v)

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Preparar e caracterizar hidrogéis à base de goma guar oxidada e gelatina com potencial aplicação em curativos.

2.2 Objetivos Específicos

- Reduzir a massa molar da goma guar.
- Caracterizar a goma guar degradada por Análise Elementar, Espectroscopia de Absorção na Região do infravermelho (FTIR), Ressonância Magnética Nuclear (RMN de ^1H), Cromatografia de Permeação em Gel (GPC), Reologia de Fluxo e Análise Termogravimétrica (TGA).
- Modificar a goma guar degradada por oxidação com periodato de sódio (NaIO_4) em diferentes graus de oxidação.
- Caracterizar os derivados oxidados obtidos por meio de FTIR, RMN de ^1H e ^{13}C , GPC, Reologia de Fluxo e TGA.
- Preparar hidrogéis a partir da goma guar oxidada e da gelatina (GELP) por reticulação via formação de base de *Schiff*.
- Avaliar a influência do grau de oxidação e da razão dos hidrogéis de GGOX/GELP quanto a estrutura e propriedades reológicas.
- Caracterizar os hidrogéis obtidos por tempo de gelificação, FTIR, reologia, análise termogravimétrica (TGA), microscopia eletrônica de varredura (MEV), intumescimento e degradação.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Os solventes e reagentes utilizados foram: Gelatina tipo A (obtida de pele de porco, 300 bloom) e Goma Guar (Sigma), álcool etílico (Synth), cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$) e periodato de sódio (NaIO_4) (Dinâmica). Etileno glicol ($\text{CH}_2\text{OHCH}_2\text{OH}$), biftalato de potássio ($\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$), fosfato de sódio monobásico (NaH_2PO_4), fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4), hidróxido de sódio (NaOH) e acetona foram oriundos da Vetec.

3.2 Purificação da goma guar

A goma guar passou por uma etapa de reprecipitação para retirada das eventuais impurezas ou contaminantes. O procedimento foi realizado como descrito a seguir: pesou-se cerca de 20 g da goma e dissolveu-se em 2 L de água destilada sob agitação mecânica (250 rpm) por 48 horas na temperatura ambiente ($\sim 28^\circ\text{C}$). Logo após, a solução foi centrifugada a 6000 rpm por 30 min. O sobrenadante foi recolhido e, em seguida, lentamente precipitado em álcool etílico comercial 96% na proporção de 1:3 (volume de solução de goma/volume de álcool) por 1 h. O precipitado de goma guar obtido foi coletado em funil de placa sinterizada (G2), lavado com etanol P.A (3x) e acetona P.A (2x) e seco com jato de ar quente. O material obtido foi denominado como GG. O processo de purificação da goma guar obteve um rendimento que variou entre 75 – 85%.

3.3 Degradação da Goma Guar em ultrassom

Inicialmente, foi realizado um processo de degradação da goma guar por irradiação ultrassônica para aumentar a solubilidade dos derivados oxidados. O processo de degradação da goma guar na concentração de 0,5% (m/v) foi realizado utilizando um reator ultrassônico VCX – 750 operando com potência média 20 W a 15°C por 30 minutos. O material obtido foi seco por liofilização e denominado como GGD.

3.4 Oxidação da Goma Guar

A reação de oxidação da goma guar degradada foi baseada na metodologia desenvolvida por Maciel et al., (2019), com algumas modificações. Foram adicionadas à

solução de goma guar degradada (0,5% m/v) quantidades distintas de periodato de sódio (NaIO_4) de modo a obter teoricamente graus de oxidação de 20, 50 e 80% (Tabela 2). A mistura reacional foi deixada sob agitação magnética por 6 horas protegida da luz. Em seguida, foi adicionado etilenoglicol em uma razão molar de 1:1 em relação ao NaIO_4 para interromper a reação. A mistura reacional foi dialisada contra água destilada durante 4-5 dias em membrana de celulose com limite de exclusão de $12.400 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, filtrada em funil de placa sinterizada (G2) e então, liofilizada. Os derivados oxidados obtidos foram chamados de GGOX20, GGOX50 e GGOX80, no qual os números 20, 50 e 80 fazem referência ao grau de oxidação teórico.

Tabela 2 - Relação entre o grau de oxidação teórico e quantidade de periodato de sódio

Derivado	Grau de oxidação teórico (%)	Nº de mols de NaIO_4 adicionado
GGOX20	20	$2,46 \times 10^{-3}$
GGOX50	50	$6,16 \times 10^{-3}$
GGOX80	80	$9,84 \times 10^{-3}$

Fonte: dados da pesquisa.

3.5 Caracterização da goma guar, goma guar degradada e derivados oxidados

3.5.1 Análise Elementar – Teor de proteínas

As amostras de goma guar (GG), goma guar purificada (GGP) e goma guar degradada (GGD), foram analisadas por microanálise elementar utilizando o equipamento Analisador Elementar - Perkin Elmer 2400 Series ii no modo CHN.

O teor de proteínas foi calculado pelo teor de nitrogênio, usando-se um fator de conversão de 5,85 (Azero e Andrade, 2002).

3.5.2 Espectroscopia de absorvância na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros de FTIR da GGP, GGD e dos derivados oxidados foram obtidos em pastilhas de brometo de potássio (KBr) em equipamento da Shimadzu modelo IRTracer - 100, operando numa faixa de $4000 \text{ a } 400 \text{ cm}^{-1}$.

3.5.3 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

As análises de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e (^{13}C) da GGP, GGD e dos derivados oxidados foram realizadas no equipamento Bruker Modelo Avance DRX500 a 70 °C, utilizando DSS como padrão interno. As amostras foram dissolvidas em D_2O na concentração de 0,025 g/mL.

3.5.4 Cromatografia de permeação em gel (GPC)

A massa molar de pico (M_{pk}) da GGP, GGD e dos derivados oxidados foi estimada por cromatografia de permeação em gel utilizando um cromatógrafo Shimadzu LC-20AD com detector de índice de refração RID-10A em temperatura ambiente. As análises foram realizadas com coluna linear PolySep (7,8 mm \times 300 mm), fluxo de 1,0 mL.min $^{-1}$, solução da amostra na concentração de 0,1% (m/v), tendo água como solvente e NaNO_3 0,1 mol.L $^{-1}$ como eluente. O volume injetado de amostra foi de 50 μL . Como padrão foi utilizada uma curva de pululanas (Shodex Denko®) com massa molar na faixa de $5,9 \times 10^3$ a $7,88 \times 10^5$ g. mol $^{-1}$.

3.5.5 Reologia de Fluxo

As propriedades reológicas de GGP, GGD e dos derivados oxidados na concentração de 5% m/v foram determinadas por reologia de fluxo em reômetro TA instruments modelo AR-550, com geometria do tipo cone-placa de diâmetro de 60 mm na faixa da taxa de cisalhamento de 0,1 a 1000 s $^{-1}$ a uma temperatura de 25 °C.

3.5.6 Análise Termogravimétrica (TGA)

O comportamento térmico da GGP, GGD e dos derivados oxidados foi analisado em equipamento X DTG-60H sob atmosfera de ar sintético, utilizando-se um fluxo de 40 mL/min. Foram utilizadas 5 mg de amostra em cadinho de alumina em uma faixa de 25 a 800 °C a uma razão de aquecimento de 10 °C/min.

3.5.7 Determinação do grau de oxidação por titulação potenciométrica

O grau de oxidação dos derivados oxidados, isto é, a percentagem de unidades monossacarídeas oxidadas de GG, foi determinado pelo método de titulação potenciométrica usando o cloridrato de hidroxilamina (ZHAO; HENDEL, 1991). Foram dissolvidos 50 mg de GGOX em 25 mL de cloridrato de hidroxilamina 0,25 mol.L⁻¹, sob agitação magnética por 24 horas à temperatura ambiente. A conversão de aldeídos em oximas (C=N-OH) foi seguida de titulação potenciométrica com NaOH 0,096 mol.L⁻¹, previamente padronizado com biftalato de potássio (KHC₈H₄O₄). A mudança de pH com a adição de volumes de NaOH foi registrada. O volume de equivalência foi determinado através da derivada segunda da curva titulométrica e o grau de oxidação (GO) pela Equação 1.

$$GO = \frac{162 \times V \times c \times 10^{-3}}{2m} \times 100\% \quad (1)$$

No qual V é volume da solução de NaOH consumido no ponto de equivalência, em mL; c é a concentração da solução de NaOH, em mol.L⁻¹; m é a massa de GGOX, em gramas; e 162 é a massa molar da unidade de repetição monossacarídica (manose ou galactose), em g.mol⁻¹.

As reações químicas ocorridas durante o processo de determinação do grau de oxidação estão representadas pelas Equações químicas 2, 3 e 4.



3.6 Preparação e caracterização dos hidrogéis de GGOX/GELP

Foram preparadas soluções de GGOX20, GGOX50, GGOX80 e GELP na concentração de 5% (m/v) usando tampão fosfato (PBS) 0,1 mol.L⁻¹ pH 7,4 como solvente. As soluções de GGOX50 e GGOX80 foram mantidas sob agitação magnética por 12 horas e, em seguida, aquecidas a 50 °C por 2 horas. A solução de GELP foi preparada intumescendo-se primeiramente o sólido por aproximadamente 10 minutos a temperatura ambiente e, em seguida, aquecendo-a a 50 °C por 40 minutos. A temperatura das soluções foi reduzida para 37 °C e, em seguida, as soluções de GGOX e GELP foram misturadas em diferentes razões

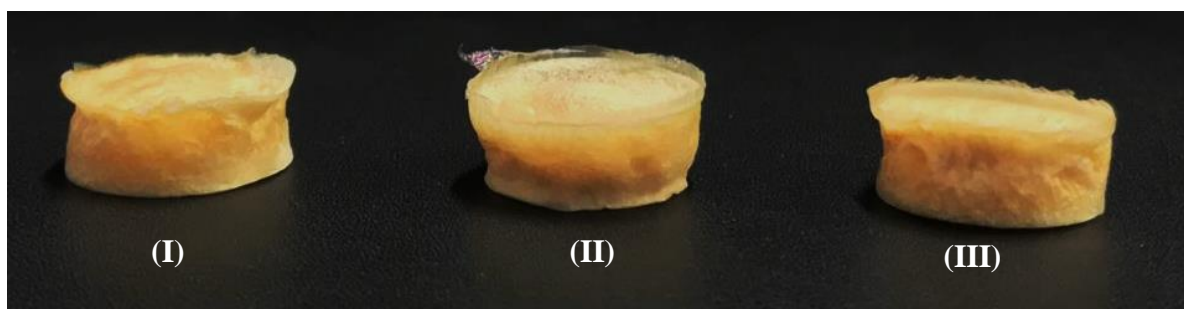
volume/volume (20/80, 30/70 e 40/60) perfazendo um volume total de 1 mL. Foram usados frascos cilíndricos com 2,5 cm de diâmetro e 3,5 cm de altura para armazenar os hidrogéis. Os hidrogéis foram deixados sob temperatura ambiente por 24 horas (Figura 5) e, em seguida, armazenados a -80 °C em ultra freezer Nuair por 24 horas e então liofilizados (Figura 6).

Figura 5 - Imagem do hidrogel pré-curado após 24 horas



Fonte: dados da pesquisa.

Figura 6 - Imagens dos hidrogéis GGOX80/GELP liofilizados - imagem transversal (I) 20:80, (II) 30:70 e (III) 40:60



Fonte: dados da pesquisa.

3.6.1 Tempo de gelificação

O tempo de gelificação foi determinado pelo método da barra magnética como descrito por Balakrishnan *et al.*, 2017. A análise foi feita usando um volume total de 300 μ L com o auxílio de uma barra magnética (diâmetro 3,3 mm, comprimento 10 mm) a 100 rpm a uma temperatura de 37 °C. O tempo requerido para a formação de um glóbulo foi anotado como tempo de gelificação. As análises foram realizadas em triplicata.

Os tempos de gelificação dos sistemas de GGOX80/GELP foram determinados

também por reologia, a partir do qual o módulo de armazenamento (G') e módulo de perda (G'') foram medidos em função do tempo por 4 horas.

3.6.2 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR)

Os espectros de FTIR dos hidrogéis secos foram obtidos em pastilhas de brometo de potássio (KBr) em equipamento Shimadzu IRTracer-100, operando numa faixa de 4000 a 400 cm^{-1} .

3.6.3 Reologia

Os sistemas GGOX80/GELP foram preparados de acordo com o procedimento 3.6 e, em seguida, foram deixados em repouso por 24 h para garantir a total gelificação. Os ensaios para determinação das propriedades mecânicas foram realizados em reômetro AR 550 TA Instruments com geometria de placa paralela (diâmetro, 40 mm), operando no modo oscilatório a uma frequência de 4Pa e 0,15 Hz (dados previamente escolhidos através de testes de rampa de tensão e frequência) à 37 °C. G' foi analisado em função do tempo por 20 minutos.

3.6.4 Análise Termogravimétrica (TGA)

O comportamento térmico de GGOX80, GELP e dos hidrogéis GGOX80/GELP foi analisado em equipamento X DTG-60H sob atmosfera de ar sintético, utilizando-se um fluxo de 40 mL/min. Foram utilizados 5 mg de amostra em cadinho de alumina em uma faixa de 25 a 800 °C a uma razão de aquecimento de 10 °C/min.

3.6.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A estrutura da superfície dos hidrogéis foi avaliada com o equipamento de Microscopia Eletrônica de Varredura Quanta - FEG FEI 450, operando com uma voltagem de aceleração de feixe de elétrons de 20 kV. Após liofilizados, os hidrogéis foram congelados em nitrogênio líquido para serem cortados e, em seguida, foram revestidos com ouro.

3.6.6 Intumescimento

O comportamento de intumescimento dos hidrogéis GGOX80/GELP foi analisado em solução de tampão fosfato (PBS pH 7,4) à temperatura ambiente. Os hidrogéis secos (M_1) e pesados foram imersos em 30 mL de solução tampão e retirados em intervalos de 10 minutos. As amostras foram retiradas, a superfície dos géis intumescidos foi seca cuidadosamente com papel filtro, e a sua massa medida (M_2). O grau intumescimento dos géis foi calculado a partir da Equação 5. O ensaio foi realizado em triplicata.

$$\text{Grau de Intumescimento } (W) = \frac{M_2 - M_1}{M_2} \quad (5)$$

3.6.7 Degradação

Os hidrogéis GGOX80/GELP liofilizados (M_1) e pesados foram imersos em 30 mL de tampão fosfato (PBS pH: 7,4) e colocados em incubadora a 37 °C com rotação de 100 rpm. A massa dos hidrogéis foi monitorada por 30 dias e em intervalos de tempo especificados (1, 3, 7, 14, 21 e 28 dias). Os hidrogéis foram cuidadosamente retirados e lavados com água destilada por 3 dias para remover a salinidade. Em seguida, eles foram liofilizados e pesados (M_2). O ensaio foi realizado em triplicata.

A degradação das amostras foi medida de acordo com a equação 6 após cada período de tempo:

$$\text{Degradação } (\%) = \frac{M_2}{M_1} \times 100 \quad (6)$$

onde, M_1 = peso inicial das amostras e M_2 = Peso final das amostras em cada intervalo de tempo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Degradação da Goma Guar em ultrassom

4.1.1 Análise Elementar – Teor de Proteína

O teor de proteínas das amostras da goma guar (GG), goma guar purificada (GGP) e goma guar degradada (GGD) foi calculado utilizando o fator de conversão de 5,87 a partir do teor de nitrogênio obtido por análise elementar, segundo Azero e Andrade (2002) (Tabela 3).

Tabela 3 - Teor de nitrogênio e proteínas

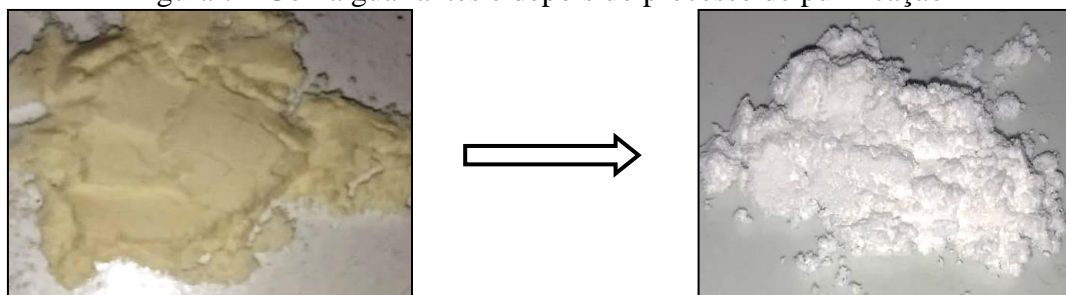
Amostra	% N	% Proteínas
GG	0,59	3,44
GGP	0,29	1,68
GGD	0,25	1,47

Fonte: dados da pesquisa.

