UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

RODRIGO CÉSAR SABADINI

REDES POLIMÉRICAS DE MACROMOLÉCULAS NATURAIS COMO HIDROGÉIS
SUPERABSORVENTES

SÃO CARLOS

2015

Rodrigo César Sabadini

Redes poliméricas de macromoléculas naturais como hidrogéis superabsorventes

Tese apresentada ao Instituto de Química de
São Carlos da Universidade de São Paulo
como parte dos requisitos para a obtenção do
título de doutor em ciências.

Área de concentração: Físico-química

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Agnieszka Pawlicka

São Carlos
2015

*Aos meus pais, Luiz Roberto e Ana Zilda
pelo constante apoio e incentivo e por
todos os ensinamentos que me
passaram.*

AGRADECIMENTOS

Durante a elaboração desta tese pude contar com a colaboração e incentivo de muitas pessoas, auxiliando de diferentes formas este trabalho.

Agradeço especialmente a professora Agnieszka Pawlicka, por ter acreditado e me confiado este trabalho. Também pela orientação, apoio, incentivo constante e pelas muitas oportunidades concedidas durante todo o desenvolvimento desta tese.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

Aos meus pais, Luiz Roberto e Ana Zilda e meus irmãos, Aline e Marcelo por sempre estarem por perto e me apoiarem.

À minha namorada Juliana por todo amor e carinho.

Aos meus colegas de laboratório: Alessandra, Cristiano, David, Ellen, Franciani, Hyrla, Juliana, Leandra, Lucas Marinho, Lucas Ponez, Rita e Yuly.

Aos moradores da República Véia Loka.

E a todos que estiveram presentes neste trabalho de alguma forma, especialmente à Virgínia pelos incontáveis auxílios.

*“A ciência progride de duas maneiras:
adicionando fatos novos e
simplificando os existentes”*

Claude Bernard

RESUMO

Hidrogéis são macromoléculas tridimensionais formadas por polímeros hidrofílicos, os quais são entrecruzados para manter sua estrutura. Quando expostos a água apresentam grande absorção, porém sem sofrer a dissolução. Nesta tese foram preparados hidrogéis para serem aplicados como materiais de liberação controlada de fertilizantes e condicionadores de solo. Os hidrogéis foram sintetizados através de reações de entrecruzamento de goma gelana (GGHA e GGLA) com (i) quitosana (CH), (ii) Jeffamina (JEF), (iii) L-lisina (LYS), (iv) gelatina (GEL) e alginato (ALG) com quitosana (CH). A formação de redes poliméricas foi confirmada por espectroscopia FT-IR e análises térmicas, também evidenciando a estabilidade térmica dessas amostras acima de 200°C. As morfologias dos hidrogéis liofilizados foram observadas por MEV, evidenciando as estruturas abertas e porosas. Os resultados de hidratação dos hidrogéis mostraram altos valores de absorção de água em relação ao seu peso seco, sendo 218 vezes para GGHA:CH, 164 vezes para GGHA:LYS, 145 vezes para GGHA:JEF, 113 vezes para GGHA:GEL e 80 vezes para ALG:CH. Amostras de GGLA apresentaram baixos valores de absorção de água. Os testes de perda de água dos hidrogéis ALG:CH apresentam tempo 59% maior e os hidrogéis de GGHA:CH 100% maior e, aproximadamente 60% maior para os hidrogéis GGHA:LYS, GGHA:JEF e GGHA:GEL quando comparados com a evaporação de água pura. A liberação completa do fertilizante comercial monopotássio de fosfato (MKP) ocorreu em 8 h de imersão dos hidrogéis em água e foi estimada em aproximadamente 400 mg por um grama de polímero, independente do hidrogel utilizado, enquanto os ensaios de liberação controlada do fertilizante nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) revelaram liberação de aproximadamente 300 mg de fertilizante por um grama de hidrogel, também independente do hidrogel utilizado. Os resultados obtidos demonstraram a possível utilização de hidrogéis entrecruzados a base de macromoléculas naturais em sistemas de controle de umidade do solo e liberação controlada de fertilizantes.

Palavras-chave: Hidrogel, Macromoléculas naturais, Liberação controlada, Fertilizante

ABSTRACT

New hydrogels based on natural macromolecules such as gellan gum, chitosan, alginate, gelatin and lysine were synthesized and characterized by spectroscopic, thermal and microscopic analysis. The samples were also investigated in terms of water absorption and fertilizers release. The samples were obtained by crosslinking reactions of gellan gum (GGHA and GGLA) with (i) chitosan (CH), (ii) Jeffamine (JEF), (iii) L-lysine (LYS) and (iv) gelatin (GEL). The samples of alginate (ALG) and chitosan (CH) were also obtained and characterized. The formation of polymer networks was confirmed by FT-IR spectroscopy and thermal analysis, which revealed the thermal stability of the samples above 200°C. The morphology of lyophilized hydrogels was observed by SEM presenting open and porous structure. Moreover, the results of swelling showed high water absorption values in relation to the samples dry weight. These values were of 218 times for GGHA:CH, 164 times for GGHA:LYS, 145 times for GGHA:JEF, 113 times for GGHA:GEL and 80 times for ALG:CH. GGLA samples showed lower values of water absorption when compared with other samples. The water retention time of hydrogel ALG:CH hydrogels was 59% higher than pure water. For the sample GGHA:CH the water retention time was 100% higher and about 60% higher for the hydrogels GGHA:LYS, GGHA:JEF and GGHA:GEL. The samples were charged with commercial fertilizers such as phosphate monopotassium (MKP) and phosphate monopotassium (MKP), and they were tested as controlled fertilizer release materials for agriculture. It was observed for all samples that a complete release of MKP occurred after 8 h of its immersion in water and was estimated in about 400 mg per one gram of polymer. The controlled release of NPK was in about 300 mg per one gram of hydrogel, independent of the hydrogel composition. In conclusion, all the obtained results revealed that the natural macromolecules-based hydrogels are very promising alternatives for humidity control system and controlled fertilizers release in agriculture.

Keywords: Hydrogel, Natural macromolecules, Controlled release, Fertilizer

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Esquema de interação entre as cadeias dos hidrogéis químicos e físicos, demonstrando os pontos de entrecruzamentos (vermelho). 21
- Figura 2 – Ilustração da cadeia entrecruzada dos hidrogéis, representando a massa molecular média entre os entrecruzamentos M_c . 22
- Figura 3 – Possíveis formas de preparação de hidrogéis e interação entre as cadeias poliméricas. 23
- Figura 4 – Comparação entre liberação controlada e aplicações pontuais. 26
- Figura 5 – Atuação dos sistemas de liberação controlada de fertilizantes com o uso de hidrogéis. 27
- Figura 6 – Liberação de fertilizantes através do sistema de encapsulamento, degradando do lado esquerdo e por difusão através de microporos do lado direito. 29
- Figura 7 - Fragmento da cadeia polimérica do alginato ilustrando sua estrutura, os blocos-M, blocos-G e blocos-MG e o C5 quiral (laranja). 32
- Figura 8 - Estrutura representativa da goma gelana. 34
- Figura 9 - Estrutura representativa da dupla hélice formada pela gelificação da goma gelana. 35
- Figura 10 – Estrutura representativa da quitina ($R = -COCH_3$) e quitosana ($R = -H$ ou $-COCH_3$). 37
- Figura 11 – Estrutura da gelatina. 39
- Figura 12 – Reação de entrecruzamento entre um ácido carboxílico e uma amina utilizando EDC. R e R' são as cadeias das moléculas a serem entrecruzadas. 41
- Figura 13 – Reação de entrecruzamento entre um ácido carboxílico e uma amina utilizando EDC e NHS. R e R' são as cadeias das moléculas a serem entrecruzadas. 42
- Figura 14 – Curva de calibração utilizada para medidas de liberação controlada dos fertilizantes MKP e NPK utilizadas para os cálculos de liberação controlada. 50
- Figura 15- Espectros de FT-IR para alginato, quitosana e ALG:CH. 53

Figura 16– Curvas de TG (a) e DTG (b) para alginato, quitosana e ALG:CH.	54
Figura 17 – Curvas de DSC para quitosana, e hidrogel ALG:CH seco (a) e para hidrogel ALG:CH seco, hidratado e água pura (b).	54
Figura 18 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis ALG:CH em pH=7.	56
Figura 19 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis ALG:CH em pH=4.	57
Figura 20 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis ALG:CH em pH=10.	57
Figura 21 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis ALG:CH em tampão PBS.	58
Figura 22 - Cinética de evaporação para os hidrogéis ALG:CH 1:3, 1:2 e 1:1 e para a água pura.	59
Figura 23 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis de ALG:CH intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.	60
Figura 24 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis de ALG:CH intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.	60
Figura 25 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis de ALG:CH intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.	61
Figura 26 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis de ALG:CH intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.	61
Figura 27 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis de ALG:CH intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.	62
Figura 28 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis de ALG:CH intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.	62
Figura 29 - Espectro de FT-IR para goma gelana (GGHA), quitosana (CH) e hidrogel GGHA:CH.	64
Figura 30 – Curvas de TGA (a) e DTG (b) para a goma gelana (GGHA), quitosana (CH) e GGHA:CH.	64
Figura 31 – Curvas de DSC para goma gelana (GGHA), quitosana (CH) e hidrogel GGHA:CH (a) e para hidrogel GGHA:CH seco, hidratado e água pura (b).	65
Figura 32 – Imagens de MEV para os hidrogéis GGHA:CH 4:1 liofilizados (a) e não liofilizados (b) e para hidrogéis GGHA:CH 3:1 liofilizados (c) e não liofilizados (d), com aumento de 300x.	67

Figura 33 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:CH em pH=7.	69
Figura 34 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:CH em pH=4.	69
Figura 35 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:CH em pH=10.	70
Figura 36 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:CH em solução tampão PBS.	70
Figura 37 - Cinética de evaporação para GGHA:CH, 4:1 e 1:1 e para água pura.	71
Figura 38 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis de GGHA:CH intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.	72
Figura 39 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis de GGHA:CH intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.	72
Figura 40 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis de GGHA:CH intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.	73
Figura 41 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis de GGHA:CH intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.	73
Figura 42 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis de GGHA:CH intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.	74
Figura 43 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis de GGHA:CH intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.	74
Figura 44 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:CH intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.	75
Figura 45 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:CH intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.	76
Figura 46 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:CH intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.	76
Figura 47 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:CH intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.	77
Figura 48 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:CH intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.	77
Figura 49 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:CH intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.	78