A goma guar apresentou uma quantidade razoável de proteína (3,44%), valor este semelhante ao obtido por Cunha *et al.*, 2007. Esse teor elevado pode ser devido à presença de algumas impurezas ou contaminantes, oriundas do processamento da semente. Por isso, nesse trabalho realizou-se o processo de purificação para retirada desses eventuais resíduos. O teor de proteína de GGP reduziu pela metade, indicando que a etapa de purificação foi eficiente, como pode ser visto pela diferença de coloração das amostras (Figura 7).

O valor de GGD se mostrou semelhante ao obtido de GGP. Resultados próximos a esses foram encontrados por MUDGIL; BARAK; KHATKAR, 2012c para goma guar e goma guar hidrolisada parcialmente, cujos valores foram de 4,32 e 1,95 %, respectivamente.

Figura 7 - Goma guar antes e depois do processo de purificação



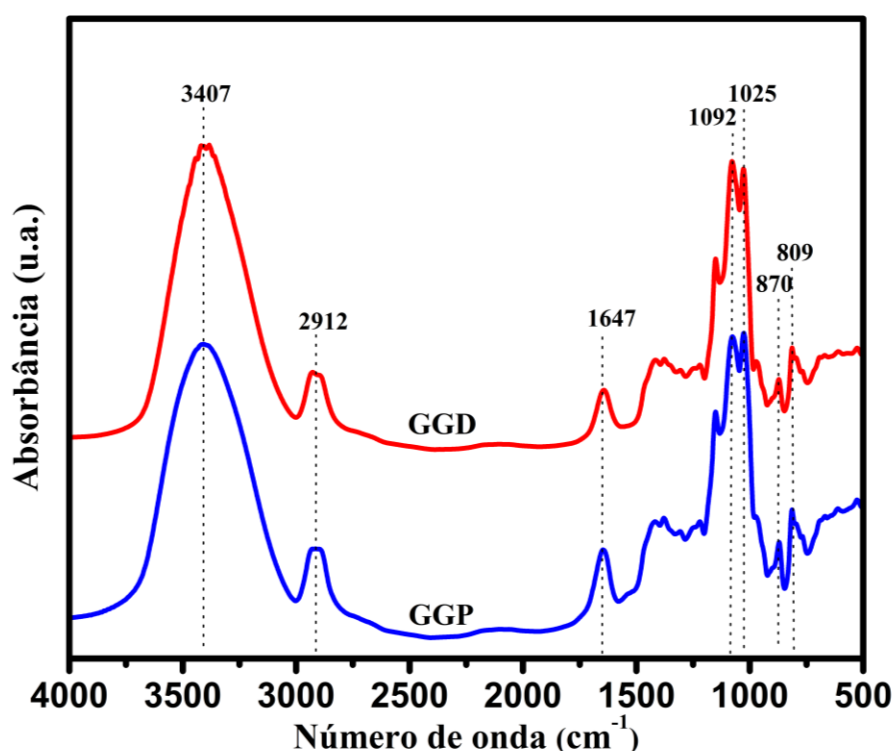
Fonte: elaborada pela autora.

4.1.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros de FTIR da goma guar purificada (GGP) e da goma guar degradada (GGD) são mostrados na Figura 8. O espectro de GGP apresentou bandas características, que estão em concordância com as estruturas típicas de galactomanana encontradas na literatura (SANTOS *et al.*, 2019; RAJPUT; PANDEY; JOSHI, 2015). A banda larga em aproximadamente 3407 cm^{-1} corresponde ao estiramento do grupo hidroxila proveniente das unidades polissacarídicas, enquanto a banda em 2912 cm^{-1} está associada a vibrações simétricas do grupo CH. A banda de absorção em 1647 cm^{-1} está relacionada à ligação O-H das moléculas de água e a banda em 1025 cm^{-1} à ligação C-O-C. Também foram observadas bandas em 809 e 870 cm^{-1} , que são atribuídas ao estiramento da ligação glicosídica das unidades de β -D-manopiranosose e α -D-galactopiranosose, respectivamente.

No espectro de GGD, os picos característicos permaneceram semelhantes aos da GGP. Essa semelhança entre os espectros indica que a estrutura química de GGD não foi modificada pela degradação por ultrassom. Resultados semelhantes foram obtidos por Buriti *et al.*, 2014 e Mudgil *et al.*, 2012c, que não encontraram modificações estruturais nos espectros de FTIR da *Caessalpinia pulcherrima* e goma guar após a hidrólise parcial com celulase de *A. niger*.

Figura 8 - Espectros na região do infravermelho de GGP e GGD



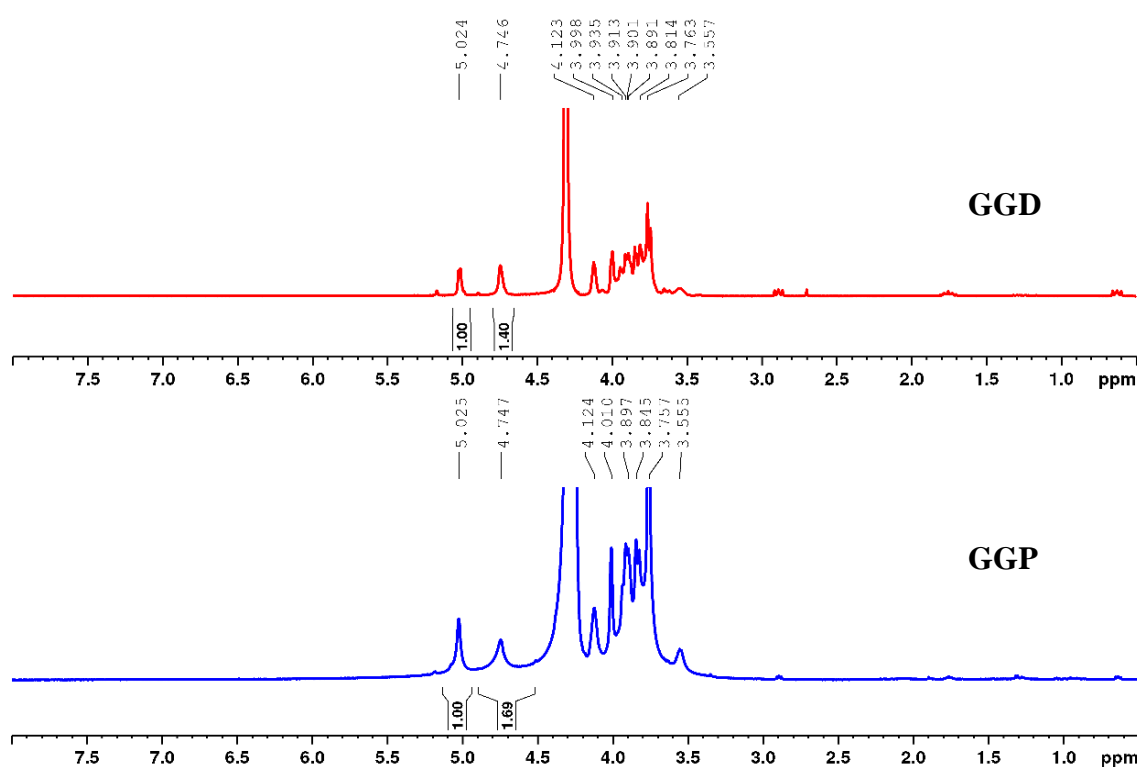
Fonte: dados da pesquisa.

4.1.3 Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H)

A Figura 9 apresenta o espectro de RMN ^1H de GGP e GGD. No espectro da goma guar purificada, os sinais dos prótons anoméricos em δ 5,02 e 4,75 ppm são atribuídos ao H-1 da α -D-galactose e β -D-manose, respectivamente. Os sinais dos prótons relacionados ao H-C2 e H-C6 da unidade de manose são observados em δ 4,12 e 3,56 ppm, respectivamente. Observa-se também, os sinais dos prótons relacionados ao H-C4 e H-C6 da unidade de galactose em δ 4,01 e 3,76 ppm, respectivamente. A relação Manose/Galactose (M/G), calculada a partir da integração na região dos sinais anoméricos, foi de 1,69:1, na faixa determinada por outros autores: 1,8 (SRIVASTAVA; KAPOOR, 2005), 1,67 (CUNHA *et al.*, 2007), 1,55 (DRESSLER *et al.*, 2003), 1,44 (MIYAZAWA; FUNAZUKURI, 2006) e 1,68 (AZERO; ANDRADE, 1999).

No espectro de GGD, os sinais foram observados em δ 5,02 e 4,75 ppm, valores semelhantes aos encontrados para GG. A razão M/G para essa amostra foi de 1,40:1, menor do que a encontrada para a GG, o que indica que houve quebra entre as unidades de manose na cadeia principal durante o processo de degradação. Esse comportamento também foi observado por Buriti *et al.*, 2014, que constataram redução de 3,65:1 para 3,24:1 para a galactomanana de *Caessalpinia pulcherrima* antes e após a hidrólise parcial, respectivamente.

Figura 9 - Espectros de RMN ^1H de GGP e GGD obtidos a 70 °C em D₂O

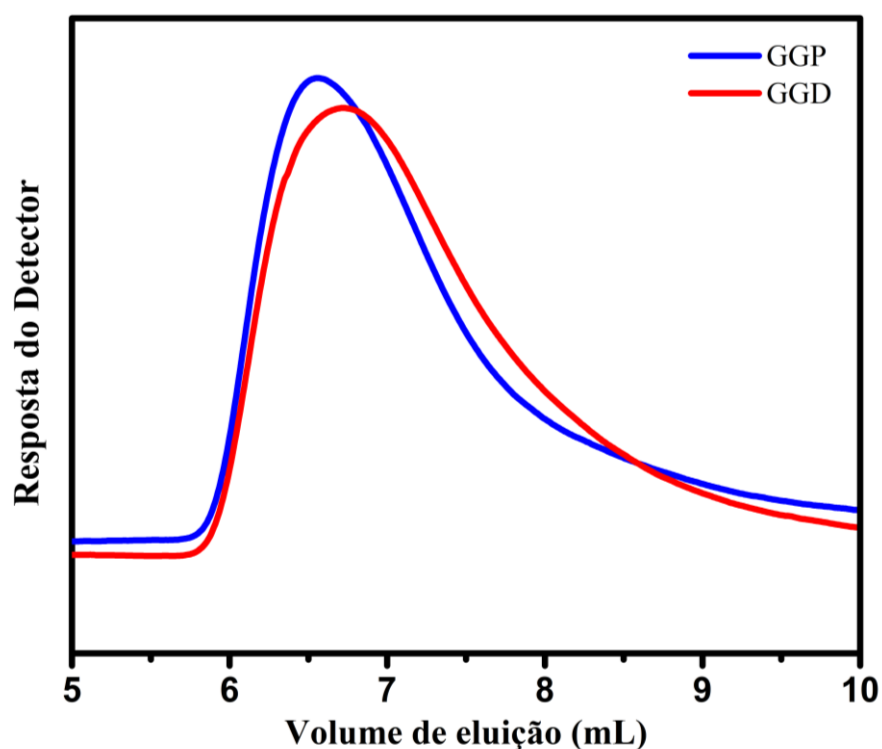


Fonte: dados da pesquisa.

4.1.4 Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

A Figura 10 mostra os cromatogramas de GGP e GGD. Eles apresentaram perfis unimodais. O pico de GGD foi deslocado para um maior volume de eluição, indicando uma redução na massa molar. A Tabela 4 mostra os volumes de eluição e os valores da massa molar de pico (M_{pk}). Nota-se que a degradação em ultrassom alterou a massa molar de pico da goma guar de $8,88 \times 10^6$ para $5,25 \times 10^6$ g.mol⁻¹, que corresponde a uma redução de 1,7 vezes.

Figura 10 - Cromatogramas para as amostras de GGP e GGD



Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 4 - Massa molar de pico (M_{pk}) de GGP antes e após a degradação por ultrassom

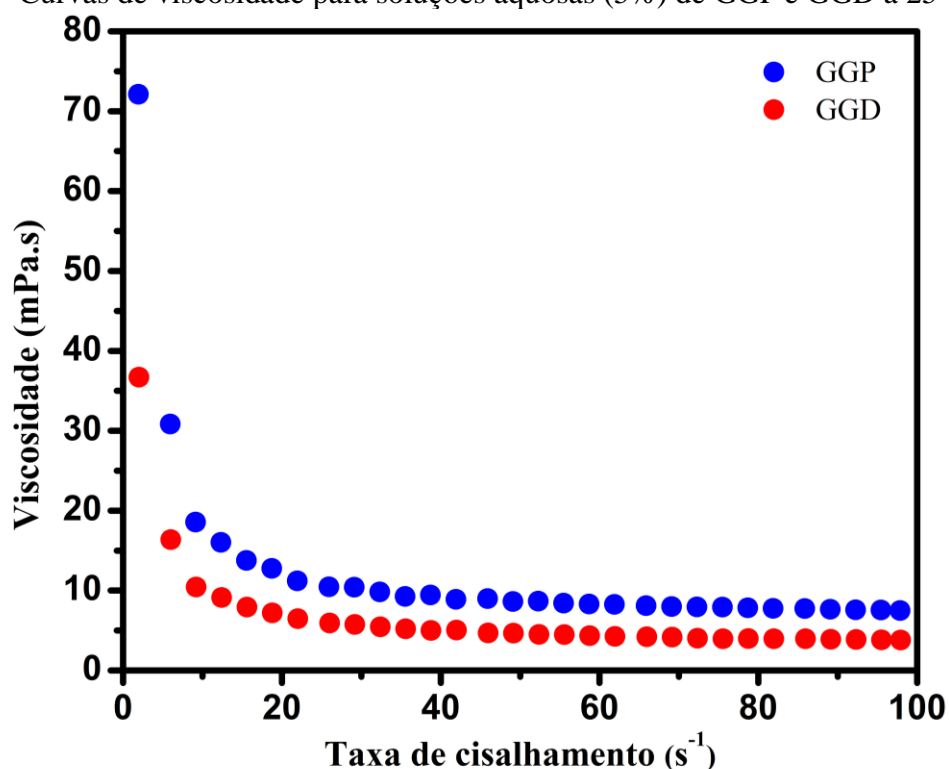
Amostra	Volume de eluição (mL)	M_{pk} (g/mol)
GGP	6,55	$8,88 \times 10^6$
GGD	6,75	$5,25 \times 10^6$

Fonte: dados da pesquisa.

4.1.5 Reologia

As curvas de viscosidades de GGP e GGD são ilustradas na Figura 11. Esse resultado corroborou com os resultados de GPC de diminuição da massa molar durante a sonicação, conseqüentemente, a viscosidade deve ser reduzida. Conseqüentemente, GGD apresentou viscosidade inferior em todo intervalo de varredura de cisalhamento. As duas amostras mostraram comportamento pseudoplástico, pois a viscosidade diminuiu com o aumento da taxa de cisalhamento.

Figura 11 - Curvas de viscosidade para soluções aquosas (5%) de GGP e GGD a 25 °C



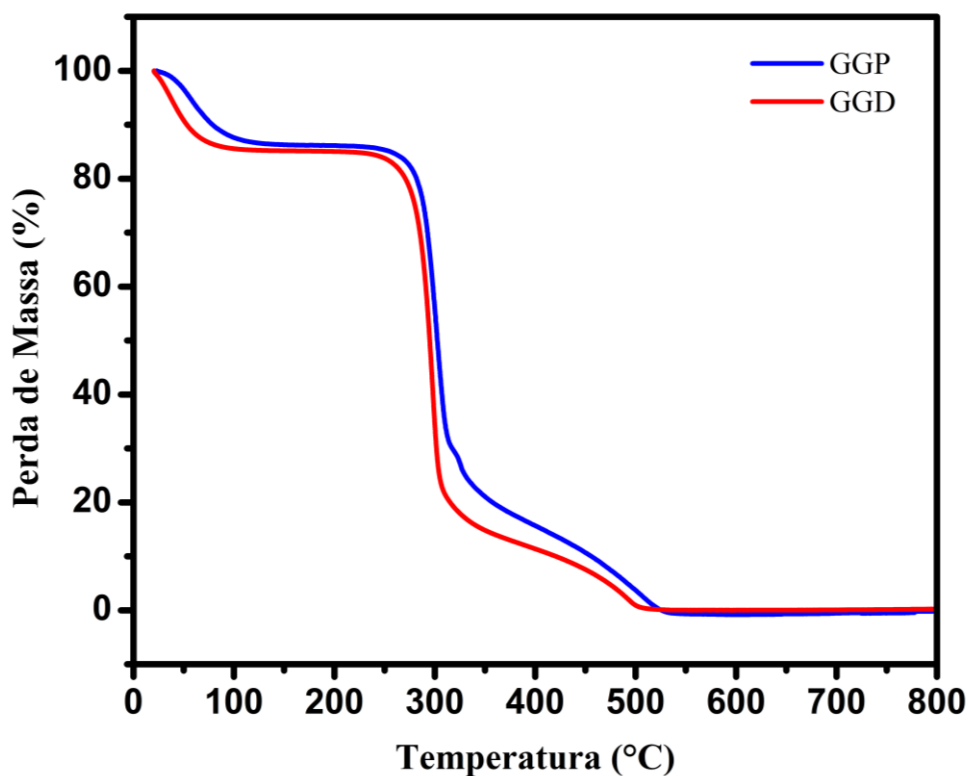
Fonte: dados da pesquisa.

4.1.6 Análise Termogravimétrica

As curvas termogravimétricas da goma guar purificada e da goma guar degradada encontram-se na Figura 12. Ambas, apresentaram comportamento semelhantes, com três eventos de perda de massa. O primeiro evento ocorreu a 40 e a 42 °C para GGP e GGD, respectivamente, e está relacionado com a perda de água. O segundo e terceiro eventos, próximos a 300 e 500 °C, respectivamente, correspondem à degradação do polissacarídeo. Os resultados também revelaram que não houve grandes alterações na estrutura química da goma

guar degradada, corroborando com os resultados de FTIR.

Figura 12 - Curva de TG de GGP e GGD em atmosfera de ar sintético

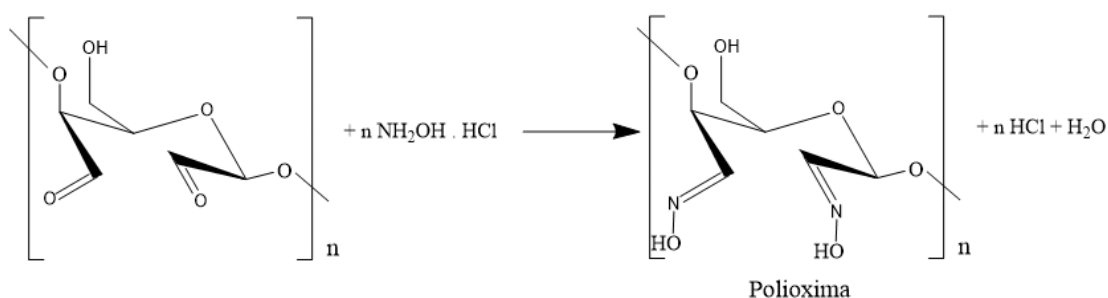


Fonte: dados da pesquisa.

4.2 Caracterização dos derivados oxidados

4.2.1 Determinação do grau de oxidação por titulação potenciométrica

O grau de oxidação representa a quantidade de unidades oxidadas por 100 unidades monossacarídicas, considerando dois grupos aldeídos por cada unidade. O teor de aldeído foi obtido pela titulação potenciométrica do HCl oriundo da reação entre o derivado oxidado com $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (Equação 1). A reação envolve um ataque nucleofílico do nitrogênio ao carbono carbonílico do resíduo da unidade de manose oxidada, levando à formação do derivado polioxímico ($-\text{C}=\text{N}-\text{OH}$) com a liberação de 1 mol de água e HCl como subprodutos (Figura 13). Para cada unidade oxidada são requeridos dois mols de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$.

Figura 13 - Reação entre uma unidade de manose oxidada e $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ 

Fonte: elaborada pela autora.

Os graus de oxidação dos respectivos derivados oxidados e os volumes de NaOH gastos para neutralizar o HCl liberado, obtidos pelo método da derivada segunda da curva titulométrica, são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5 – Graus de oxidação teórico e experimental

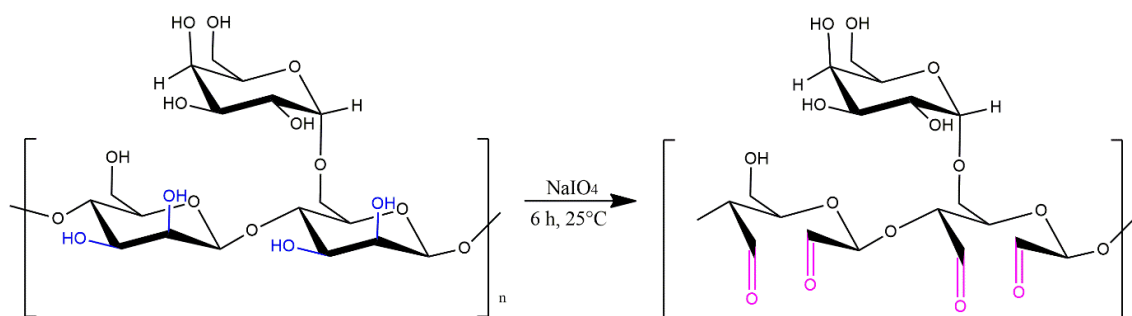
Amostra	Volume de NaOH (μL)	Grau de oxidação teórico (%)	Grau de oxidação experimental (%)	Rendimento em massa (%)
GGOX20	902	20	$12,7 \pm 0,2$	93,9
GGOX50	3125	50	$48,3 \pm 0,3$	81,1
GGOX80	5462	80	$61,1 \pm 0,6$	77,3

Fonte: dados da pesquisa.

Os resultados mostram que, com o aumento da quantidade molar de periodato de sódio, o teor de aldeído aumenta. No entanto, o grau de oxidação experimental foi sempre inferior ao valor teórico. Isso pode estar relacionado à formação de estruturas hemiacetálicas, que são obtidas a partir da reação de um álcool e um grupo aldeído próximo (GOMEZ; RINAUDO; VILLAR, 2007).

O rendimento das reações de oxidação (93 - 77%) estão em concordância com os valores reportados na literatura para polissacarídeos oxidados com periodato de sódio, tais como: alginato (90%) (BANIASADI *et al.*, 2016), goma arábica (80–85%) (SARIKA *et al.*, 2014) e goma do cajueiro (86-91%) (MACIEL *et al.*, 2019). O rendimento diminuiu à medida que o grau de oxidação aumentou e esse comportamento pode estar relacionado com o grau de depolimerização, que pode aumentar com o grau de oxidação. A perda de massa acontece no processo de diálise em que ocorre a saída dos compostos com baixa massa molar.

Figura 14 - Estrutura da goma guar oxidada

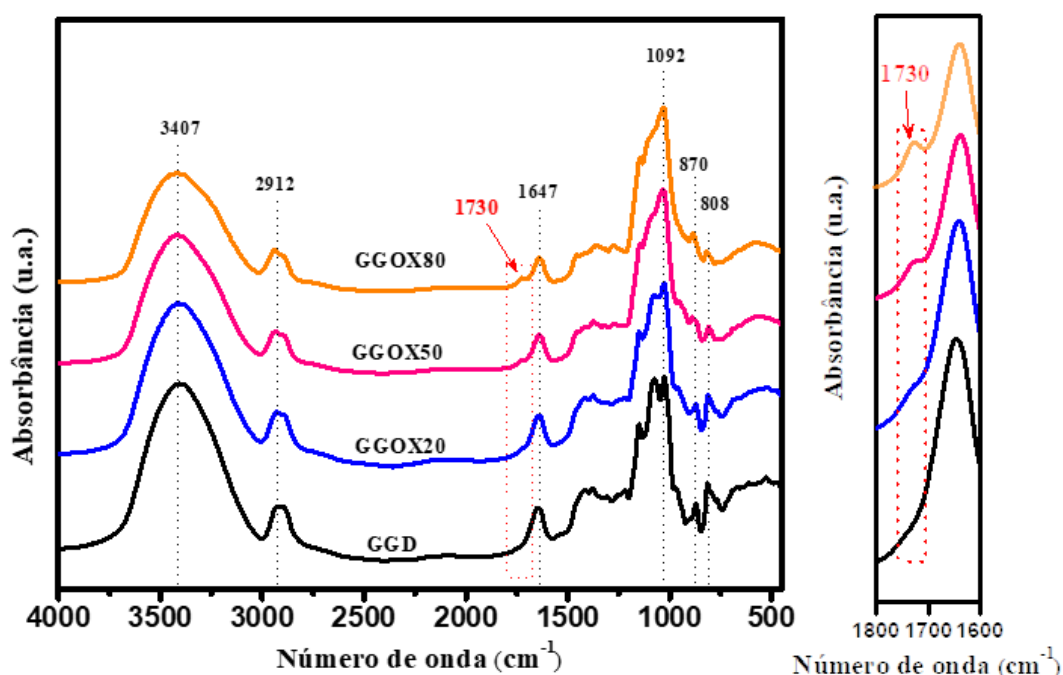


Fonte: elaborada pela autora.

4.2.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros de FTIR de GGD e dos derivados oxidados com periodato de sódio (GGOX) são mostrados na Figura 15. Os espectros dos diferentes derivados oxidados apresentaram bandas características do espectro de goma guar e uma nova banda em 1730 cm^{-1} , que é atribuída ao estiramento da ligação C=O de aldeído, confirmando a modificação. Foi observado que a intensidade relativa dessa banda está diretamente relacionada ao grau de oxidação, ou seja, quanto maior o grau de oxidação maior a intensidade relativa da mesma. Sua baixa intensidade é devido ao fato dos grupos aldeídos reagirem com os grupos hidroxilas adjacentes, formando estruturas hemiacetálicas (WU *et al.*, 2010; LIMA *et al.*, 2020).

Figura 15 - Espectros na região do infravermelho de GG e de seus derivados oxidados (a) $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ e (b) região ampliada entre $1800\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$



Fonte: dados da pesquisa.

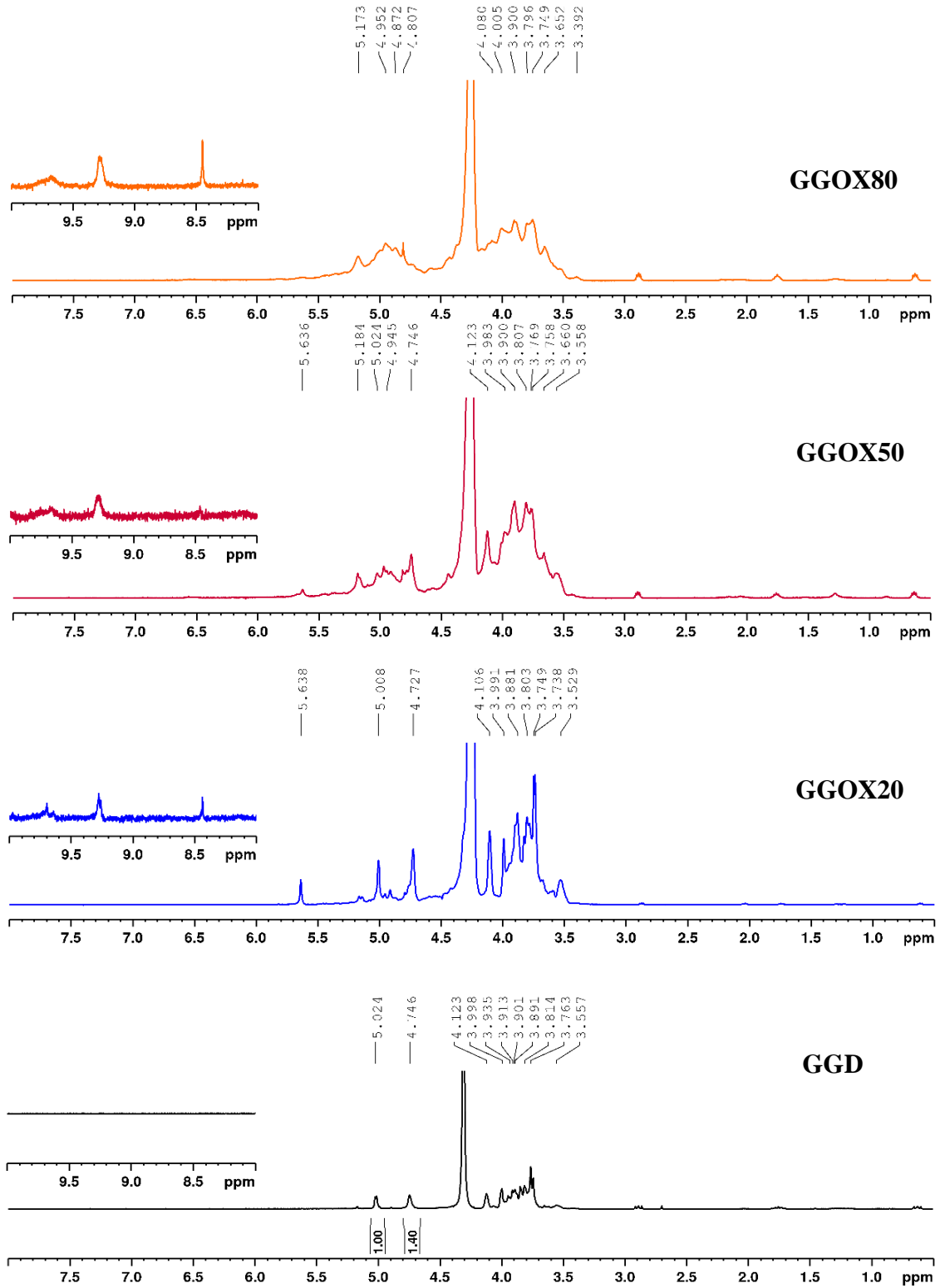
4.2.3 Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H e ^{13}C)

A Figura 16 apresenta o espectro de RMN ^1H para GGD e seus derivados oxidados. No espectro da goma guar degradada, os sinais dos prótons anôméricos em δ 5,02 e 4,75 ppm são atribuídos ao H-1 da α -D-galactose e β -D-manose, respectivamente. A relação Manose/Galactose (M/G), calculada a partir da integração na região dos sinais anoméricos, foi de 1,40:1.

Nos espectros dos derivados oxidados, observa-se o aparecimento de novos sinais na região de δ 4,7 a 5,2 ppm que correspondem aos prótons de carbonos anoméricos e estão relacionados à formação de estruturas hemiacetálicas. Esses sinais (Figura 16) se tornaram mais evidentes nos espectros dos derivados com grau de oxidação mais elevados (GGOX50 e GGOX80). Eles também foram observados nos espectros da galactomanana de *Delonix regia* (LIMA *et al.*, 2020), goma do cajueiro oxidada (MACIEL *et al.*, 2019), alginato oxidado (GOMEZ; RINAUDO; VILLAR, 2007) e succinoglicana oxidada (Kim *et al.*, 2020).

Observou-se, também, nos espectros de GGOX20 e GGOX50, o aparecimento de um novo sinal em 5,7 ppm, que também pode ser atribuído à formação de hemiacetais. Adicionalmente, é possível visualizar sinais de baixa intensidade em δ 8,5, 9,3 e 9,7 ppm para todos os derivados, atribuídos ao próton dos grupos aldeídico presentes após a oxidação. A baixa intensidade desses sinais pode ser explicada pelo fato dos grupos aldeídicos entrarem em equilíbrio com os hemiacetais (MACIEL *et al.*, 2019, YE *et al.*, 2017).

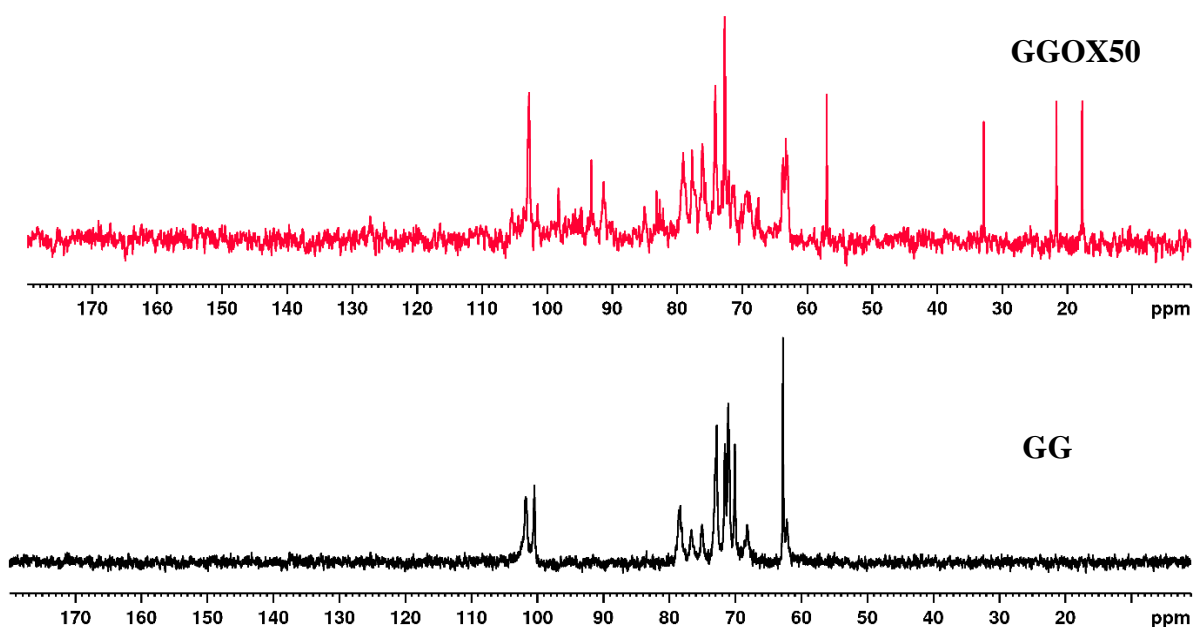
Figura 16 - Espectros de RMN ^1H de GGD e de seus derivados oxidados obtidos a 70°C em D_2O



Fonte: dados da pesquisa.