Figura 50 - Curvas de DSC para GGHA:CH em panela aberta (a) e panela fechada (b).	79
Figura 51 – Espectros de FT-IR para goma gelana, Jeffamina e o hidrogel GGHA:JEF	81
Figura 52 – Curvas de TGA (a) e DTG (b) para goma gelana (GGHA), Jeffamina (JEF) e hidrogel GGHA:JEF.	82
Figura 53 – Imagens de MEV dos hidrogéis liofilizados GGHA:JEF 2 (A) e 4 (B) e GGLA:JEF 2 (C) e 4 (D), com aumento de 100x.	83
Figura 54 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:JEF em pH=7.	85
Figura 55 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:JEF em solução tampão pH=4.	85
Figura 56 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:JEF em solução tampão pH=10.	86
Figura 57 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:JEF em solução tampão PBS.	86
Figura 58 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:JEF em pH=7.	87
Figura 59 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:JEF em solução tampão pH=4.	87
Figura 60 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:JEF em solução tampão pH=10.	88
Figura 61 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:JEF em solução tampão PBS.	88
Figura 62 - Cinética de evaporação para os hidrogéis GGHA:JEF e para água pura.	89
Figura 63 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:JEF intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.	90
Figura 64 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:JEF intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.	90
Figura 65 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:JEF intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.	91
Figura 66 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:JEF intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.	91

Figura 67 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:JEF intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.	92
Figura 68 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:JEF intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.	92
Figura 69 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:JEF intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.	93
Figura 70 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:JEF intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.	94
Figura 71 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:JEF intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.	94
Figura 72 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:JEF intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.	95
Figura 73 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:JEF intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.	95
Figura 74 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:JEF intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.	96
Figura 75 – Espectros de FT-IR para goma gelana, L-lisina e o hidrogel GGHA:LYS.	97
Figura 76 - TGA (a) e DTG (b) para goma gelana (GGHA), L-Lisina (LYS) e hidrogel GGHA:LYS.	98
Figura 77 – Imagens de MEV dos hidrogéis liofilizados GGHA:LYS 2 (A) e 4 (B) e GGLA:LYS 2 (C) e 4 (D), com aumento de 100x.	99
Figura 78 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:LYS em pH=7.	101
Figura 79 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:LYS em solução tampão pH=4.	101
Figura 80 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:LYS em solução tampão pH=10.	102
Figura 81 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:LYS em solução tampão PBS.	102
Figura 82 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:LYS em pH=7.	103
Figura 83 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:LYS em solução tampão pH=4.	103

Figura 84 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:LYS em solução tampão pH=10.	104
Figura 85 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:LYS em solução tampão PBS.	104
Figura 86 - Cinética de evaporação para os hidrogéis GGHA:LYS e para água pura.	105
Figura 87 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:LYS intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.	106
Figura 88 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:LYS intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.	106
Figura 89 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:LYS intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.	107
Figura 90 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:LYS intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.	107
Figura 91 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:LYS intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.	108
Figura 92 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:LYS intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.	108
Figura 93 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:LYS intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.	109
Figura 94 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:LYS intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.	110
Figura 95 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:LYS intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.	110
Figura 96 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:LYS intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.	111
Figura 97 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:LYS intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.	111
Figura 98 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:LYS intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.	112
Figura 99 – Espectros de FT-IR para goma gelana, gelatina e o hidrogel GGHA:GEL.	113

Figura 100 - TGA (a) e DTG (b) para goma gelana (GGHA), gelatina (GEL) e hidrogel GGHA:GEL.	114
Figura 101 – Imagens de MEV dos hidrogéis liofilizados GGHA:GEL 2 (A) e 4 (B) e GGLA:GEL 2 (C) e 4 (D), com aumento de 100x.	115
Figura 102 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:GEL em pH=7.	117
Figura 103 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:GEL em pH=4.	117
Figura 104 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:GEL em pH=10.	118
Figura 105 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:GEL em solução tampão PBS.	118
Figura 106 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:GEL em pH=7.	119
Figura 107 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:GEL em solução tampão pH=4.	119
Figura 108 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:GEL em solução tampão pH=10.	120
Figura 109 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:GEL em solução tampão PBS.	120
Figura 110 - Cinética de evaporação para os hidrogéis GGHA:GEL e para água pura.	121
Figura 111 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:GEL intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.	122
Figura 112 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:GEL intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.	122
Figura 113 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:GEL intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.	123
Figura 114 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:GEL intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.	123
Figura 115 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:GEL intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.	124
Figura 116 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:GEL intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.	124

Figura 117 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:GEL intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.	125
Figura 118 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:GEL intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.	125
Figura 119 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:GEL intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.	126
Figura 120 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:GEL intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.	126
Figura 121 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:GEL intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.	127
Figura 122 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:GEL intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.	127
Figura 123 – Aplicação dos hidrogéis na germinação de sementes de alface.	130
Figura 124 – Histograma representando a média de tamanho para amostras de alface americana.	131
Figura 125 – Histograma representando a média de tamanho para amostras de alface crespa.	132
Figura 126 – Amostras de alface americana e crespa na segunda e quarta semana, respectivamente.	133
Figura 127 – Visualização do ataque por fungos no hidrogel GGHA:CH vista superior (esquerda) e vista lateral (direita).	134

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais monômeros sintéticos utilizados na preparação de hidrogéis para o uso medicinal.	24
Tabela 2 – Porcentagem de blocos G, M e grupos GG, MM e GM em diferentes espécies de algas.	33
Tabela 3 – Quantidades de EDC/NHS utilizadas para preparação das amostras	46
Tabela 4 - Valores de grau de absorção (S), fração em volume do polímero (V_r), massa molecular média entre entrecruzamentos (M_c) e densidade de entrecruzamentos (d_x) para os hidrogéis ALG:CH.	55
Tabela 5 - Valores de grau de absorção (S), fração em volume do polímero (V_r), massa molecular média entre entrecruzamentos (M_c) e densidade de entrecruzamentos (d_x) para os hidrogéis GGHA:CH	68
Tabela 6 - Valores de grau de absorção (S), fração em volume do polímero (V_r), massa molecular média entre entrecruzamentos (M_c) e densidade de entrecruzamentos (d_x) para os hidrogéis GGHA:JEF	84
Tabela 7 - Valores de grau de absorção (S), fração em volume do polímero (V_r), massa molecular média entre entrecruzamentos (M_c) e densidade de entrecruzamentos (d_x) para os hidrogéis GGLA:JEF	84
Tabela 8 - Valores de grau de absorção (S), fração em volume do polímero (V_r), massa molecular média entre entrecruzamentos (M_c) e densidade de entrecruzamentos (d_x) para os hidrogéis GGHA:LYS	100
Tabela 9 - Valores de grau de absorção (S), fração em volume do polímero (V_r), massa molecular média entre entrecruzamentos (M_c) e densidade de entrecruzamentos (d_x) para os hidrogéis GGHA:LYS	100
Tabela 10 - Valores de grau de absorção (S), fração em volume do polímero (V_r), massa molecular média entre entrecruzamentos (M_c) e densidade de entrecruzamentos (d_x) para os hidrogéis GGHA:GEL	116
Tabela 11 - Valores de grau de absorção (S), fração em volume do polímero (V_r), massa molecular média entre entrecruzamentos (M_c) e densidade de entrecruzamentos (d_x) para os hidrogéis GGLA:GEL	116
Tabela 12 – Resumo dos valores obtidos de (S), (d_x), liberação de MKP e NPK para os hidrogéis preparados.	128

Tabela 13 – Resultados de germinação e sobrevivência das amostras de alface americana e crespa.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1	Hidrogéis	20
1.2	Sistemas de liberação controlada	25
1.3	Alginato	30
1.4	Goma gelana	33
1.5	Quitina e a quitosana	36
1.6	Colágeno e a gelatina	38
1.7	Entrecruzamentos e EDC/NHS	40
1.8	Hidrogéis de macromoléculas naturais em sistemas de liberação controlada	43
2	OBJETIVOS	44
3	MATERIAIS E MÉTODOS	45
3.1	Reagentes utilizados	45
3.2	Preparação dos hidrogéis	45
3.2.1	Hidrogéis de alginato e quitosana e goma gelana e quitosana	45
3.2.2	Hidrogéis de goma gelana com (I) Jeffamina, (II) L-Lisina (III) gelatina	46
3.3	Análises espectrais	47
3.4	Análises térmicas	47
3.5	Grau de absorção de água	47
3.6	Parâmetros de rede	48
3.7	Análise de retenção de água	49
3.8	Análise de liberação controlada de fertilizante	49
3.9	Quantidade de água vinculada	50

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1	Hidrogéis de alginato e quitosana	52
4.2	Hidrogéis de goma gelana e quitosana	63
4.3	Hidrogéis de goma gelana e Jeffamina	80
4.4	Hidrogéis de goma gelana e L-lisina	96
4.5	Hidrogéis de goma gelana e gelatina	112
4.6	Resumo e aplicações em germinação de sementes	128
5	CONCLUSÕES	135
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	137

1 INTRODUÇÃO

A descoberta e utilização de polímeros sintéticos, como alguns obtidos a partir dos derivados do petróleo, levou a um grande avanço nos diversos ramos da indústria do século passado. Isso devido às suas propriedades, como: fácil moldagem, isolamento, facilidade em coloração, baixo peso e preço, entre outras. Graças a essas características, esses materiais começaram a substituir materiais tradicionais como a madeira, o metal e a cerâmica em vários setores industriais, desde eletrodomésticos à automóveis.¹ Contudo, após anos de entusiasmo, apareceram os problemas com o descarte dos polímeros sintéticos devido aos seus lentos processos de degradação. O aumento da poluição ambiental promoveu a preocupação com os seus destinos pós-uso e a procura por novos materiais em substituição aos polímeros sintéticos. Como um dos resultados, nos últimos anos foi dada a maior atenção aos polímeros e macromoléculas naturais, obtidos das fontes renováveis e de rápido crescimento como plantas ou pequenos animais por exemplo, sendo eles polissacarídeos ou proteínas. Estes polímeros tem encontrado atualmente uma grande aplicação em biotecnologia devido às suas boas propriedades mecânicas, de superfície e também por serem de baixo custo.² Outra vantagem da maioria desses polímeros é a sua excelente biocompatibilidade tanto com os tecidos humanos quanto com o meio ambiente, sendo possível sua utilização como materiais substituintes de tecidos vivos e por serem biodegradáveis no meio ambiente.

A agricultura moderna tem buscado cada vez mais o aumento na qualidade e produção de alimentos, o que resulta em um impacto considerável no consumo de água, fertilizantes, pesticidas, etc. O aumento da população mundial, assim como altos preços dos combustíveis fósseis e a escassez de água são fatores limitantes, o que torna imprescindível a otimização e melhoria dos sistemas de produção agrícolas.^{3; 4}

Dentre diversos polímeros naturais ou sintéticos, existem algumas macromoléculas que absorvem grande quantidade de água, possuindo um grande potencial para a formação de hidrogéis. O termo hidrogel está associado ao fato que quando material é colocado em excesso de água incha rapidamente conservando um grande volume de água em sua estrutura tridimensional sem se dissolver completamente.⁵ Desta maneira, buscando maior eficiência na produção agrícola, os

hidrogéis tornam-se uma boa opção para melhorar o aproveitamento e uso de água, assim como de reduzir o uso de fertilizantes.

1.1 Hidrogéis

A primeira aparição do termo hidrogel na literatura data de 1894, quando van Bemmelen publicou “*Das Hydrogel und das krystallinische Hydrat des Kupferoxyds*”,⁶ que pode ser traduzido como “O hidrogel e o hidrato cristalino do óxido de cobre”. Nessa publicação o autor apresentou os resultados do grande poder de absorção dos géis coloidais de óxidos de cobre e manganês. Mesmo não sendo a definição atual de hidrogéis, o termo foi associado a estes géis até que em 1960 Wichterle e Lim⁷ publicaram o trabalho “*Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) (pHEMA) gels for use as soft contact lenses*”. Os autores apresentaram nele os resultados das redes entrecruzadas com grande capacidade de absorção de água.⁷ Desde então as redes poliméricas entrecruzadas que absorvem grandes quantidades de água são consideradas hidrogéis. Por causa da propriedade de absorção de água, os hidrogéis poliméricos começaram ser utilizados para diversas aplicações, tais como: auxílio na cicatrização de ferimentos⁸, substrato para crescimento de células⁹ e sistemas de liberação controlada de substâncias químicas,^{10; 11} dentre outros.

Geralmente os hidrogéis podem ser definidos como estruturas tridimensionais formadas a partir de macromoléculas ou polímeros hidrofílicos entrecruzados para manter sua estrutura e permitir absorção de grandes quantidades de água sem sofrer a dissolução.^{8; 12} Os hidrogéis podem ser divididos em duas classes com relação à natureza do entrecruzamento das cadeias poliméricas, podendo ser, químico ou físico, ou ainda podendo haver uma combinação dos dois com diferentes proporções. No caso dos entrecruzamentos obtidos via reações químicas formam-se ligações químicas covalentes entre as cadeias macromoleculares, geralmente através de algum agente reticulante, levando a formação de uma rede polimérica. No caso de entrecruzamentos físicos ocorrem apenas interações físicas intra ou intermoleculares, como as forças van der Waals.¹³ A figura 1 ilustra os hidrogéis obtidos via reações químicas e interações físicas.

Figura 1 – Esquema de interação entre as cadeias dos hidrogéis químicos e físicos, demonstrando os pontos de entrecruzamentos (vermelho).

A presença dos pontos de entrecruzamento na cadeia polimérica altera as propriedades físicas e químicas do polímeros, bem como sua capacidade de absorção de água.¹⁴ Flory e Rehner¹⁵ desenvolveram um método de associação da quantidade de entrecruzamentos presentes no hidrogel com sua absorção máxima. Para isso, eles consideraram que os pontos onde ocorre o entrecruzamento entre duas cadeias é rígido, o que significa que não possui elasticidade nem absorve água. Sendo assim, uma maior quantidade de entrecruzamentos resulta em uma menor massa molecular média entre os entrecruzamentos (M_c).¹⁶ A figura 2 ilustra a definição da massa molecular média entre os entrecruzamentos (M_c) em uma cadeia entrecruzada, segundo Flory e Rehner.¹⁵

Figura 2 – Ilustração da cadeia entrecruzada dos hidrogéis, representando a massa molecular média entre os entrecruzamentos M_c .

Os hidrogéis também podem ser diferenciados pela forma como são preparados. Basicamente existem 3 formas de preparação de hidrogéis, o que difere na sua estrutura final. Hidrogéis homo poliméricos são preparados a partir de um mesmo monômero hidrofílico. Dependendo da estrutura e do método de polimerização eles também podem ser entrecruzados, como é o caso do hidrogel de pHEMA preparado por Wichterle e Lim.⁷ Hidrogéis co-poliméricos são preparados a partir de dois monômeros diferentes, sendo pelo menos um hidrofílico, distribuídos aleatoriamente, alternadamente, em blocos ou intercalados pela cadeia polimérica (figura 3). Além disso, podem ser obtidas também as redes IPN (*interpenetrating polymer network*) com duas redes poliméricas com cadeias entrelaçadas ou semi-IPN com cadeias lineares de um polímero entrelaçadas com a rede de outro polímero.¹⁷

¹⁸ Alguns exemplos destas redes estão ilustrados na figura 3.

Figura 3 – Possíveis formas de preparação de hidrogéis e interação entre as cadeias poliméricas.

A absorção de água no interior da cadeia polimérica do hidrogel refere-se à hidrofiliabilidade das cadeias poliméricas. Quando o hidrogel seco entra em contato com a água, as primeiras moléculas de água absorvidas hidratam as moléculas mais polares da estrutura polimérica, levando a um primeiro tipo de ligação da água com as moléculas do polímero. Com a hidratação destes primeiros grupos, ocorre o aumento da estrutura polimérica, onde as moléculas mais hidrofóbicas no interior da matriz polimérica ficam expostas à água. Esta expansão da estrutura e a hidratação dos grupos no interior da molécula leva ao aparecimento de um segundo tipo de interação das moléculas de água, que ocorre com os grupos mais hidrofóbicos do polímero e é uma interação mais fraca.¹⁸ Além destes dois tipos de interação de água no interior do hidrogel, ocorre ainda um terceiro fenômeno da difusão osmótica entre as cadeias. Em oposição aos fenômenos de hidratação existem forças covalentes e estruturais dos hidrogéis, bem como os entrecruzamentos que mantêm a sua estrutura tridimensional e lhe conferem a sua capacidade elástica. Deste modo, o equilíbrio entre as forças de absorção e retenção de água são contrabalanceadas pelas forças de expansão da cadeia polimérica até que seja atingido o equilíbrio onde ocorre a máxima absorção de água.^{16; 18}

Conforme citado acima, a quantidade de água absorvida tem um papel importante na determinação da característica geral de uma rede polimérica. Assim, hidrogéis hidrofílicos com grandes quantidades de água em suas estruturas apresentam propriedades diferentes se comparadas com as redes poliméricas hidrofóbicas. Geralmente a preparação dos hidrogéis também é mais simples em relação às redes poliméricas hidrofóbicas, onde o entrecruzamento ocorre a temperatura ambiente em meio aquoso. Para aplicação com fins biomédicos e liberação controlada de fármacos os hidrogéis também devem ter biocompatibilidade. Existem diversos monômeros sintéticos com essas propriedades, conforme listado na tabela 1.¹⁹

Tabela 1 – Principais monômeros sintéticos utilizados na preparação de hidrogéis para o uso medicinal.

Hidroxietil metacrilato	HEMA
Hidroxietoxietil metacrilato	HEEMA
Hidroxidietoxietil metacrilato	HDEEMA
Metoxietil metacrilato	MESMA
Metoxietoxietil metacrilato	MEEMA
Metoxidietoxietil metacrilato	MDEEMA
Etilenoglicol dimetacrilato	EGDMA
<i>N</i> -vinil-2-pirrolidona	NVP
<i>N</i> -isopropilacrilamida	NIPAAm
Acetato vinílico	VAc
Ácido acrílico	AA
Ácido metacrílico	MAA
<i>N</i> -(2-hidroxipropil) metacrilamida	HPMA
Etilenoglicol	EG
Etilenoglicol acrilato	PEGA
Etilenoglicol metacrilato	PEGMA
Etilenoglicol diacrilato	PEGDA
Etilenoglicol dimetacrilato	PEGDMA

Os hidrogéis apresentam algumas características que são muito interessantes para aplicações médicas, tais como:

- atoxicidade;
- capacidade de intumescer em água e fluídos biológicos, o que os assemelha muito aos tecidos vivos;
- consistência elastomérica, o que minimiza o atrito entre tecidos e o hidrogel;
- alta permeabilidade, o que permite o fluxo de fluídos corpóreos pelo hidrogel devido à alta porosidade;
- facilidade de obtenção em diferentes formas;
- possibilidade de incorporação e liberação controlada de fármacos de diferentes polaridades.²⁰

Atualmente, a maioria dos hidrogéis superabsorventes disponíveis comercialmente são poliacrilatos de sódio reticulados, devido à sua fácil preparação, grande poder de absorção e baixo custo. Porém, esses materiais são resistentes ao ataque de microrganismos o que os torna pouco atrativos do ponto de vista ambiental, uma vez que as principais aplicações de hidrogéis superabsorventes são produtos descartáveis, os mesmos podem resultar em poluição ambiental. Assim, os hidrogéis superabsorventes a base de polímeros naturais que são biocompatíveis e biodegradáveis têm recebido crescente atenção nos últimos anos.^{21; 22} Os polissacarídeos de modo geral são solúveis em sistemas aquosos, mas tornam-se insolúveis quando submetidos às reações de entrecruzamento com reagentes convenientes. Assim, eles podem formar hidrogéis com propriedades variadas dependendo da quantidade dessas reações e controle do tamanho dos poros na matriz do gel resultante.^{23; 24}

1.2 Sistemas de liberação controlada

Devido a sua estrutura tridimensional e integridade física, ambas resultado dos entrecruzamentos, os hidrogéis estão sendo aplicados em diversas áreas biológicas e farmacêuticas. Isso ocorre principalmente pelo fato de que a sua estrutura hidratada se assemelha aos tecidos vivos e, portanto aumenta a sua biocompatibilidade. Como resultado, o interesse dos cientistas foi despertado para os estudos de liberação controlada de fármacos. O primeiro estudo desse gênero foi sobre a liberação controlada de dextroanfetamina por um período de 12 horas. Isso ocorreu em 1952 e

foi feito por Smith, Kline e French.²⁵ Porém, tanto este primeiro estudo de liberação controlada de fármacos quanto vários posteriores são baseados no encapsulamento das moléculas a serem liberadas, conforme será mencionado adiante.