Os espectros de RMN ^{13}C da goma guar e da amostra GGOX50 são mostrados na Figura 17. O espectro de GG é semelhante obtido por de Cunha *et al.*, 2009, com sinais dos carbonos anoméricos em δ 101,9 e 100,6 ppm, atribuídos ao C-1 da β -D-manose e α -D-galactose, respectivamente. No espectro de GGOX50, observa-se o aparecimento de novos sinais na região de δ 80 a 100 ppm, relacionados à formação das estruturas hemiacetálicas. Esses sinais também foram observados nos espectros de alginato oxidado (GOMEZ; RINAUDO; VILLAR, 2005) e succinoglicana oxidada (Kim *et al.*, 2020).

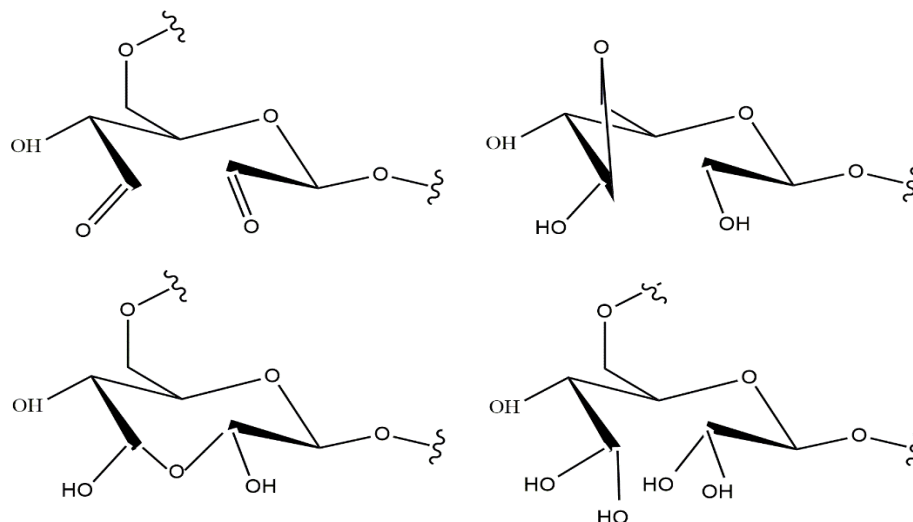
Figura 17 - Espectro de RMN ^{13}C de GG e GGOX50 obtidos a 70 °C em D_2O



Fonte: dados da pesquisa.

A Figura 18 mostra a formação dos diferentes tipos de derivados dialdeídicos. A formação destes tipos de estruturas é possível, devido à susceptibilidade do grupo carbonila em sofrer reações de adição nucleofílica. A seletividade do íon periodato em oxidar as hidroxilas vicinais, orientadas na posição axial-equatorial e/ou equatorial-equatorial, torna a hidroxila do C6 não disponível ao ataque do íon periodato. Esta pode atuar como nucleófilo, reagindo com a carbonila (C2 ou C4 da galactose; C2 ou C3 da manose). O produto desta reação são estruturas hemiacetálicas de seis membros, estáveis, intra e/ou intermoleculares

Figura 18 - Estruturas possíveis para derivados dialdeídicos: a) aldeídos livres, b) hemiacetal intramolecular c) hemiacetal e d) aldeídos hidratados



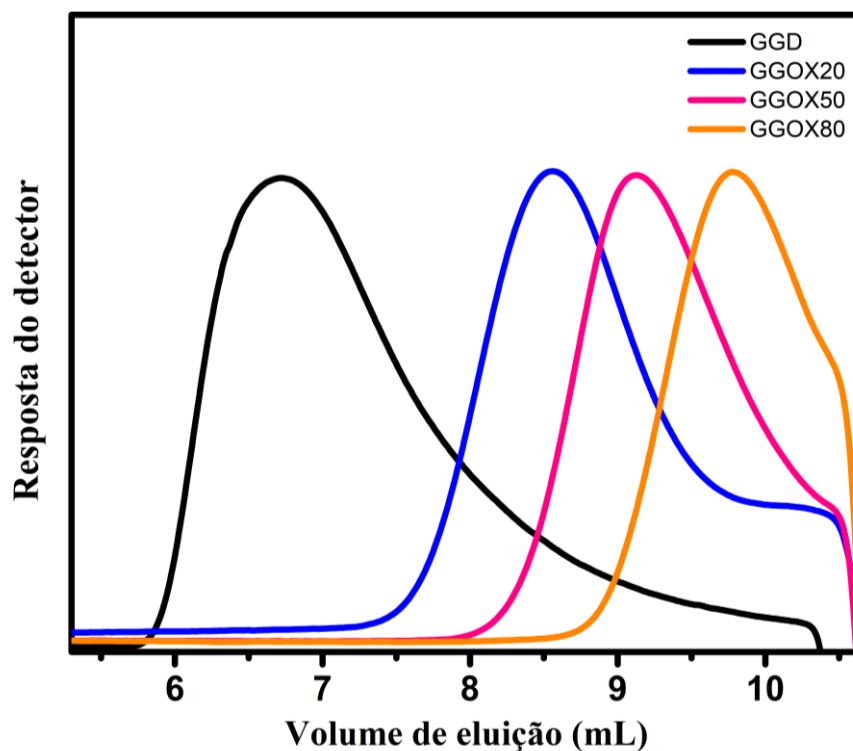
Fonte: Maciel et al (2019).

4.2.4 Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

A Figura 19 mostra os cromatogramas de GPC para a GGD e seus derivados oxidados. Os cromatogramas apresentaram perfis unimodais, com os cromatogramas dos derivados oxidados deslocados para maiores volumes de eluição, indicando valores de massa molares de pico menores.

Durante o processo de oxidação, a massa molar de pico (M_{pk}) dos derivados oxidados diminuiu com o aumento do grau de oxidação (Tabela 6). Isso pode ser atribuído à degradação da cadeia principal da goma guar. Como a cadeia principal (manose) de galactomananas possui padrão de ligação 1→4, a oxidação pelo íon periodato pode ocorrer também nas cadeias laterais (galactose), o que justifica a elevada diminuição na massa molar dos derivados oxidados (KRISTIANSEN *et al.*, 2010). Resultados semelhantes foram obtidos para alginato de sódio oxidado (BALAKRISHNAN *et al.*, 2005), goma do cajueiro oxidado (NETO, 2008) e xilano oxidado (AMER *et al.*, 2016).

Figura 19 - Cromatogramas para as amostras de GG e seus derivados oxidados



Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 6- Valores de massa molar de pico (M_{pk}) e volume de eluição (V_e) obtidos para GGD e seus derivados oxidados

Amostra	Volume de eluição (mL)	M_{pk} ($g \cdot mol^{-1}$)
GGD	6,75	$5,25 \times 10^6$
GGOX20	8,55	$4,68 \times 10^4$
GGOX50	9,12	$1,91 \times 10^4$
GGOX80	9,77	$1,05 \times 10^4$

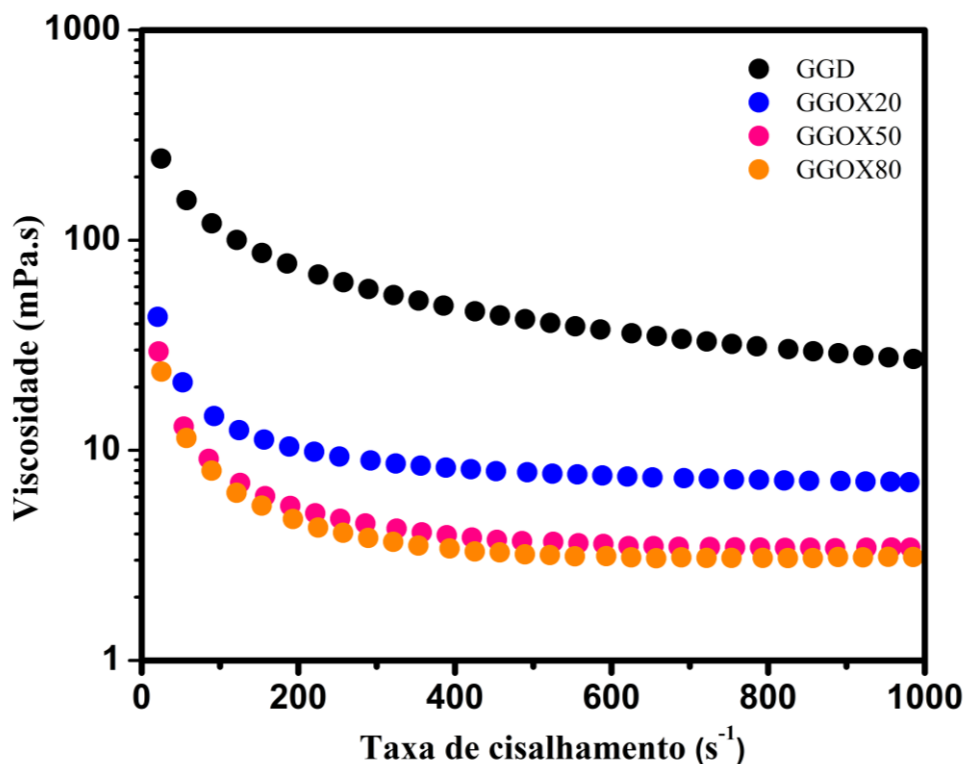
Fonte: dados da pesquisa.

4.2.5 Reologia de Fluxo

A Figura 20 apresenta a variação da viscosidade em função da taxa de cisalhamento da GGD e de seus derivados oxidados. Ocorre uma redução da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento para todas as amostras, indicando comportamento típico de fluídos não-newtonianos, com características pseudoplásticas. A viscosidade das soluções dos derivados oxidados, em toda taxa de cisalhamento estudada, foi menor em comparação à goma guar não modificada, como pode ser visto na Tabela 7. Essa redução ocorre devido às

etapas de degradação por ultrassom, seguido da oxidação com periodato de sódio (ZHANG *et al.*, 2010). Essa evidência está de acordo com a redução das massas molares constatada por GPC, uma vez que esta grandeza está diretamente relacionada com a viscosidade do material.

Figura 20 - Curvas de viscosidade para soluções em tampão PBS (pH 7,4) de GGD e seus derivados oxidados na concentração de 5% (m/v) a 25 °C



Fonte: dados da pesquisa.

A Tabela 7 mostra os valores de viscosidade a 700 s⁻¹, correspondente ao patamar Newtoniano dos derivados oxidados. GGD foi incluída, apesar de ainda não ter alcançado a região Newtoniana.

Tabela 7 - Valor da viscosidade de GG e de seus derivados a 25 °C na taxa de cisalhamento em 700 s⁻¹

Amostras	Viscosidade (mPa.s)
GGD	35,6
GGOX20	7,41
GGOX50	3,57
GGOX80	3,07

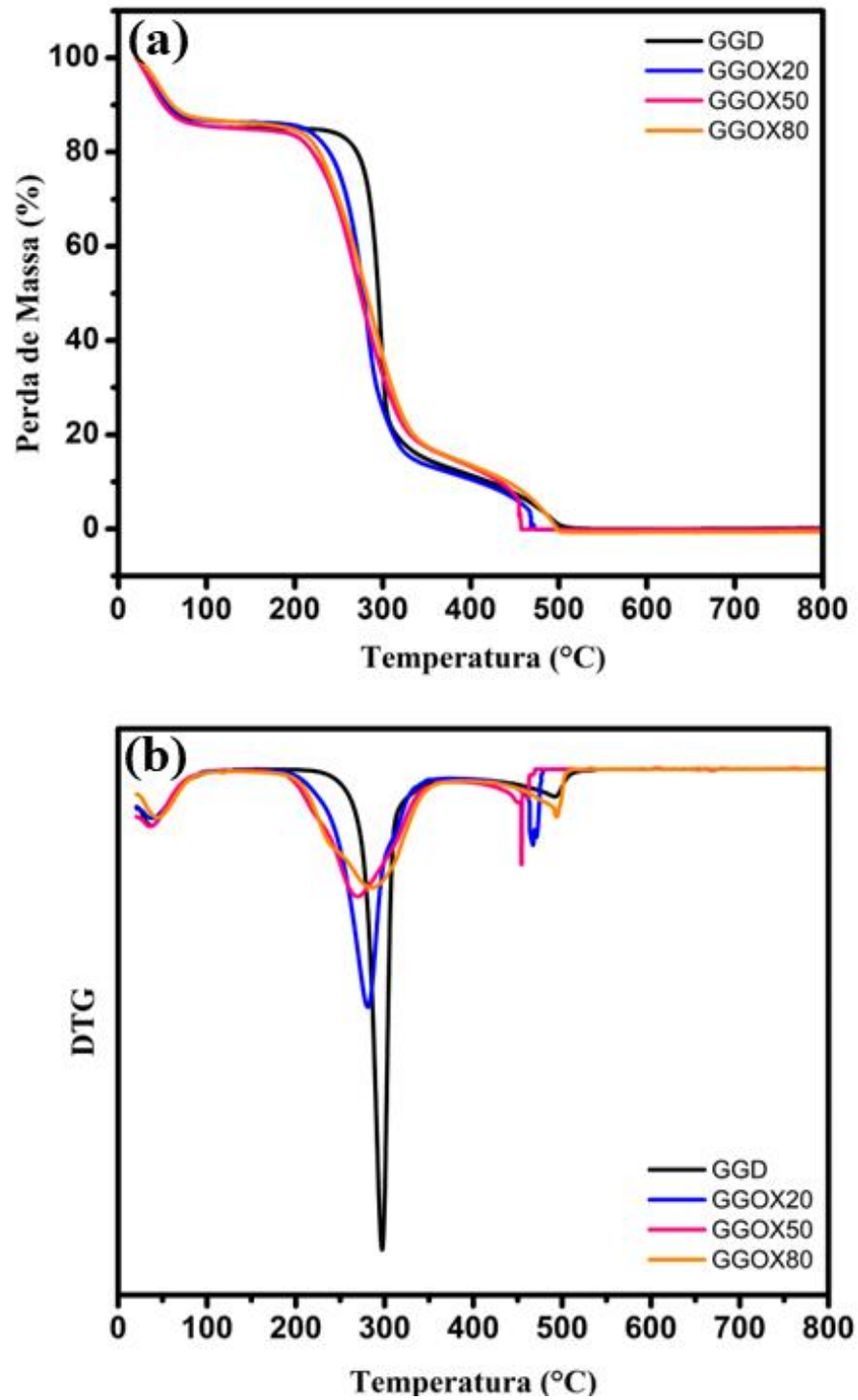
Fonte: dados da pesquisa.

4.2.6 Análise Termogravimétrica (TGA)

As curvas termogravimétricas de TG e DTG da goma guar e de seus derivados oxidados encontram-se nas Figuras 21a e 22b, respectivamente. Para a curva de goma guar, bem como de seus derivados, observam-se três eventos de perda de massa residual cujas temperaturas são mostradas na Tabela 9. O primeiro evento está relacionado com a perda de água. O segundo e terceiro eventos, próximos a 300 e 500 °C, respectivamente, estão relacionados com a degradação dos anéis de hexose, que é confirmada pela DTG.

As curvas termogravimétricas dos derivados oxidados mostraram comportamento semelhante entre si e com a guar não modificada. A diminuição da temperatura do início de degradação térmica dos derivados oxidados em relação à GG, indica uma diminuição na estabilidade térmica das amostras (Tabela 8). Esse comportamento pode ser atribuído à facilitação no processo de decomposição em atmosfera oxidativa, visto que os grupos aldeídico são mais reativos. As temperaturas de decomposição referentes ao segundo evento estão acima de 200 °C, o que indica que esses materiais podem ser submetidos a esterilização em autoclave sem que haja degradação.

Figura 21 - Curvas de TG (a) e DTG (b) de GGD e seus derivados oxidados em atmosfera de ar sintético



Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 8 - Parâmetros obtidos das curvas de TG para a GG e derivados oxidados em atmosfera de ar sintético

Amostras	Umidade (%)	Temperatura de Máxima Decomposição (°C)			Resíduos a 800 °C (%)
		I	II	III	
		GGD	14,8	38,2	
GGOX20	13,2	39,9	279,9	467,0	0
GGOX50	14,6	37,1	271,4	457,0	0,2
GGOX80	13,8	47,5	286,6	494,0	0,5

Fonte: dados da pesquisa.