A evolução das pesquisas em hidrogéis mostrou que as cadeias poliméricas dos hidrogéis fornecem a proteção desejada para as substâncias de interesse até os limites onde elas devem ser liberadas.²⁶ Devido a estas características, foi observado que os estudos de liberação controlada, inicialmente desenvolvidos para os fármacos,^{27; 28} também podem ser aplicados para insumos agrícolas tais como: fertilizantes, nutrientes, herbicidas, etc, seguindo os mesmos princípios.

A ideia principal dos sistemas de liberação controlada é permitir a liberação progressiva de substâncias químicas ativas, de modo a manter uma concentração considerada ideal. A presença prolongada da substância química ativa favorece a sua concentração e conseqüentemente sua atuação por um período de tempo longo, ao contrário de aplicações pontuais, nos quais há uma alta concentração da substância por um curto período de tempo, conforme ilustrado na figura 4. Além disso, o uso de sistemas de liberação de substâncias químicas controladas diminui consideravelmente o desperdício, a sub e a superdosagem.²⁹

Figura 4 – Comparação entre liberação controlada e aplicações pontuais.

Diferentemente dos sistemas de encapsulamento, onde a cápsula se dissolve com o tempo, os hidrogéis em seu estado seco, estão com suas cadeias poliméricas comprimidas, retendo as moléculas de interesse em sua estrutura. Quando o mesmo é colocado em contato com a água, a sua absorção expande estas cadeias, liberando

assim as moléculas. Como a hidratação do hidrogel ocorre lentamente, as substâncias são liberadas de modo controlado para o meio³⁰ conforme ilustrado na figura 5.

Figura 5 – Atuação dos sistemas de liberação controlada de fertilizantes com o uso de hidrogéis.

A capacidade de retenção de água pelos hidrogéis pode ser útil nos períodos de seca promovendo a sua liberação gradativa e permitindo o controle da umidade do solo. Assim, esta característica dos hidrogéis pode ser aproveitada com sucesso na agricultura através da modificação das propriedades físicas adversas do solo, como baixa capacidade de retenção de água e excessiva permeabilidade.¹¹ Contudo, neste caso, é recomendável que o hidrogel seja biodegradável no sentido de evitar o seu acúmulo no meio ambiente, e consequentemente a poluição³¹ ocasionada por repetidas aplicações.

Com a crescente demanda de alimentos, o aumento da agricultura industrial ao redor do mundo é inevitável, com isso, o uso de insumos agrícolas tem aumentado na mesma proporção. Aliado ao desenvolvimento de espécies vegetais mais produtivas e a expansão das áreas de cultivo, a demanda por fertilizantes também tem sido cada vez maior. Estima-se um aumento de 32% na utilização mundial de fertilizantes nos últimos anos.³² Entretanto, a grande parte destes nutrientes não é fixada pelas plantas o que leva a sua perda, principalmente por lixiviação.³³ Por outro lado, o uso de

hidrogéis como sistemas de liberação controlada de fertilizantes aumenta a presença dos nutrientes no solo de acordo com as necessidades das plantas, no sentido de se adaptar melhor ao seu ciclo de vida, reduzir o risco de queima das suas raízes por superdosagem³⁴ e evitar desperdícios.

As principais propriedades que credenciam os hidrogéis para serem aplicados como veículos carreadores para liberação controlada de insumos agrícolas são: atoxicidade, biodegradabilidade, variação de propriedades em função de estímulos externos como a presença de íons e pH, alta hidratação em um curto intervalo de tempo, capacidade de liberação prolongada e controlada de água e insumos agrícolas.^{22; 35} Além disso, a rápida absorção de água em um curto intervalo de tempo é muito desejável para hidrogéis aplicados como condicionantes de solo e controle de erosão, principalmente quando adicionados em solos de regiões com chuvas fortes e rápidas.

Os principais benefícios dos sistemas de liberação controlada/prolongada de insumos agrícolas, para o setor agrícola são:

- aumento de eficiência funcional do insumo sintetizado quimicamente (herbicidas, inseticidas, parasiticidas, etc.) ou de natureza biológica (microrganismos com atividade específica contra uma praga alvo);
- diminuição dos custos;
- aumento de segurança no manuseio destes produtos;
- redução dos riscos de toxidez para o homem;
- redução da contaminação ambiental.

O objetivo principal desse sistema é manter a concentração de fertilizante em uma faixa considerada ótima por um tempo prolongado, utilizando-se uma única dosagem e/ou aplicação. Isso significa que a sua quantidade não pode ser grande demais, pois há risco de ser desperdiçado devido a superdosagem e também não pode ser pequeno demais porque é ineficaz. Tendo em vista que grandes quantidades de nitrogênio (40 a 70%) e potássio (50 a 70%), sob a forma de nutrientes, são perdidas do solo por lixiviação, somente menos que 0,1 % desses nutrientes é absorvida nas plantações. Para suprir essa carência, é necessário a aplicação de doses extras de fertilizantes, o que causa enorme desperdício, consequentemente aumento no custo da produção, bem como sérios problemas de poluição ambiental.¹¹

A liberação controlada de fertilizantes normalmente ocorre através de dois métodos, encapsulamento ou fixação de moléculas em uma matriz polimérica

permitindo a sua liberação somente por estímulo do meio como, por exemplo, a hidratação (figura 5). O encapsulamento consiste em revestir o grão de fertilizante com um polímero normalmente hidrofóbico, podendo ser natural^{36; 37} ou sintético.³⁸ A sua liberação pode ocorrer pela decomposição deste polímero por micróbios ou pela entrada de vapor de água no interior da cápsula, que acaba se rompendo pela pressão osmótica ou ainda pela difusão através de microporos na estrutura da cápsula. A figura 6 ilustra o método de encapsulamento, onde do lado direito está representado o rompimento da cápsula devido a sua decomposição ou explosão por causa da pressão, e do lado esquerdo a liberação do fertilizante por difusão através de microporos. Comercialmente existem diversos sistemas de encapsulamentos utilizando ceras ou polímeros sintéticos para fertilizantes,³ tais como CoteN®, Duration®, ESN®, Polyon®, todos da DuPont Pioneer.

Figura 6 – Liberação de fertilizantes através do sistema de encapsulamento, degradando do lado esquerdo e por difusão através de microporos do lado direito.

Além de aumentar a eficiência e diminuir os custos com fertilizantes, o uso dos hidrogéis para diminuir as perdas de insumos é uma alternativa ecológica, tornando a agricultura moderna mais sustentável. Enquanto a lixiviação pode resultar em

contaminação dos lençóis de água, a perda por evaporação e a atuação de microrganismos nos solos ricos em nutrientes pode liberar grandes quantidades de óxido nitroso na atmosfera, causando chuvas ácidas e causando a acidificação do solo. Embora o nitrogênio seja necessário para o desenvolvimento de maioria das plantas o seu excesso no solo pode diminuir ou até acabar com a produção agrícola. Além disso, o uso excessivo de fertilizantes compostos por sais também pode modificar a composição do solo, aumentando a salinidade e a concentração de metais pesados.^{3; 39}

Existem diversos estudos sobre utilização de hidrogéis em sistemas de liberação controlada de fertilizantes, porém a maioria deles descreve sistemas a base de polímeros sintéticos, especialmente a poliacrilamida (pAAm), um polímero sintético de baixo custo e fácil preparação. Os hidrogéis contendo pAAm são bastante interessantes pois podem ser preparados para liberar fertilizante durante algumas horas,³⁵ 1 dia⁴⁰ ou até durante 60 dias.⁴¹ Também existem diversos sistemas de liberação controlada de fertilizantes baseados em encapsulamento dos grânulos de fertilizante, que não possuem as características típicas do hidrogel no solo, mas ainda assim apresentam boas taxas de liberação controlada. Por exemplo, os grânulos de uréia encapsulados com carboximetilcelulose e hidroxietilcelulose apresentaram liberação em até 20 dias⁴ e grânulos de fertilizante NPK apresentaram liberação completa após 30 dias.⁴²

Visto que a disponibilidade de insumos no solo é um fator que contribui para o crescimento, aumento de produtividade e qualidade de plantas no cultivo, há um grande interesse no desenvolvimento de novos sistemas de liberação controlada de fertilizantes a base de hidrogéis. Adicionalmente, a presença de hidrogéis no solo também proporciona a melhor e maior disponibilidade de água, reduz as perdas por percolação e lixiviação de nutrientes e melhora a sua aeração e drenagem, acelerando o desenvolvimento do sistema radicular e aéreo das plantas.^{21; 43}

1.3 Alginato

O alginato, ou sal de ácido algínico foi isolado pela primeira vez em 1881,⁴⁴ pelo químico inglês E.C.C. Stanford, através da sua extração com carbonato de sódio e consequente precipitação em pH baixo. Em 1929, descobriu-se a presença do ácido urônico na sua formulação⁴⁵ e a presença do ácido D-manurônico em maior

quantidade nas cadeias do alginato.⁴⁶ A posterior evolução da cromatografia em papel levou à identificação do ácido gulurônico e em 1965 foi descoberto que a proporção de ácidos manurônico e gulurônico na composição do alginato varia com a fonte de extração.⁴⁷

Extraído de fontes naturais, o alginato é um polímero muito abundante na natureza, pois é o principal constituinte estrutural das algas marrons, representando aproximadamente 40% de sua massa seca. O alginato tem sido usado em uma vasta gama de aplicações industriais, como no setor alimentício, têxtil, papelero e farmacêutico, entre outras. Por ser um polímero solúvel em água, é um material capaz de absorver grandes quantidades de água e formar géis.

A indústria alimentícia faz o uso da maior parte do alginato produzido atualmente. Este polímero aparece normalmente como espessante em produtos lácteos e sorvetes. O alginato é aplicado também na indústria de bebidas para estabilizar a espuma de cerveja ou para manter os constituintes da mistura em suspensão de sucos. Na indústria têxtil a utilização do alginato melhora o desempenho das tintas utilizadas nos processos de impressão favorecendo a aderência e a deposição destes sobre os tecidos. Na indústria de papel a adição de alginato melhora as propriedades de impressão.⁴⁸

Existem também muitas pesquisas com alginato para a preparação de materiais que auxiliam na cicatrização de ferimentos, devido a sua natural biocompatibilidade e não toxicidade, seja na forma de gel, espuma ou fibras.⁴⁹ Ele pode ser usado tanto em sua forma seca para absorver umidade ou hidratada para umedecer o ferimento. Contudo, em ambos os casos o alginato age como um suplemento, controlando a umidade. As soluções de alginatos são viscosas devido às interações da ligação de hidrogênio entre os grupos polares da estrutura polimérica, especialmente a hidroxila, com solventes hidroxilados, como a água.⁵⁰

O alginato é insolúvel em solventes miscíveis em água, como álcoois e cetonas. Entretanto, devido à presença de grupos carboxila e hidroxila na cadeia polimérica, o ácido algínico apresenta forte interação com os diversos íons metálicos, tipicamente de cálcio (Ca^{2+}), formando os entrecruzamentos e consequentemente os géis. Esta propriedade é muito utilizada em várias aplicações como, por exemplo, aditivo estabilizante na indústria alimentícia.^{51; 52}

Estruturalmente, o ácido algínico (figura 7) é um biopolímero linear da família polissacarídeos, constituído por unidades monoméricas dos ácidos D-manurônico (M)

e L-gulurônico (G) em diferentes composições e sequências. Estes dois ácidos são estereoquimicamente diferentes, devido a diferente conformação no carbono C-5. A estrutura química dele pode ser representada através da junção dos dois ácidos por ligações glicosídicas 1 → 4⁵⁰ como mostrado na figura 7.

A razão entre unidades M:G e a quantidade relativa dos três segmentos poliméricos (MM, MG e GG) varia com a fonte de obtenção. Assim, os alginatos extraídos de algas marinhas distintas apresentam composição e estrutura polimérica diferentes e, conseqüentemente, propriedades diferentes.^{50; 53} Os alginatos com a maior porcentagem de blocos G formam géis mais rígidos e quebradiços, que podem sofrer sinérese, o que significa a expulsão de líquido da matriz, enquanto os géis de alginato com maior porcentagem de blocos M são mais elásticos e dificilmente sofrem a sinérese.⁵³

Figura 7 - Fragmento da cadeia polimérica do alginato ilustrando sua estrutura, os blocos-M, blocos-G e blocos-MG e o C5 quiral (laranja).

Comercialmente o alginato é obtido principalmente a partir das algas: *Laminaria hyperborea*, *Macrocystis pyrifera*, *Laminaria digitata*, *Ascophyllum nodosum*, *Laminaria japonica*, *Eclonia maxima*, *Lessonia nigrescens*, *Durvillea antarctica* e *Sargassum spp.*⁵⁰ As diferentes fontes de obtenção influenciam na proporção de fragmentos G e M na composição, bem como os blocos GG, MM e GM, conforme ilustrado na tabela 2.

Tabela 2 – Porcentagem de blocos G, M e grupos GG, MM e GM em diferentes espécies de algas.⁵⁰

Alga	G%	M%	GG%	MM%	GM%
<i>Laminaria japonica</i>	35	65	18	48	17
<i>Laminaria digitata</i>	41	59	25	43	16
<i>Laminaria hyperborea</i>	55	45	38	28	17
<i>Lessonia nigrescens</i>	38	62	19	43	19
<i>Ecklonia máxima</i>	45	55	22	32	32
<i>Macrocystis pyrifera</i>	39	61	16	38	23
<i>Durvillea antarctica</i>	29	71	15	57	14
<i>Ascophyllum nodosum</i>	10	90	4	84	6

1.4 Goma gelana

Exopolissacarídeos microbianos estão sendo utilizados em uma ampla variedade de aplicações, tais como: indústria alimentícia, farmacêutica e outras indústrias devido à sua estrutura e propriedades físicas únicas. Algumas destas aplicações incluem a sua utilização como emulsificante, estabilizante, quelante, gelificante, coagulante, lubrificante, espessante, substâncias filmógenas e agentes de suspensão.⁵⁴ Estas biomoléculas estão surgindo com grande potencial para a indústria, e gradativamente estão se tornando competitivas economicamente com gomas naturais produzidas a partir de algas marinhas e outras plantas. Polissacarídeos microbianos são polímeros solúveis em água podendo ser tanto aniônicos quanto catiônicos. As unidades de repetição destes exopolissacarídeos são regulares, ramificadas ou não, e estão ligadas por ligações glicosídicas. Atualmente um pequeno número destes polímeros são produzidos comercialmente em grande escala.⁵⁵

Entre os polímeros que já são produzidos comercialmente ou que tem sido o assunto de estudos extensivos são a goma xantana produzida a partir da *Xanthomonas campestris*, a goma gelana produzida a partir da *Sphingomonas paucimobilis* e os alginatos bacterianos secretados pelas *Pseudomonas sp.*, *Azotobacter vinelandii* e *Azotobacter chroococcum*. Pequenas quantidades de celulose bacteriana de *Acetobacter xylinum*, o ácido hialurônico de *Streptococcus equii* e

succinoglicano de *Rhizobium* também já são produzidos industrialmente, mas ainda em pequena escala.⁵⁵

A goma gelana é o nome genérico dado ao polissacarídeo extracelular produzido pela bactéria *Pseudomonas elodea*. Foi descoberta em 1978 por Kaneko e Kang⁵⁶ no laboratório da empresa CP Kelco. Porém, antes de obter o nome atual, foi denominada pelos nomes código S-60 ou PS-60. O micro-organismo produtor da goma gelana foi isolado a partir dos tecidos da planta *Elodea* e os estudos mais avançados provaram que o polímero era produzido por uma nova espécie de *Pseudomonas*, nomeada como *Pseudomonas elodea*.⁵⁵ Em 1994, foi descoberta e classificada a bactéria produtora da goma gelana *Sphingomonas paucimobilis*.⁵⁷ Após conduzidos ensaios de toxicidade a goma gelana foi aprovada para utilização em alimentos, em 1988 no Japão e em 1992 foi aprovada pela agência reguladora norte americana *Food and Drug Administration* (FDA).

A goma gelana é um polissacarídeo aniônico, desacetilado e de elevada massa molecular. Ela é constituída por unidades repetidas de β -1,3-D-glicose, β -1,4-D-ácido glucorônico e α -1,4-L-raminose numa razão de 3:1:1, como mostrado na figura 8. A composição é de cerca de 60% de β -1,3-D-glicose, 20% de α -1,4-L-raminose e 20% de β -1,4-D-ácido glucorônico.^{58; 59}

Figura 8 - Estrutura representativa da goma gelana.

A goma gelana é obtida comercialmente em duas formas, nativa, com alto teor de acila (GGHA) ou baixo teor de acila (GGLA), onde aproximadamente metade dos resíduos de glucose possuem um substituinte acetato e um substituinte L-glicerato.⁶⁰

A presença do grupo acetato tem uma grande influência nas características do gel: enquanto a forma nativa (GGHA) origina géis macios, elásticos e sem brilho, a forma desacetilada (GGLA) gera géis firmes, duros, não elásticos e com alto brilho.⁶¹

Nos últimos anos a goma gelana tem recebido considerável atenção devido a sua propriedade de formar géis termo reversíveis o que significa que demonstra as suas propriedades físico-químicas reversíveis em processos de aquecimento até 120°C e resfriamento.⁵⁹ A sua gelificação ocorre pela formação de duplas hélices (figura 9), no sentido anti-horário, resultando em uma rede tridimensional, devido à complexação com cátions e formação de ligações de hidrogênio com a água. A interação eletrostática entre os cátions e os grupos carboxilato contribui para a estabilização da dupla hélice, criando zonas de junção.^{62; 63}

Figura 9 - Estrutura representativa da dupla hélice formada pela gelificação da goma gelana.

Além de capacidade de formar géis termo reversíveis e estáveis até 120°C a goma gelana possui outras grandes vantagens como, ser muito útil no cultivo de organismos termofílicos⁵⁹ e na formação de géis comparáveis com os géis de ágar, com a vantagem de utilizar metade da sua quantidade. Também, a goma gelana proporciona géis muito claros o que é vantajoso em análises microscópicas de células e tecidos.⁶⁴

A goma gelana atualmente é produzida comercialmente pela CP Kelco e/ou Duchefa sob nome comercial *Gelrite*[®]. Há vários trabalhos na literatura sobre o uso de *Gelrite*[®] na obtenção de sistemas para a liberação de fármacos, principalmente para o uso oftalmológico.^{65; 66} Entretanto, há poucas referências sobre o uso deste polissacarídeo na obtenção de redes e para uso de liberação de fertilizantes e pesticidas.