4.3 Caracterização dos hidrogéis

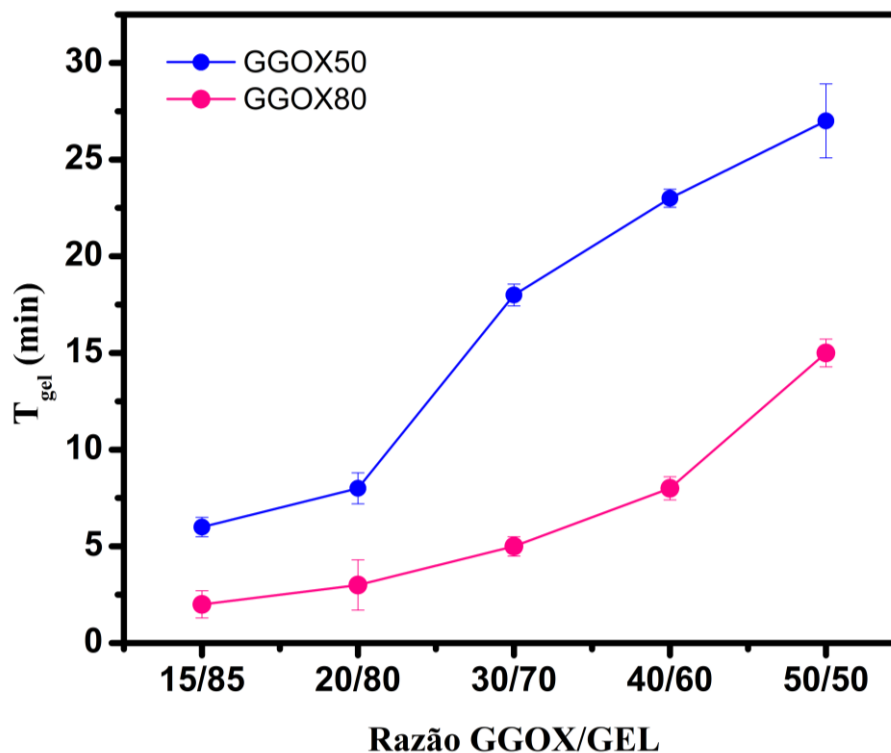
4.3.1 Tempo de Gelificação

O tempo de gelificação (T_{gel}) pode ser determinado por três métodos. São eles: inversão de tubo (quando não é observada nenhuma fluidez visual, invertendo o tubo em intervalos de tempos iguais), barra magnética (cronometragem do tempo até a formação de um glóbulo) e reologicamente (*crossover* entre G' e G''). O T_{gel} é um parâmetro importante quando aplicados como sistemas injetáveis, no qual os hidrogéis devem se formar em um tempo suficiente para que as soluções precursoras possam se misturar homogeneamente dentro da seringa e devem permanecer fluídas durante o momento da aplicação. Para hidrogéis pré-formados, garante que a reação estará completa quando os géis forem submetidos ao processo de congelamento.

Inicialmente, o T_{gel} foi determinado pelo método da barra magnética para os hidrogéis preparados a partir dos três graus de oxidados estudados (GGOX20, GGOX50 e GGOX80) em diferentes razões de GGOX/GELP. Os sistemas obtidos pela combinação de GGOX20/GELP não se mostraram promissores, pois não foi possível observar a formação de glóbulos no período de 2 h, provavelmente devido ao baixo teor de aldeído. Sendo assim, esses sistemas não foram utilizados para os testes subsequentes.

O T_{gel} dos hidrogéis GGOX50/GELP e GGOX80/GELP foram determinados e são mostrados na Figura 22.

Figura 22 - Tempo de gelificação pelo método da barra magnética dos hidrogéis com diferentes graus de oxidação em várias razões (v/v) de GGOX/GELP na temperatura de 37 °C

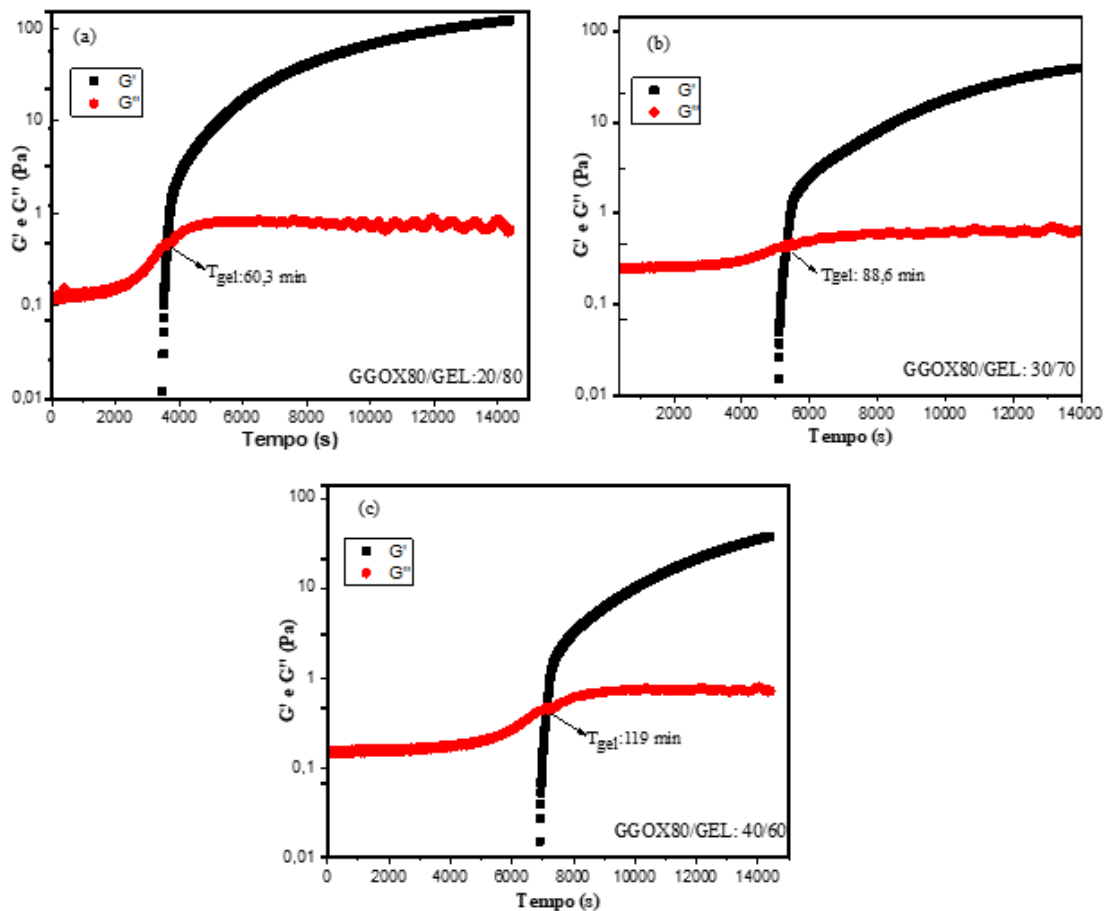


Fonte: dados da pesquisa.

Pode ser visto que o aumento da razão GGOX/GELP desloca T_{gel} para maiores valores. Além disso, T_{gel} diminuiu com o aumento do grau de oxidação. Esse comportamento está relacionado à quantidade de grupos aldeídicos, que aumenta com o grau de oxidação, o que provoca uma aceleração na cinética de reticulação dos hidrogéis. LUO *et al.*, 2018, utilizando ácido hialurônico e hidroxietilcelulose oxidada, observaram essa mesma tendência entre o grau de oxidação e o tempo de gelificação.

Os sistemas preparados a partir de GGOX80/GELP foram escolhidos para serem submetidos à análise reológica oscilatória, por apresentarem menor T_{gel} no experimento anterior, no qual o módulo de armazenamento (G') e o módulo de perda (G'') foram monitorados em função do tempo. Neste ensaio, considera-se o tempo de formação do gel como àquele no qual ocorre o cruzamento entre G' e G'' (*crossover*), isto é, quando a componente elástica do comportamento reológico se iguala à componente viscosa (região de transição sol – gel) (PAN *et al.*, 2015). Assim como na análise de determinação do tempo de gelificação pelo método da barra magnética, nesse ensaio também se observou que a razão de massa do derivado dialdeídico/massa gelatina influencia no T_{gel} , como pode ser visto na Figura 23.

Figura 23 – Determinação reológica do tempo de gelificação para os hidrogéis GGOX80/GELP em diferentes razões, na temperatura de 37 °C



Fonte: dados da pesquisa.

Como mostrado na Figura 23, o módulo G' apresenta valores negativos inicialmente, não apresentando comportamento viscoelástico, mas sim de líquido viscoso. Com o processo de reação via base de *Schiff*, ambos os módulos aumentaram e as soluções iniciaram o processo de reticulação. Devido a maior taxa de crescimento de G' do que de G'' , houve o *crossover*, indicando que os sistemas GGOX80/GELP passaram de uma fase líquida para um comportamento elástico preponderante (YAN *et al.*, 2014).

Os valores de T_{gel} para o método de barra magnética e reológica dos hidrogéis GGOX80/GELP são mostrados na Tabela 9. Os tempos obtidos por análise reológica foram muito maiores do que aqueles obtidos pelo método da barra magnética. No entanto apresentaram a mesma tendência, ou seja, a quantidade de gelatina na razão GGOX80/GELP também influencia o T_{gel} e melhora a eficiência da reticulação via formação base de *Schiff*, assim apresentando menor valor de T_{gel} . SARKER *et al.*, 2014 relataram que hidrogéis de alginato oxidado (ADA) e gelatina (GEL) tiveram tempo de formação influenciado pelo teor de gelatina na razão ADA/GEL, variando de 4 a 19 minutos. Sendo assim, o tempo de

formação dos hidrogéis pode ser ajustado pela razão de GGOX/GELP.

Tabela 9 - Tempo de gelificação para os hidrogéis formulados a partir de GGOX e GELP

Grau de oxidação (%)	Razão (v/v) GGOX/GELP	T _{gel} ^a (min)	T _{gel} ^b (min)
50	20:80	8:36 ± 0,16	-
	30:70	18:12 ± 0,56	-
	40:60	27 ± 0,47	-
80	20:80	2:5 ± 0,1	60,3
	30:70	5:5 ± 0,5	88,6
	40:60	8,7 ± 0,6	119

Fonte: dados da pesquisa.

T_{gel}^a : determinado pelo método da barra magnética.

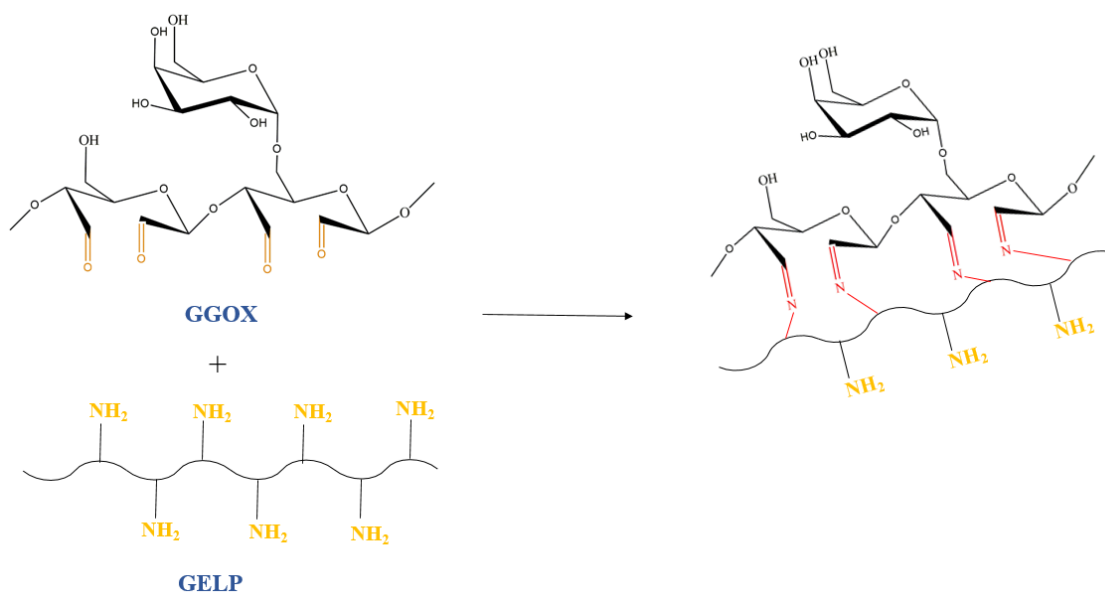
T_{gel}^b : determinado reologicamente.

- Não foram determinados reologicamente.

G': modulo de armazenamento após 4 horas.

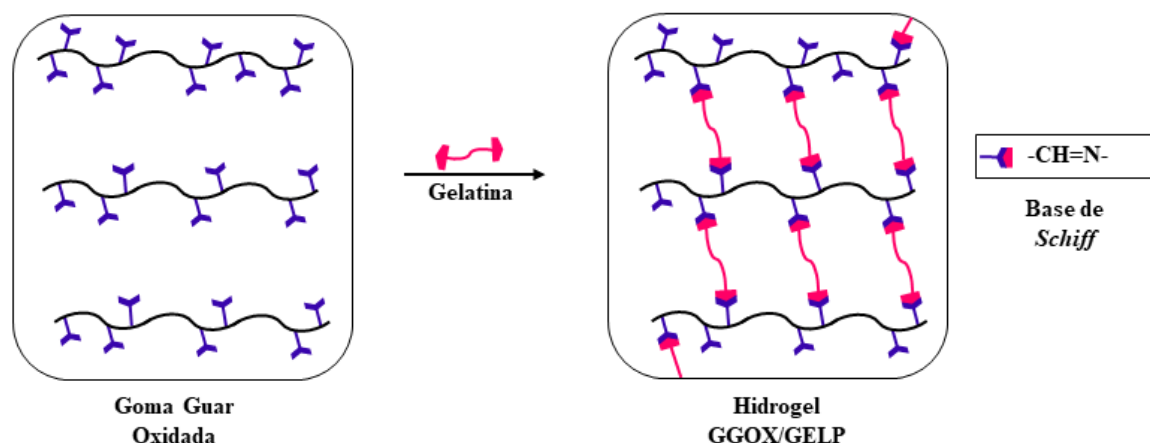
O processo de reticulação das matrizes poliméricas via base de *Shiff* é resultado da reação dos grupos aldeídicos da goma guar oxidada e grupos ε-amino da lisina e hidroxilisina da gelatina (Figura 26), formando assim a ligação imina (C=N). A reação entre GGOX e GELP é mostrada nas Figuras 24 e 25.

Figura 24 – Esquema da reação de reticulação das matrizes poliméricas GGOX e gelatina



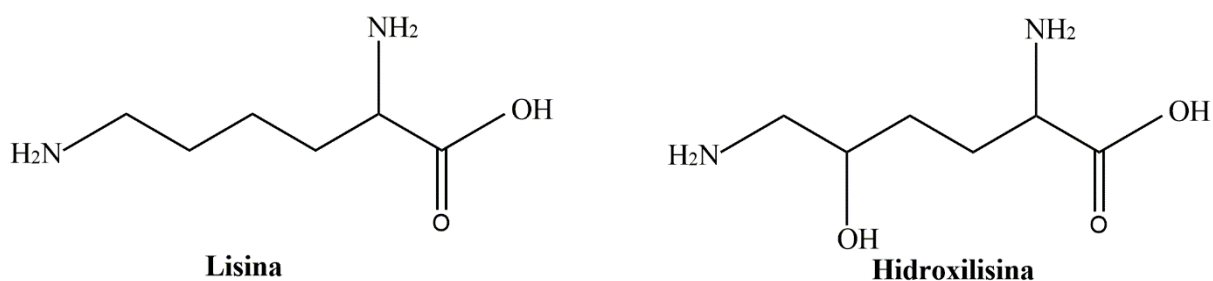
Fonte: elaborada pela autora.

Figura 25 - Representação esquemática da formação da base de Schiff



Fonte: Adaptado de Qu *et al.*, 2017.

Figura 26 - Aminoácidos presentes na gelatina que estão envolvidos na reticulação com a goma guar oxidada



Fonte: elaborada pela autora.

Por apresentar os menores tempos de gelificação, os hidrogéis de GGOX80/GELP nas razões 20/80, 30/70 e 40/60 foram escolhidos para a caracterização mais completa, tais como: de espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR), reologia, análise termogravimétrica (TGA), microscopia eletrônica de varredura (MEV), intumescimento e degradação.