Entre os trabalhos encontrados pode ser citado Coviello *et al*,⁶⁷ que prepararam um novo tipo de rede polimérica a base de *Gelrite*[®] e escleroglucano para obtenção de matrizes para liberação de fármacos ou defensivos agrícolas. Os perfis de liberação de *theophiline* (droga usada para os tratamentos de asma) foram considerados como sendo bons, respondendo em diferentes condições e na presença de íons de cálcio e sódio. Agnihotri *et al*⁶⁸ descreveu a obtenção e caracterização de redes de goma gelana com poli(álcool vinílico) (PVA). Estas redes mostraram melhores propriedades mecânicas quando comparadas com os géis de goma gelana pura sendo indicadas como ótimos materiais (redes IPN; interpenetrantes) para preparação de microesferas de liberação de fármacos. Amici *et al*⁶⁹ obteve as redes interpenetrantes de goma gelana e agar que mostraram heterogeneidade de sua estrutura e a escala da distância entre as suas cadeias comparável com o tamanho dos seus poros.

1.5 Quitina e a quitosana

A quitina foi isolada em 1811 por Bracannot, sendo denominada na época de *fugine*, por ter sido extraída de cogumelos. Em 1823 Odier extraiu o mesmo composto do élitro de besouros e nomeou-o como quitina, do termo grego *chitos*, que significa casaco. Em 1859 Rouget descobriu a quitosana após tratar a quitina com uma solução quente de hidróxido de potássio. Ele também propôs o seu nome como “quitina modificada”. Contudo, o nome definitivo de quitosana foi proposto em 1894 por Hoppe-Seyler.⁷⁰

A quitina é o segundo polissacarídeo natural de maior abundância na natureza ao lado da celulose. A sua estrutura química a diferencia da estrutura da celulose pela presença de grupos acetamida ($-\text{NHCOCH}_3$) (fig. 10). Sua principal fonte de obtenção são as carapaças e exoesqueletos de crustáceos,⁷¹ mas pode, como mencionado acima, também ser obtida de alguns cogumelos.

A quitosana, por sua vez é obtida pela reação de desacetilação da quitina em meio alcalino. Nos últimos anos a quitosana se tornou atraente cientificamente devido ao seu poder de absorção de gorduras o que é aproveitado na produção de remédios para redução de peso.

Do ponto de vista químico ela é constituída por uma sequência linear de açúcares monoméricos N-acetilglicosaminas, diferindo da celulose apenas na localização dos grupos hidroxila, substituídos por grupos acetamino na quitina como mostrado na figura 10.⁷¹

Figura 10 – Estrutura representativa da quitina ($R = -COCH_3$) e quitosana ($R = -H$ ou $-COCH_3$).

Conforme citado acima, a quitosana é preparada a partir da reação de N-desacetilação da quitina, onde no mínimo 50% dos grupos acetamida ($-\text{NHCOCH}_3$) são convertidos em grupos amino ($-\text{NH}_2$).⁷² Apresenta-se na forma de um copolímero composto por unidades repetitivas de β -(1 $\rightarrow$ 4)- 2-amino 2-desoxi-D-glicose unidas por ligações glicosídicas. Além disso, também possui resíduos não reagidos, conforme ilustrado na figura 10 onde $R = -COCH_3$ se refere à molécula da quitina e $R = -H$ ou $-COCH_3$ (dependendo do grau de desacetilação) à quitosana.⁷³

O grau de desacetilação (GD) indica a quantidade média de grupos acetamida convertidos em grupos amino nas cadeias, podendo influenciar nas características físicas e químicas do polímero. O produto N-desacetilado da quitina só é considerado quitosana quando o GD se torna igual ou superior a 50%.⁷²

A quitosana pode ser dissolvida em soluções de ácidos, pela protonação dos grupos amino, diferentemente da quitina que é insolúvel em água. A presença de grupos amino e hidroxilas na estrutura da quitosana garante uma grande absorção de água e, devido a sua biocompatibilidade e não-toxicidade, pode ser utilizada como biomaterial em diversas aplicações, como veículo de liberação de fármacos,⁷⁴ géis e

auxílio na cicatrização,⁸ dentre outros. Industrialmente a quitosana já vem sendo utilizada em cosméticos, na indústria de papel, têxtil e também como emulsificante na indústria alimentícia.⁷⁵

1.6 Colágeno e a gelatina

O colágeno é a principal proteína estrutural dos vários tecidos conjuntivos em animais, sendo assim a proteína mais abundante em mamíferos na quantidade de 25% a 35%. O colágeno, sob a forma de fibrilas alongadas, é encontrado principalmente nos tecidos fibrosos, tais como tendões, ligamentos e pele. Também é abundante em córneas, cartilagens, ossos, vasos sanguíneos, no intestino, discos intervertebrais e dentina nos dentes. Esta proteína é responsável por 1 a 2% do tecido muscular e representa 6% do peso, de músculos tendinosos fortes.⁷⁶ O termo colágeno é derivado do grego *kolla* (κολλα) o que significa "cola" e o sufixo - *gen* (-γέν) denotando "produzir". Assim, o termo colágeno se refere à antiga técnica de ferver pele e nervos de animais para a obtenção de cola.

O nome colágeno é considerado um termo genérico para toda proteína formada por uma tripla hélice característica de três cadeias polipeptídicas. Todos os membros da família do colágeno formam estas estruturas supramoleculares, apesar de variarem em tamanho, função e distribuição.⁷⁷ Os diferentes tipos de colágeno são caracterizados pela complexidade e diversidade em sua estrutura, sua montagem e sua função.

Os colágenos mais comuns são os formadores de fibrilas, que incluem os tipos I, II, III, V e XI. Estes colágenos são caracterizados pela sua capacidade de organizar agregados supramoleculares altamente orientados com uma supra estrutura característica.⁷⁸ O colágeno tipo I é o colágeno mais abundante e o mais estudado. Ele compõe mais de 90% da massa orgânica do osso e é o principal colágeno de tendões, peles, ligamentos, córneas, e muitos tecidos conjuntivos intersticiais com a exceção de muito poucos tecidos, tais como a cartilagem hialina, o cérebro e o corpo vítreo. Na maioria dos órgãos, principalmente nos tendões, o colágeno tipo I fornece rigidez à tração e nos ossos confere as propriedades biomecânicas em matéria de suporte de carga e resistência à tração.⁷⁹

A gelatina é uma proteína produzida a partir da desnaturação do colágeno, isolado a partir de pele e ossos de animais. A desnaturação elimina a estrutura de

tripla hélice do colágeno, geralmente resultando em uma cadeia simples de resíduos de aminoácidos. Composta por uma mistura heterogênea de cadeias polipeptídicas, sua estrutura contém muitos resíduos de glicina (Gly) (aproximadamente 1 em cada 3), prolina (Pro), 4-hidroxiprolina (4Hyp) e glutamina (Glu). Uma estrutura típica da gelatina é composta pelos resíduos de aminoácidos -Ala-Gly-Pro-Arg-Gly-Glu-4Hyp-Gly-Pro- conforme ilustrado na figura 11.⁸⁰

Figura 11 – Estrutura da gelatina.

Existem dois tipos de gelatina A e B. O pré-tratamento ácido de colágeno de pele de porco resulta em gelatina do tipo A. Um pré-tratamento alcalino do colágeno do couro e ossos bovinos promove a conversão dos resíduos de asparagina e glutamina em seus respectivos ácidos, resultando em gelatina do tipo B com elevada viscosidade.⁸¹

A gelatina é utilizada em diversas aplicações, incluindo processamento de alimentos, fotografia, eletroquímica e indústria farmacêutica, onde a função principal da gelatina é como um estabilizador. Nestas aplicações, a gelatina tipicamente estabiliza as superfícies por meio da formação de uma barreira estérica. Esta tem sido utilizada também no desenvolvimento de novos eletrólitos sólidos⁸², matriz para liberação controlada de substâncias químicas⁸³ e tecidos orgânicos artificiais⁸⁴, entre outros.⁸⁵

1.7 Entrecruzamentos e EDC/NHS

A presença dos entrecruzamentos entre as cadeias poliméricas afeta as propriedades físicas do polímero. A quantidade desses entrecruzamentos pode resultar em alteração da elasticidade, assim como a redução da viscosidade do polímero, pois para fluir, as cadeias devem mover-se entre si e o entrecruzamento impede este movimento. A solubilidade também diminui com a presença dos entrecruzamentos entre as cadeias poliméricas, por causa das ligações covalentes que ligam as cadeias entre si. Desta maneira existe uma maior união entre as diferentes cadeias poliméricas e mesmo se a matriz polimérica absorve uma grande quantidade de solventes as cadeias não se dissolvem.¹² Dependendo da natureza do polímero, podem ser promovidas diferentes reações de entrecruzamento. Podendo este ocorrer através da polimerização de monômeros, como no caso da poliacrilamida, ou por ligação covalente entre as cadeias poliméricas através de irradiação, vulcanização com o enxofre ou por outras reações químicas. Em todos os casos, a estrutura química do polímero é alterada de um sistema unidimensional para bi ou tridimensional.¹⁴

No caso de hidrogéis, a presença de entrecruzamentos entre as cadeias é um ponto importante porque evita a dissolução das cadeias de um polímero hidrofílico em água.¹² Um sistema comum de entrecruzamento em hidrogéis pode ser obtido por polimerização radicalar de monômeros de baixa massa molecular e na presença de agentes reticulantes. O hidrogel preparado por Wichterle e Lim⁷ de poli(2-hidroxietil metacrilato) (pHEMA) é um hidrogel bem conhecido e frequentemente estudado. Pode ser obtido por polimerização do HEMA, na presença de um agente de reticulação adequado, como por exemplo o dimetacrilato de etilenoglicol. Utilizando processos semelhantes, uma grande variedade de outros hidrogéis foi sintetizada,⁸⁶ sendo em sua grande maioria sintéticos.

EDC ou EDAC (1-etil-3 (3-dimetilaminopropil) carbodiimida), é possivelmente o composto mais popular para entrecruzar substâncias contendo grupos carboxilas e aminas. O EDC é solúvel em água, podendo ser adicionado diretamente à uma solução sem a necessidade de solventes orgânicos⁸⁷. Tanto o reagente como o subproduto da reação de entrecruzamento podem ser facilmente removidos do meio reacional.⁸⁸

Carbodiimidas N-substituídas podem reagir com ácidos carboxílicos para formar intermediários o-acilisourea altamente reativos. Estes intermediários reagem facilmente com nucleófilos, como uma amina, resultando em uma ligação amida,⁸⁹ conforme ilustrado na figura 12.

Figura 12 – Reação de entrecruzamento entre um ácido carboxílico e uma amina utilizando EDC. R e R' são as cadeias das moléculas a serem entrecruzadas.

A reação do EDC com o grupo carboxila para formar o éster intermediário (o-acilisourea) ocorre lentamente e na sequência pode ser hidrolisado em solução aquosa. A vantagem de adicionar NHS (N-hidroxissuccinamida) à reação é aumentar a solubilidade e estabilidade do intermediário ativo.⁹⁰ A reação de entrecruzamento entre um ácido carboxílico e uma amina utilizando EDC a NHS está mostrada na figura 13.

Figura 13 – Reação de entrecruzamento entre um ácido carboxílico e uma amina utilizando EDC e NHS. R e R' são as cadeias das moléculas a serem entrecruzadas.

Esse sistema de entrecruzamento utilizando EDC/NHS possui muitas vantagens, como a eficiência de conversão, condições brandas de reação, excelente biocompatibilidade sem alterar a molécula alvo e menos subprodutos se comparado com outros agentes reticulantes.⁹¹ Por esses motivos o EDC/NHS tem sido utilizado para conjugação biomolecular e imobilização de proteínas, peptídeos, DNA e polímeros, entre outros.^{92; 89}

1.8 Hidrogéis de macromoléculas naturais em sistemas de liberação controlada

Existem vários trabalhos na literatura sobre o uso de macromoléculas naturais para a obtenção de sistemas para a liberação de fármacos.^{65; 66} Entretanto, há poucas referências sobre o uso de macromoléculas naturais na obtenção de redes e para o uso de liberação de insumos agrícolas.

A maioria dos sistemas de liberação controlada para fertilizantes utiliza hidrogéis superabsorventes obtidos a partir da poliacrilamida devido à sua grande capacidade de absorção de água e formação de redes tridimensionais.⁹³ A utilização como condicionadores de solo e controle de umidade data de 1950,⁹⁴ desde então a poliacrilamida tem sido utilizada como base para a preparação de sistemas de liberação controlada de fertilizantes.^{95; 96}

Dentre alguns trabalhos recentes na área de hidrogéis para liberação controlada de fertilizantes pode ser citado o trabalho realizado por Rashidzadeh et al⁴¹ que prepararam os hidrogéis a partir de alginato de sódio, poliacrilamida e ácido acrílico, com a adição de zeolitas. Esses materiais apresentaram a liberação de fertilizante comercial nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) em até 60 dias. Bortolin *et al*⁴⁰ prepararam os hidrogéis baseados em poliacrilamida, metil celulose com adição de zeolitas, obtendo a liberação de ureia em 10 dias.

Como demonstrado acima, a utilização de hidrogéis superabsorventes preparados totalmente a partir de macromoléculas naturais e biodegradáveis, por enquanto não foi explorada e por isso parece ser além de interessante também essencial para a manutenção da produção agrícola.⁴

2 OBJETIVOS

Os principais objetivos deste trabalho foram a síntese de hidrogéis a partir de alginato, quitosana, goma gelana, Jeffamina, L-lisina e gelatina e o estudo das suas propriedades de absorção/desorção visando sua aplicação em sistemas de liberação controlada de fertilizantes agrícolas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes utilizados

Os reagentes utilizados, quitosana (CH) (massa molecular média, $M_w = \sim 480.000$ Da; GD 85%) foi obtido da Sigma-Aldrich; goma gelana com a elevada quantidade de grupos acila (*high acyl*; GGHA) e com baixa quantidade de grupos acila (*low acyl*; GGLA) ($M_w = \sim 1.000.000$ DA) foi recebida da CP Kelco; ácido acético glacial foi recebido da Synth, O,O'-Bis(2-aminopropil)polipropilenoglicol 130 (Jeffamina) foi adquirido da Fluka; L-lisina foi comprada da Synth; ácido 2-N-morfolinoetanossulfônico (MES) foi obtido da Sigma; soluções tampão de pH 4, 10 e fosfato-salino (PBS) foram recebidas da Imbralab; gelatina comercial foi da marca Oetker®; fertilizante comercial fosfato mono potássico (KH_2PO_4) (MKP) foi comprado da Yara Brasil Fertilizantes e fertilizante nitrato de amônio (NH_4NO_3), pentóxido de fósforo (P_2O_5) e óxido de potássio (K_2O) (NPK) 20-5-20 da Agro Brasil. Os reagentes foram utilizados como recebidos.

3.2 Preparação dos hidrogéis

3.2.1 HIDROGÉIS DE ALGINATO E QUITOSANA E GOMA GELANA E QUITOSANA

As redes de macromoléculas naturais foram sintetizadas a partir de soluções de polímeros naturais.

Solução de quitosana (CH): dissolveu-se 1,0 g de quitosana em 100 mL de ácido acético 2% (v/v) e mantendo sob agitação magnética por 12 horas. Esta solução foi filtrada para a remoção de resíduos não dissolvidos.

Solução de goma gelana (GG): dissolveu-se 1,0 g de goma gelana com elevada quantidade de grupos acila (GGHA) e/ou baixa quantidade de grupos acila (GGLA) em 1,0 L de água Milli-Q® sob agitação magnética e temperatura constante de 80 °C durante 2 horas.

Solução de ácido algínico (ALG): dissolveu-se 1,0 g de alginato de sódio (*Brown Algae*; Sigma-Aldrich) em 100 mL de água Milli-Q® sob agitação magnética

por 2 horas. Em seguida adicionou-se ácido acético à solução até obter-se o pH aproximadamente 3 sob agitação magnética.

Os géis foram sintetizados misturando-se as soluções em diferentes proporções como apresentado abaixo:

GGHA:CH nas proporções de 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1 e 4:1,

GGLA:CH nas proporções de 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1 e 4:1 e

ALG:CH nas proporções de 1:3, 1:2, 1:1.

Após agitação durante 4-6 horas, os géis foram lavados extensivamente com água e etanol e secos em estufa a 40 °C.

3.2.2 HIDROGÉIS DE GOMA GELANA COM (I)JEFFAMINA, (II) L-LISINA (III) GELATINA

Os hidrogéis de goma gelana entrecruzados com Jeffamina ou L-lisina ou gelatina foram preparados a partir da dissolução de 0,1g de goma gelana (GGHA ou GGLA) em 20 ml de tampão MES. Após a sua completa dissolução foi adicionado:

-0,4 ml de O,O'-Bis(2-aminopropil)polipropilenoglicol (Jeffamina) (Fluka) ou;

-0,2 g de L-lisina (Synth) dissolvida em 10 mL de tampão MES ou;

-0,2 g de gelatina (Oetker®) dissolvida em 10 mL de tampão MES.

Para obter diferentes valores de pontos de entrecruzamentos entre as cadeias, foram adicionadas diferentes quantidades de solução 0,1 mol/L de EDC e NHS, conforme ilustrado na tabela 3.

Tabela 3 – Quantidades de EDC/NHS utilizadas para preparação das amostras

Amostra GGxx:yyy*	EDC 0,1 M (mL)	NHS 0,1M (mL)
1	1	1
2	2	1
3	3	1
4	4	1

*xx indica HA ou LA; yyy indica JEF (Jeffamina), LYS (L-lisina) e GEL (gelatina).

Após mantidas sob agitação por 2 horas, as amostras foram submetidas a um processo de criogelacão,⁹⁷ sendo congeladas a -20°C por aproximadamente 6 horas e após aquecidas até temperatura ambiente, repetindo-se 3 vezes o processo.

As amostras foram então lavadas com água e secas em estufa a 40°C. As amostras foram nomeadas GGxx:yyy n, onde xx significava HA ou LA, yyy significa JEF, LYS ou GEL e n é 1 – 4, i.e., o número da amostra da tabela 3. Como exemplo, as amostras de hidrogéis de goma gelana com Jeffamina foram denominadas GGHA:JEF ou GGHA:JEF 2, com a L-lisina GGHA:LYS e com a gelatina GGHA:GEL.

3.3 Análises espectrais

Os espectros de FT-IR foram obtidos com um espectrofotômetro IRAffinity-1 da Shimadzu e o equipamento BOMEM modelo MB-102, usando a técnica de refletância total atenuada horizontal (ATR) direto na amostra, com 32 repetições de leitura no intervalo de 4000 a 500 cm⁻¹.

3.4 Análises térmicas

As análises de DSC foram conduzidas utilizando o equipamento DSC Q20, da TA Instruments em panela de alumínio, com uma taxa de aquecimento de 20°C/min, até atingir a temperatura sob fluxo de N₂ de 30 mL/min.

Os géis foram submetidos à análise termogravimétrica utilizando uma termobalança TGA Q50 da TA Instruments com uma taxa de aquecimento de 10°C/min sob um fluxo de N₂ de 30 mL/min.

3.5 Grau de absorção de água

A principal característica de um hidrogel é a sua capacidade de absorção quando em contato com a água ou outro solvente compatível. Em contato com a água, os grupos hidrofílicos do polímero começam a absorver água e a força de hidratação é contrabalanceada pela força da cadeia entrecruzada. Quando essas forças se equivalem o equilíbrio é atingido.

As medidas do grau de absorção de água foram feitas através de hidratação dos géis e sua pesagem. Amostra de aproximadamente 0,1 g de gel seco foi submersa em água à temperatura ambiente (25°C) por 24 horas. Em seguida o gel hidratado foi retirado da água e o excesso de água foi escorrido. A mostra foi pesada na balança analítica com precisão 0,001 g.