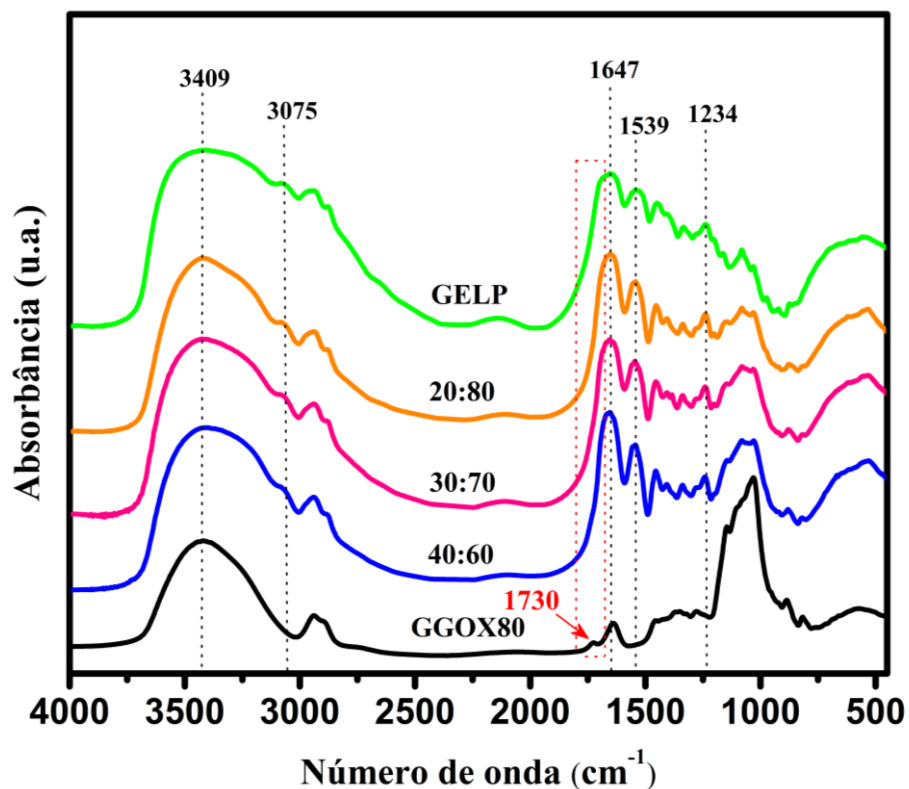
4.3.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

A Figura 27 mostra os espectros de FTIR de GGOX, GELP, bem como, dos hidrogéis de GGOX80/GELP. O espectro de gelatina pura mostra as seguintes bandas características: banda em 3409 cm^{-1} (amida A, relacionada às vibrações de estiramento de N-H); banda em 3075 cm^{-1} (amida B, representa o estiramento de C-H, dos grupos CH_2); banda em 1647 cm^{-1} (amida I, associada a vibrações de estiramento de $\text{C}=\text{O}$); banda em 1539 cm^{-1} (amida II, atribuída à deformação de N-H para fora do plano acoplada com a vibração de estiramento de C-N); banda em 1234 cm^{-1} (amida III, correspondente ao estiramento $\text{C}=\text{N}$)

(BENJAKUL *et al.*, 2009; MOHAJER; REZAEI; HOSSEINI, 2017; ZHANG *et al.*, 2019).

A reticulação química entre GGOX e GELP resulta na formação da ligação imina (C=N), mais conhecida como base de *Schiff*. A banda de absorção da ligação imina (C=N) deveria aparecer em 1637 cm^{-1} . Entretanto, essa banda não aparece nos espectros dos hidrogéis, pois a mesma está sobreposta pela banda de amida I da gelatina. A banda de aldeído em 1730 cm^{-1} está ausente, indicando o consumo dos grupos aldeído na reação.

Figura 27 - Espectros na região do infravermelho nas razões de GGOX80/GELP 20/80, 30/70 e 40/60

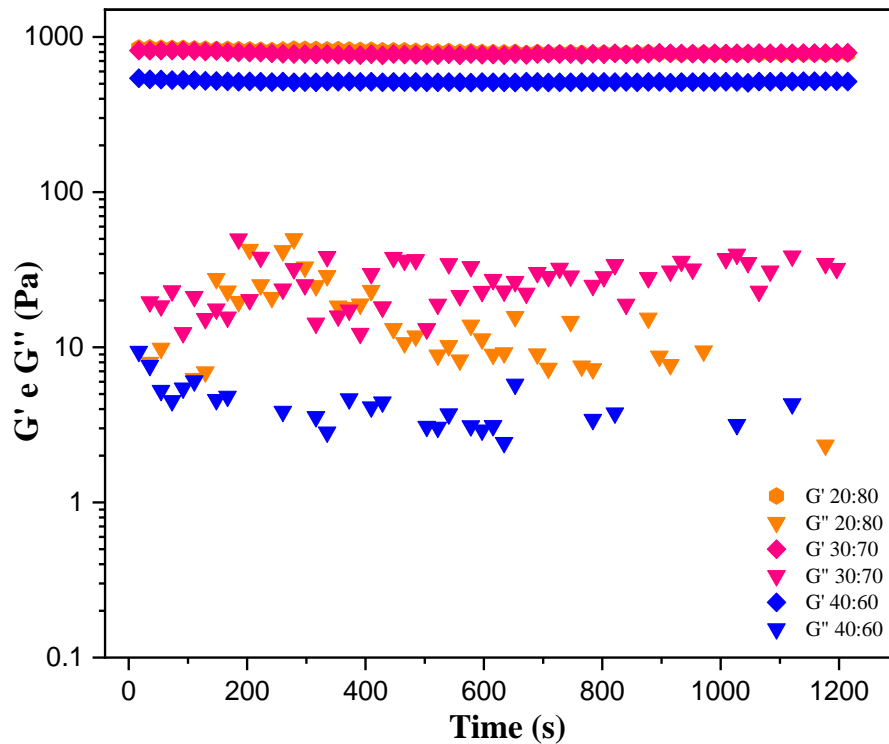


Fonte: dados da pesquisa.

4.3.3 Reologia

Inicialmente os hidrogéis foram submetidos a uma rampa de tensão (0,6-10 Pa a 0,1; 0,5 e 1 Hz) e frequência (0,1-10 Hz a 4 Pa), a fim de determinar a região viscoelástica linear. Em seguida, foram realizados ensaios de varredura de tempo a uma frequência 0,15 Hz e tensão 4 Pa (valores compreendidos na região viscoelástica linear) em função dos módulos G' e G'' , como mostrado na Figura 28.

Figura 28 - G' em função do tempo para os hidrogéis GGOX80/GELP



Fonte: dados da pesquisa.

Observou-se que os valores de G' se mantiveram constantes durante os 20 minutos de análise, indicando estruturas firmes e elásticas. Além disso, os valores de G' foram maiores que os valores de G'' em todo o tempo de ensaio, sugerindo que os hidrogéis exibem um comportamento predominante elástico em vez de um estado fluído (YAN *et al.*, 2014; CHEN *et al.*, 2017).

Os valores do módulo G' foram 849, 817 e 549 Pa para as razões 20/80, 30/70 e 40/60, respectivamente, como mostrado na Figura 28. Essa tendência foi a mesma observada para os T_{gel} e pode estar relacionada com o aumento da densidade de reticulação, o que provoca uma melhoria nas propriedades mecânicas desses materiais (Tabela 10). Os valores de G' obtidos são semelhantes aos relatados para tecidos moles, incluindo pulmão, fígado, pâncreas e pele ($G' \sim 1000\text{Pa}$) sugerindo assim seu potencial aplicação para a regeneração de tecidos moles (HOZUMI *et al.*, 2018; LI; RODRIGUES; TOMÁS, 2012).

Tabela 10 - Parâmetros obtidos a partir da análise reológica dos hidrogéis em 37 °C

Razão GGOX80/GELP	G' (Pa)	Tgel (min) ^a
20:80	849	60,3
30:70	817	88,6
40:60	549	119

Fonte: dados da pesquisa.

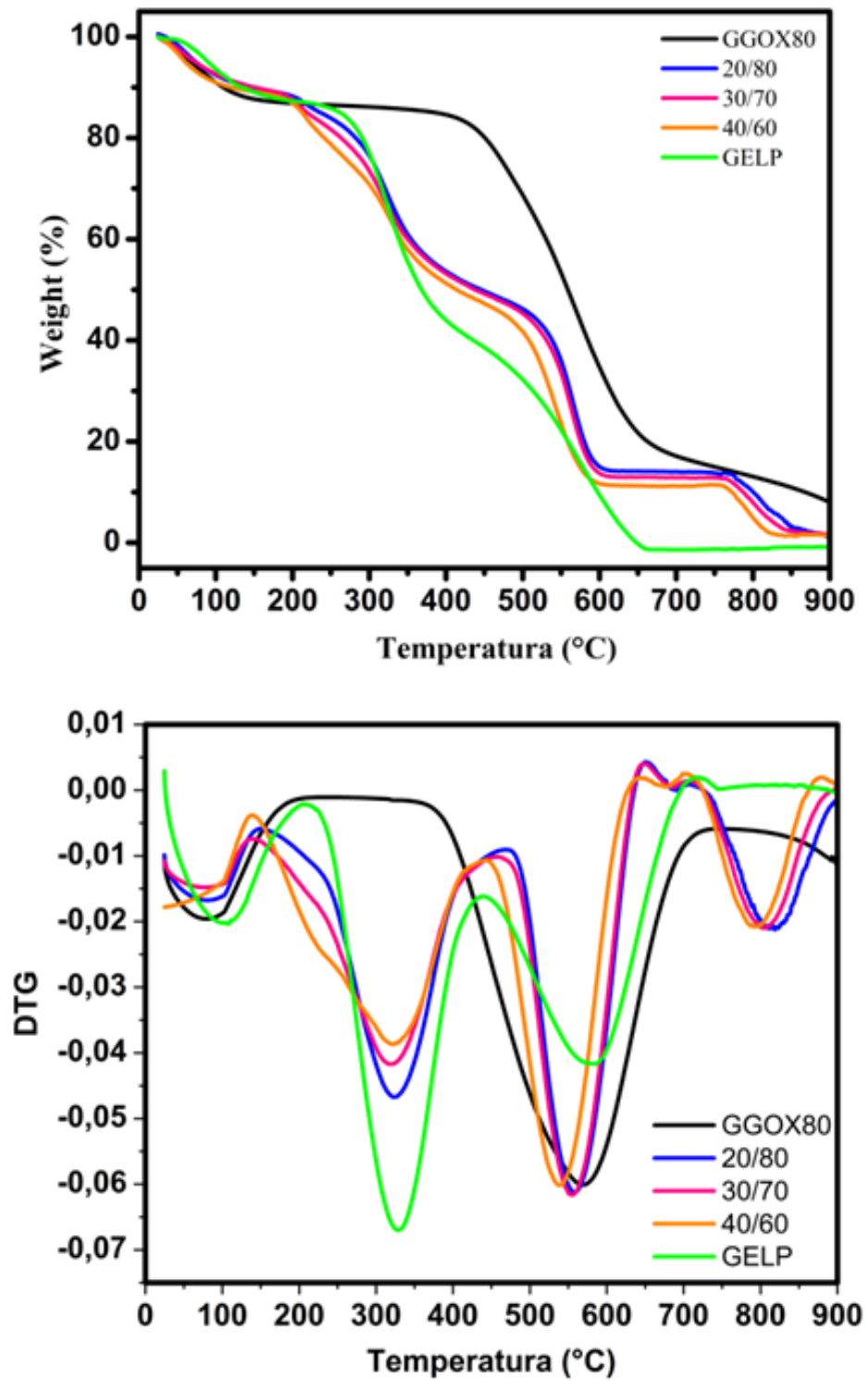
Tgel (min)^a: determinado reologicamente.

4.3.4 Análise Termogravimétrica (TGA)

As curvas termogravimétricas de GGOX80, GELP e dos hidrogéis GGOX80/GELP são mostradas na Figura 29. A curva de GELP mostrou três eventos de perda de massa em aproximadamente 103, 329 e 586°C, correspondentes à eliminação de água absorvida, degradação das ligações peptídicas das cadeias proteicas e decomposição térmica das estruturas estáveis, respectivamente (HASAN *et al.*, 2018). No caso da curva de GGOX80, a degradação ocorreu em três etapas, em aproximadamente em 48, 287 e 558 °C, referentes à perda de água e de compostos de baixa massa molar e à degradação da cadeia principal pelo processo de oxidação, respectivamente.

Pode ser visto na Figura 30, os hidrogéis em geral apresentam uma estabilidade térmica maior quando comparada com a gelatina. As três razões dos hidrogéis de GGOX80/GELP também passaram por processos de degradação térmica em 3 estágios. O primeiro estágio de decomposição ocorreu em aproximadamente em 75-85°C e atingiu o máximo de 79, 75 e 84°C para 20/80, 30,70 e 40/60, respectivamente. A perda de peso dos hidrogéis se mostrou na faixa de 9-11% e correspondeu à perda de água livre ou águas ligadas por ligações de hidrogênios. O segundo e terceiro eventos de decomposição exibiu uma rápida perda de massa na região de 325, 319 e 320 °C e atingiu o máximo em 561, 556 e 540 °C para 20/80, 30,70 e 40/60, respectivamente (Tabela 11).

Figura 29 - Curvas de TGA (a) e DTG (b) de GGOX80, GELP e dos hidrogéis GGOX80/GELP nas razões 20:80, 30:70 e 40:60 em atmosfera de ar sintético



Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 11 - Parâmetros obtidos das curvas de TGA para GG80, GELP e dos hidrogéis em diferentes razões em atmosfera de ar sintético

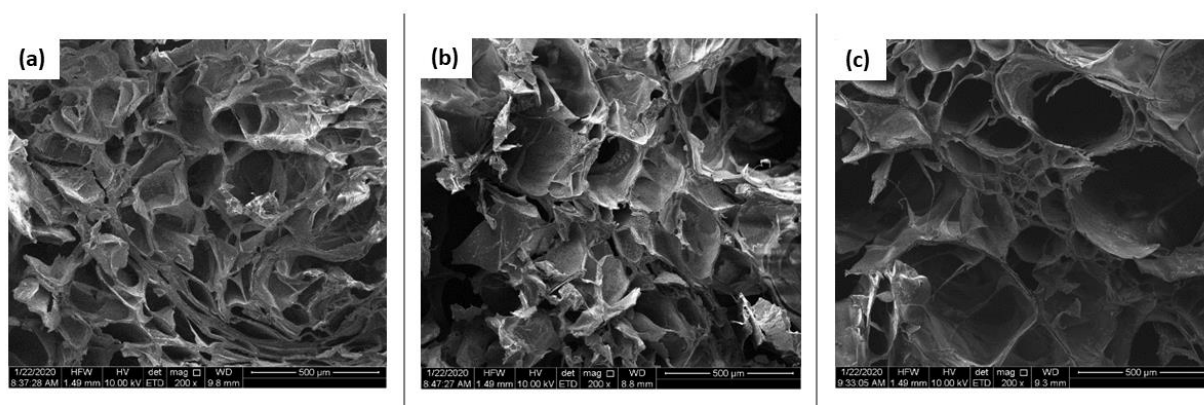
Amostras	Umidade (%)	Temperatura de Máxima Decomposição (°C)				Resíduos a 800 °C (%)
		I	II	III	IV	
GGOX80	13,8	48	287	558	-	0,5
20:80	9,1	79	325	561	816	1,8
30:70	9,5	75	319	556	808	1,7
40:60	10,8	84	320	540	798	1,4
GELP	10,9	103	329	586	-	0,2

Fonte: dados da pesquisa.

4.3.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia dos hidrogéis tem bastante influência nas suas possíveis aplicações. Os hidrogéis GGOX80/GELP foram congelados a -80°C , seguido de liofilização. A Figura 30 mostra as imagens de MEV da secção superficial dos hidrogéis GGOX80/GELP nas razões 20:80, 30:70 e 40:60.

Figura 30 - Micrografias da secção superficial dos hidrogéis de GGOX80/GELP nas razões 20:80 (a), 30:70 (b) e 40:60 (c)



Fonte: Central Analítica (UFC).

Todos os géis exibiram estruturas porosas interligadas com diferentes tamanhos de poros. A morfologia dos poros e a distribuição do tamanho foram dependentes da razão GGOX/GELP. Com o aumento da proporção de GGOX (proporção 40/60), o teor de aldeído no hidrogel aumenta, a distribuição do tamanho dos poros é mais heterogênea, com baixo, médio e alto diâmetro de poros.

A porosidade dos hidrogéis permite um aumento na proliferação e crescimento celular. Além disso, a estrutura porosa fornece uma área de superfície maior, facilitando a passagem de oxigênio e nutrientes, importantes para reter mais medicamentos quando em um sistema de administração ou para absorver o exsudato da ferida. Portanto, os hidrogéis podem ser adequados para o crescimento celular na engenharia de tecidos e para curativos (Zhang et al., 2019).

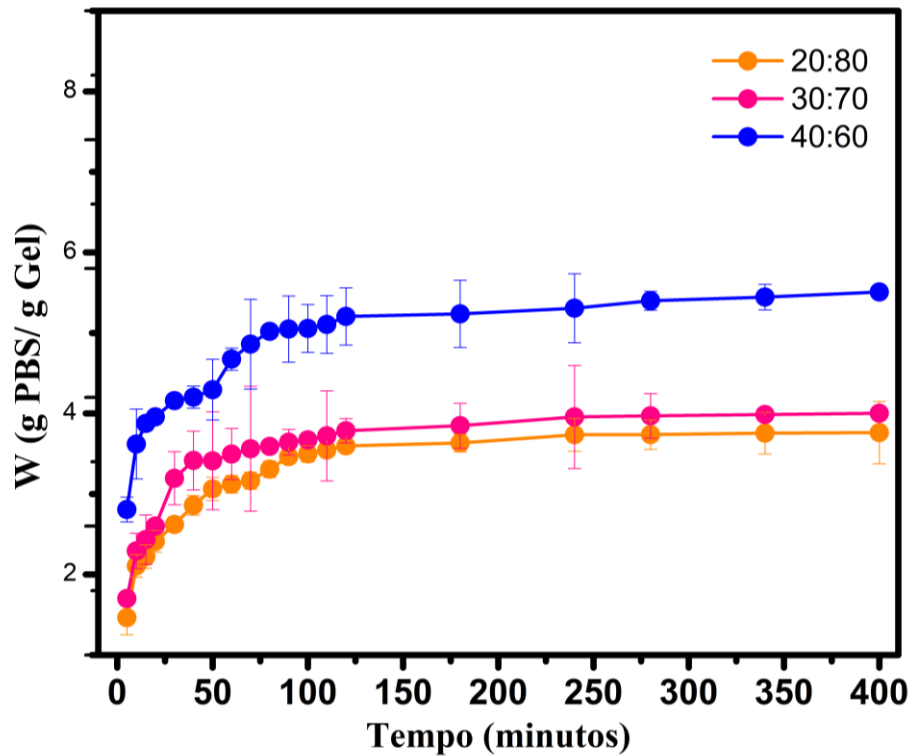
4.3.6 Intumescimento

Curativos para tratamentos de feridas à base de hidrogéis devem apresentar uma taxa de intumescimento controlável para que possam absorver melhor o fluido corporal. Devem manter, também, um ambiente úmido para ajudar na rápida cicatrização do novo tecido (LUO *et al.*, 2018).

O intumescimento em PBS (pH=7,4) dos hidrogéis de GGOX80/GELP em diferentes razões em função do tempo é mostrado na Figura 31. Como outros hidrogéis à base de polímeros naturais, as curvas de intumescimento apresentam um aumento inicial e depois entram em equilíbrio gradualmente.

Observa-se que o grau de intumescimento (W) aumenta à medida que o teor de derivado oxidado aumenta nas formulações. Essa tendência está relacionada com a diminuição na densidade de reticulação. O grau de intumescimento varia de forma inversa à densidade de reticulação, ou seja, quanto mais reticulados forem os hidrogéis, menos líquido eles absorvem. Como confirmado de forma indireta, a partir dos ensaios de reologia (Tópico 4.3.3), o aumento de GGOX na razão GGOX/GELP resultou em um excesso de grupos aldeídicos, o que influenciou na reticulação dos hidrogéis e, conseqüentemente, nos seus graus de intumescimento. Esse efeito foi mais acentuado na razão 40:60, que apresentou um grau de intumescimento no equilíbrio de 5 g/g, valor 1,5 e 2 vezes maior que a taxa de intumescimento das formulações 20:80 e 30:70, respectivamente. Esses resultados indicam que controlando a razão GGOX80/GELP, esses hidrogéis podem ser preparados para atender a requisitos específicos no campo biomédico.

Figura 31 - Intumescimento dos hidrogéis GGOX80/GELP nas razões 20:80, 30:70 e 40:60 em tampão PBS (pH 7,4) na temperatura ambiente



Fonte: dados da pesquisa.

4.3.7 Degradação

Para avaliar a degradação dos hidrogéis simulando condições fisiológicas (tampão PBS, pH 7,4) a 37 °C, foi realizado o teste de degradação *in vitro* (Figura 32). O hidrogel de gelatina pura começou a se degradar após a imersão em PBS e foi dissolvido completamente em poucos minutos, devido à dissociação das estruturas helicoidais triplas presentes na gelatina. Durante o experimento, observou-se que as amostras diminuíram gradualmente de tamanho, possivelmente devido à interação do tampão PBS com a superfície do hidrogel, como pode ser visto nas Figuras 32 e 33 (NGUYEN *et al.*, 2019).

Figura 32 - Imagens do hidrogel GGOX/GELP 40:60 antes e após 30 dias imersos em PBS

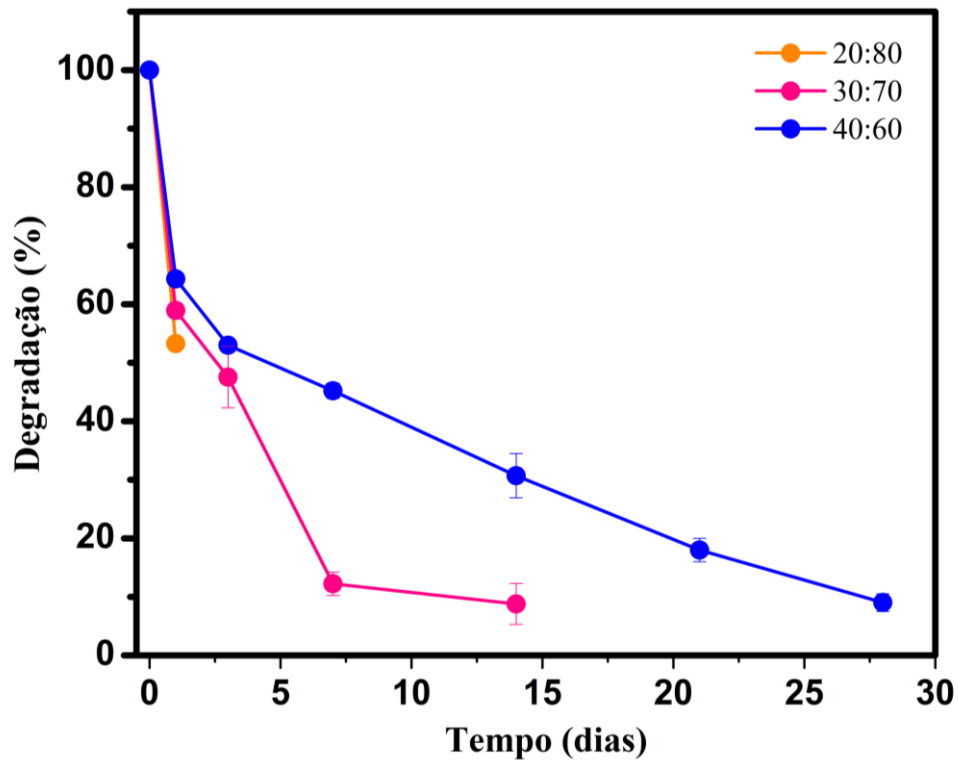


Fonte: dados da pesquisa.

Em particular, o hidrogel obtido na razão 20:80 apresentou uma maior taxa de degradação, pois foi degradado quase que completamente no 3º dia (Figura 33). Por outro lado, o hidrogel 30:70 apresentou um comportamento moderado de degradação, tendo sido degradado integralmente após o 14º dia. Além disso, como pode ser visto nas Figuras 33 e 34, o hidrogel 40:60 apresentou uma menor taxa de degradação, apresentando 10% do seu peso inicial no último dia do processo de incubação. Resultados semelhantes para degradação foram relatados por PAN *et al.*, (2015) para hidrogéis de alginato oxidado e gelatina. O gel na proporção 3/7 apresentou a taxa de degradação mais alta, (degradação total em 7 dias), enquanto que o na proporção 4/6 foi quase totalmente degradado somente após 28 dias.

Devido à gelatina ser mais susceptível à hidrólise do que a goma guar oxidada em ambiente aquoso, a perda de massa aumenta à medida que o teor de gelatina aumenta nas formulações. Quando as ligações reticuladas são hidrolisadas, a rede tridimensional do hidrogel se torna mais livre, absorvendo mais água e levando a mais hidrólise. Ocorre uma grande perda de massa ao longo do tempo, levando a dissolução completa dos géis.

Figura 33 - Cinética de degradação *in vitro* das diferentes razões dos géis de GGOX80/GELP em PBS (pH=7,4) à 37°C



Fonte: dados da pesquisa.

O tempo de gelificação, a resistência mecânica e a estrutura porosa dos hidrogéis desempenham um papel importante no processo de cicatrização de feridas. Um baixo tempo de gelificação é desfavorável quando necessária intervenção cirúrgica, enquanto um longo período de gelificação pode comprometer sua adesão no local de aplicação. A resistência mecânica deve ser razoável para proteger a ferida contra danos externos. A presença de estrutura porosa é importante para que haja troca de nutrientes, passagem de oxigênio e a absorção do exsudato da ferida, o que é favorável à cicatrização. Para os hidrogéis estudados, essas propriedades podem ser ajustadas variando a razão GGOX80/GELP. Com o aumento do teor de gelatina na razão GGOX80/GELP, o T_{gel} diminuiu de 8,7 para 2,5 min e o valor médio de G' aumentou de 549 para 849 Pa. O T_{gel} e os valores de G' mostraram que o aumento de GELP na razão GGOX80/GELP provoca uma melhoria nas propriedades mecânicas decorrente da maior eficiência da reação de reticulação via base de Schiff.

O gel na razão 40:60 apresentou uma maior taxa de intumescimento em relação as demais, estando na faixa de 5 g de PBS/g de gel seco, e um maior tempo de degradação menor do que 30 dias, características ideais para seu uso como curativo. Considerando essas

características, esse hidrogel pode ser um candidato para substituir curativos comerciais. O curativo comercial DuoDerm GF (composto por hidrocoloides como a carboximetilcelulose sódica, pectina e gelatina), que é indicado para uso de queimaduras de 1° e 2° graus, feridas cirúrgicas, entre outros, pode permanecer na lesão por até sete dias. A razão 40:60, como revelado no ensaio de degradação, apresenta em torno de 45% de sua massa inicial no sétimo dia de incubação. Essa evidência reforça mais ainda a possibilidade de uso desse material como substituto de outros curativos disponíveis no mercado.

5 CONCLUSÃO

A degradação da goma guar em ultrassom provocou uma redução da massa molar de pico de 1,7 vezes e aumentou a solubilidade dos derivados oxidados em tampão PBS.

A goma guar foi modificada com periodato de sódio em diferentes graus de oxidação. A modificação foi confirmada por titulação potenciométrica com cloridrato de hidroxilamina, FTIR e RMN de ^1H e ^{13}C .

Os hidrogéis GGOX/GELP foram sintetizados por reticulação via base de *Schiff*. O t_{gel} mostrou ser dependente do grau de oxidação e da razão GGOX/GELP.

A partir do tempo de gelificação foi escolhido o grau de oxidação 80% e razões 20:80, 30:70 e 40:60. O t_{gel} foi crescente com o aumento da razão GGOX80/GELP e a força do gel (determinada pelo valor do módulo G') da formulação GGOX80/GELP nas proporções 20/80, 30/70 e 40/60, tendo sido 849, 817, e 542 Pa, respectivamente. O aumento de GELP na razão GGOX80/GELP provoca uma melhoria nas propriedades mecânicas decorrente da maior eficiência da reação de reticulação via base de *Schiff*,

Os hidrogéis GGOX80/GELP apresentaram boas propriedades mecânicas, grau de intumescimento e tempo de degradação adequados para atuarem como candidatos para futuras aplicações biomédicas no campo de curativos e/ou engenharia de tecidos.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, P. B. S.; BARROS JR, W.; SANTOS, G. R. C.; CORREIA, M. T. S.; MOURÃO, P. A. S.; TEIXEIRA, J. A. CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Characterization and rheological study of the galactomannan extracted from seeds of Cassia. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v.104, p.127–134, 2014.
- AMER, H.; NYPELO, T.; SULAEVA, I.; BACHER, M.; HENNIGES, U.; POTTHAST, A.; ROSENAU, T. Synthesis and characterization of periodate-oxidized polysaccharides: Dialdehyde Xylan (DAX). **Biomacromolecules**, [s.l.], v. 17, p. 2972-2980, 2016.
- ARRUDA, F. C. F.; CASTRO, B. C. O.; MEDEIROS, J. F.; VALADÃO, W. J.; REIS, G. M. D. Epidemiological analysis over 2 years at the Burn Unit of the Urgency Hospital Governor Otávio Lage de Siqueira, Goiânia, Brazil. **Brazilian Journal of Plastic Surgery**, [s.l.], v. 33, p. 389-394, 2018.
- AZERO, E.; ANDRADE, C. Testing procedures for galactomannan purification. **Polymer Testing**, [s.l.], v. 21, p. 551, 2002.
- BAGHER, Z.; EHTERAMI, A.; SAFDEL, M. H.; KHASTAR, H. SEMIARI, H.; ASEFNEJAD, A.; DAVACHI, M.; MIRZAI, M.; SALEHI, M. Wound healing alginate/chitosan hydrogel containing hesperidin in rat model. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s.l.], v. 55, 2020.
- BALAKRISHNAN, B.; LESIEUR, S.; LABARRE, D.; JAYAKRISHNAN, A. Periodate oxidation of sodium alginate in water and in ethanol-water mixture: A comparative study. **Carbohydrate Research**, [s.l.], v. 340, p. 142 – 1429, 2005
- BALAKRISHNAN, B.; YAKRISHNAN, A. Self-cross-linking biopolymers as injectable *in situ* forming biodegradable scaffolds. **Biomaterials**, [s.l.], v. 26, p. 3941-3951, 2005.
- BALAKRISHNAN, B.; SOMAN, D.; PAYANAM, U.; LAURENT, A.; LABARRE, D. JAYAKRISHNAN, A. A novel injectable tissue adhesive based on oxidized dextran and chitosan. **Acta Biomaterialia**, [s.l.], v. 53, p. 400 – 402, 2017.
- BANIASADI, H.; MASHAYEKHAN, S.; FADAODDINI, S.; HAGHIRSHARIFZAMINI, Y. Design, fabrication and characterization of oxidized alginate-gelatin hydrogels for muscle tissue engineering applications. **Journal of Biomaterials Applications**, [s.l.], v. 31, n. 1, p. 152–161, 2016.
- BENJAKUL, S.; OUNGBHO, K.; VISESSANGUAN, W.; THIANILAKUL, Y.; ROYTRAKUL, S. Characteristics of gelatin from the skins of *Bigeye snapper*, *Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 166, p. 445 – 451, 2009.
- BRUNEEL, D.; SCHACHT, E. Chemical modification of pullulan : Periodate oxidation. **Polymer**, [s.l.], v. 34, n. 12, p. 2628–2632, 1993.
- BURITI, F. C. A.; SANTOS, K. M. O.; SOMBRA, V. G.; MACIEL, J. S.; SÁ, D. M. A. T.; SALLES, H. O.; OLIVEIRA, G.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A.; MOREIRA, A.

C. O. M.; MOREIRA, R. A. EGITO, A. S. Characterization of partially hydrolysed galactomannan from *Caesapinia pulcherrima* seeds as a potential dietary fibre. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 35, p. 512 – 521, 2014

CASTRO, R. R.; SILVA, C. M. M.; NUNES, R. M.; CUNHA, P. L. R.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A.; GIRÃO, C. C; POMPEU, M. M. L.; LEITE, J. A. D.; ROCA, F. A. C. Structural characteristics are crucial to the benefits of guar gum in experimental osteoarthritis. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 150, p. 392–399, 2016.

CERQUEIRA, M. A.; SPUZA, B. W. S.; SIMÕES, J.; TEIXEIRA, J. A.; DOMINGUES, R. M.; COIMBRA, M.; VICENTE, A. A. Structural and thermal characterization of galactomannans from non-conventional sources. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 83, p. 179–185, 2011.

CHEN, F.; NI, Y.; LIU, B.; ZHOU, T.; YU, C.; SU, Y.; ZHU, X.; YU, X.; ZHOU, Y. Self-crosslinking and injectable hyaluronic acid/RGD-functionalized pectin hydrogel for cartilage tissue engineering. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 166, p. 31-44, 2017.

CHRISTENSEN, B. E.; AASPRONG, E.; STOKKE, B. T. Gelation of periodate oxidised scleroglucan (scleraldehyde). **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 46, p. 241–248, 2001.

CUNHA, P. L. R.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A. Purification of guar gum for biological applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 41, p. 324-331, 2007.

DASH, R.; FOSTON, M.; RAGAUSKAS, A. J. Improving the mechanical and thermal properties of gelatin hydrogels cross-linked by cellulose nanowhiskers. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 91, p. 638-645, 2013.

DAWLEE, S.; SUGANDHI, A.; BALAKRISHNAN, B.; LABARRE, D.; JAYAKRISHNAN. Oxidized chondroitin sulfate-cross-linked gelatin matrixes: a new classe of hydrogels. **Biomacromolecules**, [s.l.], v. 6, p. 2040 – 2048, 2005.

DODI, G.; HRITCU, D.; POPA, M. I. Carboxymethylation of guar gum: synthesis and characterization. **Cellulose Chemistry and Technology**, [s.l.], v. 45, p. 171–176, 2011.

DRESSLER, M.; FISCHER, P.; WINDHAB, E. J. Rheological characterization and modeling of aqueous guar gum solutions. **Process Engineering, International Symposium on Food Rheology and Struture**, Zürich, Switzerland, p. 249-253, 2003.

DUONSEILLE, A., ASTRUC, T., QUINTANA, N., MEERSMAN, F., SANTE-LHOUELIER, V. Gelatin structure and composition linked to hard capsule dissolution: A review. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 43, p. 360-376, 2015.

FAN, Z.; CHENG, P.; YIN, G.; WANG, Z.; HAN, J. *In situ* forming oxidized salectan/gelatin injectable hydrogels for vancomycin delivery and 3D cell culture. **Journal of Biomaterials Science**, [s.l.], p. 1 – 19, 2020.

L.; MONTAÑO, C. I. C.; ROBINSON, K. G. M., MENDOZA, J. L.; OZUNA, L. E. R. Physicochemical characterization and functional properties of galactomannans from mesquite

seeds (*Prosopis spp.*). **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 30, p. 656 – 660, 2013.

GASPAR-PINTILIESCU, A.; STANCIUC, A. M.; CRACIUNESCU. Natural composite dressings based on collagen, gelatin and plant bioactive compounds for wound healing: a review. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 138, p. 854-865, 2019.

GEORGE, A.; PRIYANKA, G.; SHRIVASTAV, P. S. Guar gum: Versatile natural polymer for drug delivery applications. **European Polymer Journal**, [s.l.], v. 112, p. 722-735, 2019.

GEORGE, A.; SHAH, P. A.; SHRIVASTAV, P. S. Natural biodegradable polymers based nano-formulations for drug delivery: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 561, p. 244 – 264, 2019.

GHOSH, S. K.; DAS, A.; DAS, A.; BASU, A.; HALDER, A.; DAS, S.; BASU, S.; ABDULLAH, M. F.; MUKHERJEE, A.; KUNDU, S. Semi-interpenetrating hydrogels from carboxymethyl guar gum and gelatin for ciprofloxacin sustained release. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 120, p. 1823 – 1833, 2018.

GOMES, C. G.; RINAUDO, M.; VILLAR, M. A. Oxidation of sodium alginate and characterization of the oxidized derivatives. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 67, p. 296 – 304, 2007.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; GIMÉNEZ, B.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; MONTERO, M.P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 25, p. 1813-1827, 2011.

GUO, J.; GE, L.; C, LI.; MU, C. LI, Li, D. Periodate oxidation of xanthan gum and its crosslinking effects on gelatin-based edible films. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 39, p. 243-250, 2014.

HASAN, M. M.; KHAN, M. N.; HAQUE, P.; RAHMAN, M. M. Novel alginate-di-aldehyde cross-linked gelatin/gelatin/nano-hydroxyapatite bioscaffolds for tissue regeneration. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 117, p. 1110 – 1117, 2018.

HOZUMI, T.; KAGEYAMA, T.; OTHA, S.; FUKUDA, J.; ITO, TAICHI. Injectable hydrogel with slow biodegradability composed of gelatin and hyaluronic acid cross-linked by Schiff's base formation. **Biomacromolecules**, [s.l.], v. 19, p. 288 – 297, 2018.

JEJURIKAR, A. XING, T. S.; LAWRIE, G.; MARTIN, D.; JAYAKRISHNAN, A. Degradable alginate hydrogels crosslinked by the macromolecular crosslinker alginate dialdehyde. **Journal of Materials Chemistry**, [s.l.], v. 22, p. 9751-9758, 2012.

JIA, Y.; LI, J. Molecular assembly of Schiff base interactions: Construction and application. **Chemical Reviews**, [s.l.], v. 115, p. 1597–1621, 2015.

JIANG, X.; YANG, Z.; PENG, Y.; HAN, B.; LI, B.; LI, X.; LIU, W. Preparation, characterization and feasibility study of dialdehyde carboxymethyl cellulose as a novel crosslinking reagent. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 137, p. 632-641, 2016.

JIANG, Y.; ZHOU, J.; YANG, Z.; L, D.; XV, X.; Z, G.; SHI, H.; ZHANG, Q. Dialdehyde cellulose nanocrystal/gelatin hydrogel optimized for 3D printing applications. **Journal of Materials Science**, [s.l.], v. 53, p. 11883 – 11900, 2018.

KIM, U.J.; LEE, Y.R.; KANG, T.H.; CHOI, J.W. ; KIMURA, S.; WADA, M. Protein adsorption of dialdehyde cellulose-crosslinked chitosan with high amino group contents. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 163, pp. 34-42, 2017.

KIM, S.; JEONG, D.; LEE, H.; KIM, D. JUNG, S. Succinoglycan dialdehyde-reinforced gelatin hydrogels with toughness and thermal stability. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 149, p.281 – 289, 2020.

KRISTIANSEN, K. A.; POTTHAST, A.; CHRISTENSEN, B. E. Periodate oxidation of polysaccharides for modification of chemical and physical properties. **Carbohydrate Research**, [s.l.], v. 345, n. 10, p. 1264–1271, 2010.

LAPASIN, R.; LORENZI, L.; PRICL, S.; TORRIANO, G. Flow properties of hydroxypropyl guar gum and its long-chain hydrophobic derivatives. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 28, p. 195–202, 1995.

LAPASIN, R.; PRICL, S.; TRACANELLI, P. Rheology of hydroxyethyl guar gum derivatives. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 14, p. 411–427, 1991.

LI, D.; YE, Y.; LI, D.; LI, X.; UM, C. Biological properties of dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin–PEG composite hydrogel fibers for wound dressings. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 137, p. 508-514, 2016.

LI, Y.; RODRIGUES, J.; TOMAS, H. Injectable and biodegradable hydrogels: gelation, biodegradation and biomedical applications. **Chemistry Society Revist**, [s.l.], v. 41, p. 2193 – 2221, 2012.

LI, W.; WANG,B.; ZHANG, M.;WU, Z.; WEI, J.; JIANG, Y.; SHENG.; LIANG, Q.; ZHANG, D.; CHEN,S. All-natural injectable hydrogel with self-healing and antibacterial properties for wound dressing. **Cellulose**, [s.l.], v, 15, p. 1 – 14, 2020.

LIMA, E. V.; VASCONCELOS, N. F.; MACIEL, J. D.; ANDRADE, F. K.; VIEIRA, R. S.; FEITOSA, J. P. A. Injectable hydrogel based on dialdehyde galactomannan and N-succinyl chitosan: a suitable platform for cell culture. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, [s.l.], v. 31, p. 1 – 13, 2020.

LUO, P.; LIU, L.; XU, W.; FAN, L.; NIE, M. Preparation and characterization of aminated hyaluronic acid/oxidized hydroxyethyl cellulose hydrogel. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 199, p. 170 – 177, 2018.

MACIEL, J. S.; AZEVEDO, S.; CORREIA, C. R.; COSTA, A. M. S.; COSTA, R. R.; MAGALHÃES, F. A.; MONTEIRO, A. A. S.; COSTA, J. F. G.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A.; MANO, J. F. Oxidized cashew gum scaffolds for tissue engineering. **Macromolecular Materials and Engineering**, [s.l.], v. 304, p. 1 – 11, 2019.

MIYAZAWA, T.; FUNAZUKURI, T. Noncatalytic hydrolysis of guar gum under hydrothermal conditions. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 341, p. 870-877, 2006.

MOHAJER, S.; REZAEI, M.; HOSSEINI, S. F. Hosseini. Physico-chemical and microstructural properties of fish gelatin/agar bio-based blend films. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 157, p. 784 – 793, 2017.

MUDGIL, D.; BARAK, S.; KHATKAR, B. S. X-ray diffraction IR spectroscopy and thermal characterization partially hydrolyzed guar gum. *International Journal of Biological Macromolecules*, [s.l.], v. 50, p. 1035 – 1039, 2012.

MUZZARELLI, R. A; GRECO, F.; BUSILACCHI, A.; SOLLAZZO, V.; GIGANTE, A. Chitosan, hyaluronic and chondroitin sulfate in tissue engineering for cartilage regeneration: a review. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 89, p. 723 – 739, 2012.

NETO, Erico Moura. **Desenvolvimento de Novos Materiais à base de Goma do Cajueiro (*Anacardium occidentale*): Derivados e Microesferas com Gelatina**. 2008. 195f. Dissertação (Mestrado em química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

PAN, J.; YUAN, H.; GUO, C.; LIU, J.; GENG, X.; FEI, T.; LI, S.FAN, W.; MO, X.; YAN, Z. One-step cross-linked injectable hydrogels with tunable properties for space-filling scaffolds in tissue engineering. **The Royal Society of Chemistry**, [s.l.], v. 5, p. 40820 – 40830, 2015.

PARK, H.; WOO, E. K.; LEE, K. Y. Ionically cross-linkable hyaluronic-based hydrogels for injectable cell delivery. **Journal of Controlled Release**, [s.l.], v.196, p. 146 - 153, 2014.

PRAJAPATI, V. D.; JANI, G. K.; MORADIYA, N. G.; *et al.* Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 60, p. 83–92, 2013.

RADHAKRISHNAN, J.; SUBRAMANIAN, A.; KRISHNAN, U. M.; SETHURAMAN, S. Injectable and 3D Bioprinted Polysaccharide Hydrogels : From Cartilage to Osteochondral Tissue Engineering. **Biomacromolecules**, [s.l.], v. 18, p. 1–26, 2017.

RAJPUT, G.; PANDEY, I. P.; JOSHI, G. Carboxymethylation of *Cassia angustifolia* seed gum: synthesis and rheological study **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 117, p. 494-500, 2015.

SAGHAZADEH *et al.* Drug delivery systems and materials for wound healing applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s.l.], v. 127, p. 138 – 166, 2018

SANTOS, M. B.; SANTOS, C. H. C.; CARVALHO, M. G.; CARVALO, C. W. P.; ROJAS, E. D. G. Physicochemical, thermal and rheological properties of synthesized carboxymethyl tara gum (*Caesalpinia spinosa*). **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 134, p. 2933 – 693, 2019.

SARIKA, P. R.; CINTHYA, K.; JAYAKRISHNAN, A.; ANILKUMAR, P. R.; JAMES, N.R. Modified gum arabic cross-linked gelatin scaffold for biomedical applications. **Materials Science and Engineering C**, [s.l.], v. 43, p. 272–279, 2014.

SARKER, B. PAPAGEROGIOU, D. G.; SILVA, R.; ZEHNDER, T.; NOOR, F. G.; BERTMER, M.; KASCHTA, J.; CHRISSAFIS, K.; DETSCH, R.; BOCCACCINI, A. R. Fabrication of alginate–gelatin crosslinked hydrogel microcapsules and evaluation of the microstructure and physico-chemical properties, **Journal of Materials Chemistry**, [s.l.], v. 2, p. 1470 – 1482, 2014.

SHAHBUDDIN, M.; SHABBUDDIN, D.; BULLOCK, A. J.; IBRAHIM, H.; RIMMER, S.; MACNEIL, S. High molecular weight plant heteropolysaccharides stimulate fibroblasts but inhibit keratinocytes. **Carbohydrate Research**, [s.l.], v.375, p.90–99, 2013.

SHARMA, G.; SHARMA, S.; KUMAR, A.; AL-MUHTASEB, A. H.; NAUSHAD, M.; GHFAR, A. A.; MOLA, G. T.; STADLER, F. J. Guar gum and its composites as potential materials for diverse applications: A review. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 199, p. 534 – 545, 2018.

SHI, H.; ZHANG, L. New grafted polysaccharides based on O-carboxymethyl- O - hydroxypropyl guar gum and N -isopropylacrylamide: Synthesis and phase transition behavior in aqueous media. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 67, p. 337–342, 2007.

SRIVASTAVA, M.; KAPOOR, V. P. Seed galactomannans: an overview. **Chemistry. Biodiversity**, [s.l.], v. 2, p. 295-317, 2005.

THOMBARE, N.; JHA, U.; MISHRA, S.; SIDDIQUI, M. Z. Guar gum as a promising starting material for diverse applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 88, p. 361–372, 2016.

VARMAO, A. J.; KOKANE, S. P.; PATHAKB, G.; PRADHAD, S. D. Thermal behavior of galactomannan guar gum and its periodate oxidation products. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 32, p. 111–114, 1997.

VENDRUSCOLO, C. W. et al. Physicochemical and mechanical characterization of galactomannan from *Mimosa scabrella*: Effect of drying method. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 76, p. 86-93, 2009.

VISMARA, E.; COLETTI, A.; VALERIO, A.; NAGGI, A.; URSO, E.; TORRI, G. Anti-metastatic semi-synthetic sulfated maltotriose C-C linked dimers. Synthesis and characterization. **Molecules**, [s.l.], v. 17, p. 9912 – 9930, 2012.

WANG, S.; OOMMEN, O. P.; YAN, H.; VARGHESE, O. P. Mild and Efficient Strategy for Site-Selective Aldehyde Modification of Glycosaminoglycans: Tailoring Hydrogels with Tunable Release of Growth Factor. **Biomacromolecules**, [s.l.], v. 14, p. 2427–2432, 2013.

WEI, Z.; GERECHE, S. A self-healing hydrogel as an injectable instructive carrier for cellular morphogenesis. **Biomaterials**, [s.l.], v. 185, p. 86 – 96, 2018.

WU, X.; YE, Y.; CHEN, Y.; DING, B.; CUI, J.; JIANG, B. Selective oxidation and determination of the substitution pattern of hydroxypropyl guar gum. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 80, p. 1178 – 182, 2010.

XIN, Y.; YUAN, J. Schiff's base as a stimuli-responsive linker in polymer chemistry.

Polymer Chemistry, [*s.l.*], v. 3, p. 3045–3055, 2012.

XU, J.; LIU, Y.; HSU, S. Hydrogels based on Schiff base linkages for biomedical applications. **Molecules**, [*s.l.*], v. 24, p. 3005, 2019.

YAN, S.; WANG, T.; FENG, L.; ZHU, J. ZHANG, K.; CHEN, X.; CUI, L.; YIN, J. Injectable in situ self-cross-linking hydrogels based on poly (L-glutamic acid) and alginate for cartilage tissue engineering. **Biomacromolecules**, [*s.l.*], v. 15, p. 4495 – 4508, 2014.

YE, Y.; REN, H.; ZHU, S.; TAN, H.; LI, X.; LI, D.; MU, C. Synthesis of oxidized β -cyclodextrin with high aqueous solubility and broad-spectrum antimicrobial activity. **Carbohydrate Polymers**, [*s.l.*], v. 177, p. 97 - 104, 2017.

YU, F.; CAO, X, ZENG, L.; ZHANG, Q.; CHEN, X. An interpenetrating HA/G/CS biomimic hydrogel via Diels-Alder click chemistry for cartilage tissue engineering. **Carbohydrate Polymers**, [*s.l.*], v. 97, p. 188 - 195, 2013.

YUAN, L.; WU, Y.; GU, Q.; EL-HAMSHARY, H.; EL-NEWEHY, M.; MO, X. Injectable photo crosslinked enhanced double-network hydrogels from modified sodium alginate and gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, [*s.l.*], v. 96, p. 569 – 577, 2017.

ZHANG, L.; LIU, J.; ZHENG, X.; ZHANG, A.; ZHANG, X.; TANG, K. Pullulan dialdehyde crosslinked gelatin hydrogels with high strength for biomedical applications. **Carbohydrate Polymers**, [*s.l.*], v. 216, p. 45 – 53, 2019.

ZHANG, S. D.; WANG, X. L.; ZHANG, T. R.; YANG, K. K.; WANG, Y. Z. Preparation of a new dialdehyde starch derivate and investigation of its thermoplastic properties. **Journal of Polymer Research**, [*s.l.*], v. 17, p. 439 – 446, 2010.

ZHAO, H.; HEINDEL, N. D. Determination of degree of substitution of formyl groups in polyaldehyde dextran by the hydroxylamine hydrochloride method. **Pharmaceutical Research**, [*s.l.*], v. 8, p. 400–402, 1991.

ZHU, T.; MAO, J.; CHENG, Y.; LIU, H.; LV, L.; GE, M.; LI, S.; HUANG, J.; CHEN, Z.; LI, H.; YANG, LEI, LAI, Y. Recent Progress of Polysaccharide Based Hydrogel Interfaces for Wound Healing and Tissue Engineering. **Advanced Materials Interfaces**, [*s.l.*], v. 6, p. 17, 2019.