O Grau de Absorção (S) foi calculado pela equação 1, onde $w_{hidratado}$ é o peso do gel hidratado e w_{seco} o peso do gel seco.²⁴

$$S = \frac{W_{hidratado} - W_{seco}}{W_{seco}} \quad (1)$$

3.6 Parâmetros de rede

A capacidade de absorção de um hidrogel, bem como suas propriedades físicas e químicas estão diretamente relacionados ao modo em que ocorre o entrecruzamento entre as redes poliméricas.^{68; 98; 99} Uma técnica para qualificar essas propriedades foi desenvolvida pelo Flory e Rehner¹⁵ considerando a dependência desses parâmetros do equilíbrio de absorção. Neste estudo foi suposto que os pontos onde ocorre o entrecruzamento entre duas cadeias é rígido, logo os mesmos não possuem elasticidade nem absorvem a água. Ao entrar em contato com a água, o polímero absorve até a força elástica dos segmentos não entrecruzados se equilibrar com as forças osmóticas do solvente. Assim, a absorção de água está diretamente ligada à quantidade de segmentos poliméricos não entrecruzados.

Para avaliar a estrutura entrecruzada do hidrogel foi então calculada a densidade entre entrecruzamentos (d_x). Para isso foi usada a equação 2, onde v é o volume específico do polímero e M_c é a massa molecular média entre entrecruzamentos.

$$d_x = \frac{1}{vM_c} \quad (2)$$

A massa molecular média entre entrecruzamentos foi extensamente estudada por Flory e é representada pela equação de Flory-Rehner.^{98; 99}

$$M_c = \frac{-\rho_p V_s V_r^{1/3}}{[\ln(1-V_r) + V_r + \chi V_r^2]} \quad (3)$$

Sendo V_s o volume molar do solvente, ρ_p a densidade do polímero, ρ_s a densidade do solvente, V_r o volume molar da rede formada (eq. 4) e χ o parâmetro de Flory-Huggins (eq. 5). Este último correlaciona a afinidade entre solvente e o polímero.

$$V_r = \left[1 + \frac{\rho_p}{\rho_s} \left(\frac{M_a}{M_b} \right) + \frac{\rho_p}{\rho_s} \right]^{-1} \quad (4)$$

$$\chi = \left(\frac{V_s}{RT} \right) (\delta_{tpol} - \delta_{tsol})^2 \quad (5)$$

Na eq. 4, M_a é a massa do polímero hidratado e M_b é a massa do polímero seco e na eq. 5, V_s é o volume molar do solvente, δ_{tpol} o parâmetro de solubilidade do polímero e δ_{tsol} o parâmetro de solubilidade do solvente.

3.7 Análise de retenção de água

A análise dos géis úmidos foi conduzida com um determinador de umidade Marte ID50, utilizando-se temperatura constante de 70°C medindo se a massa de água perdida durante diversos intervalos de tempo.

3.8 Análise de liberação controlada de fertilizante

Para as análises de liberação controlada foram utilizados os fertilizantes comerciais fosfato mono potássico (KH_2PO_4) (MKP; Yara Brasil Fertilizantes Ltda) e fertilizante NPK 20-5-20 Agro Brasil composto por nitrato de amônio (NH_4NO_3), pentóxido de fósforo (P_2O_5) e óxido de potássio (K_2O). Os fertilizantes foram dissolvidos em água Milli-Q[®] formando soluções de 1, 5 e 10 g/L. Os hidrogéis foram submersas por 24 h nessas soluções, em seguida foram secos no dessecador e/ou estufa a 40°C. As amostras com fertilizante secas foram então imersas em 40 ml de água Milli-Q[®] e as condutividades foram medidas com o condutivímetro Hanna HI 2550 a cada 30 ou 60 min. Valores de liberação de fertilizante foram normalizados por massa da rede polimérica. Os valores de condutividades foram convertidos para valores de massa de fertilizante liberada utilizando-se as curvas de calibração apresentadas na figura 14.

Figura 14 – Curva de calibração utilizada para medidas de liberação controlada dos fertilizantes MKP e NPK utilizadas para os cálculos de liberação controlada.

3.9 Quantidade de água vinculada

Na presença de excesso de água, o polímero está totalmente inchado, o que pode acarretar em mudanças físicas e químicas do mesmo. A água pode plastificar o polímero ou formar ligações de hidrogênio estáveis gerando um efeito anti-plastificante. O comportamento da água pode mudar dependendo da intensidade da interação da água com o polímero. As interações mais fortes alteram as características desta água vinculada ao polímero, sendo classificada como congelável, vinculada ou vinculada-congelável.^{98; 100}

A água congelável (w_f) é que apresenta temperatura e entalpia de fusão/cristalização semelhantes a da água livre. Ao contrário, a água vinculada (w_{nf}) não apresenta transições calorimétricas, por estar mais fortemente ligada à cadeia polimérica. Água mais fracamente associada apresenta picos de fusão/cristalização, porém menores, chamada de vinculada-congelável.^{98; 100}

A soma dos três tipos de água é o total de água do sistema.

O valor de água total e quantidade de água congelável e não congelável no hidrogel foi obtido através de imersão de duas amostras por uma hora em água Milli-Q®. Em seguida, ambas as amostras foram analisadas por DSC Q20, da TA

Instruments, uma em panela de alumínio aberta e outra em panela de alumínio fechada hermeticamente.¹⁰⁰ A descrição detalhada está no final do item 4.2.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Hidrogéis de alginato e quitosana

Existem diversos estudos sobre hidrogéis de alginato e quitosana, como revestimentos ou encapsulamento para sistemas de liberação controlada ou mesmo para a fabricação de tecidos vivos sintéticos. A maioria das aplicações são para fins medicinais. Chen *et al*¹⁰¹ apresentou hidrogéis de alginato com carboximetilquitosana para liberação de proteínas terapeuticamente ativas, que apresentaram absorção máxima de aproximadamente 10 vezes do seu peso seco em aproximadamente 300 min. Pasparakis *et al*¹⁰² preparou esferas de alginato e quitosana para liberação de Verapamil (remédio para o controle de pressão arterial). Estas esferas tiveram absorção máxima de aproximadamente 14 vezes do seu peso seco em 180 min.

No presente trabalho os polímeros estudados, assim como os hidrogéis sintetizados foram inicialmente analisados por FT-IR. A figura 15 mostra os espectros de FT-IR das amostras de alginato, quitosana e da rede alginato-quitosana (ALG:CH). As três amostras evidenciam as bandas na região de 3500 cm^{-1} a 3000 cm^{-1} . As bandas na região de 3400 cm^{-1} estão atribuídas aos estiramentos dos grupos $-\text{OH}$ e $-\text{NH}_2$. O alargamento desta banda no hidrogel indica a interação entre as cadeias de alginato e quitosana. O espectro do alginato apresenta um pico característico de polissacarídeos em 1616 cm^{-1} .¹⁰³ O espectro da quitosana apresenta bandas em 1637 cm^{-1} referente a banda de amida I, possivelmente associada aos resíduos de quitina e a banda em 1153 cm^{-1} referente aos grupos amino.¹⁰⁴ Em torno de 1620 cm^{-1} aparecem as bandas dos grupos $\text{C}=\text{O}$ de ácidos carboxílicos e em 1400 cm^{-1} é o pico referente ao estiramento $\text{C}-\text{O}$. Além disso, observa-se uma pequena diminuição das bandas na região de 3000 cm^{-1} em relação a banda em 1400 cm^{-1} sugerindo a interação entre os grupos catiônicos da quitosana e os grupos aniônicos do alginato.¹⁰⁵

Figura 15- Espectros de FT-IR para alginato, quitosana e ALG:CH.

As amostras tanto de polímeros, alginato, quitosana quanto das redes ALG:CH foram submetidas às análises térmicas TG e DTG. Os resultados destas análises estão mostrados na figura 16 onde observa-se a perda inicial de massa de 7% para o alginato, 10% para a quitosana e de 18% para o hidrogel ALG:CH até aproximadamente 150 °C. Essa perda de massa pode ser atribuída à água absorvida pelos polímeros.¹⁰⁶ Entre 200 e 400°C as três amostras apresentaram uma perda de massa de mais de 60% que foi atribuída a sua degradação. Analisando-se os resultados da figura 16b pode-se notar os picos onde houve essa perda de massa sendo para o alginato em 243°C e para a quitosana em 302°C. A termogravimetria do hidrogel apresenta dois picos de degradação em 215 e 269°C, que aparentam ser picos deslocados dos polímeros de origem. Isso pode ser a confirmação da formação do hidrogel que tem a estabilidade térmica até aproximadamente 215°C. Em 500°C ainda pode-se observar permanência de resíduos das três amostras estudadas sendo, 45% para o alginato, 38% para a quitosana e 22% para o hidrogel.

Figura 16– Curvas de TG (a) e DTG (b) para alginato, quitosana e ALG:CH.

As amostras também foram analisadas por calorimetria diferencial exploratória (DSC). As análises de DSC para quitosana e o hidrogel ALG:CH seco e para o hidrogel ALG:CH seco e hidratado estão mostrados na figura 17.

Figura 17 – Curvas de DSC para quitosana, e hidrogel ALG:CH seco (a) e para hidrogel ALG:CH seco, hidratado e água pura (b).

Os resultados da figura 17 a exibem um pico endotérmico em 83 °C atribuído à evaporação da água da quitosana, devido à sua grande afinidade pela água.¹⁰⁶ Os picos observados em 239 °C e 248 °C para o hidrogel ALG:CH correspondem aos picos de degradação do polímero, que também podem ser observados na análise termogravimétrica. O gel hidratado apresenta dois picos endotérmicos em 10 °C e em 112 °C associados respectivamente à fusão e a evaporação da água de hidratação. O pequeno aumento da temperatura de evaporação do gel hidratado (fig. 17b; linha

verde) em relação ao valor da água pura (fig. 17b; linha tracejada azul) é devido à interação da água com a cadeia polimérica.¹⁰⁶

A principal característica de um hidrogel é a sua capacidade de hidratação em água ou em algum solvente compatível. A maioria dos hidrogéis apresenta uma maior absorção de água/solvente com o maior tempo de sua imersão neles. A absorção de água/solvente máxima está relacionada com a natureza dos entrecruzamentos entre as moléculas. Flory e Rehner¹⁵ definiram o ponto de entrecruzamento das moléculas como sendo rígido, logo, o ponto no qual não há a absorção de água. Assim, uma maior absorção reflete um menor número de entrecruzamentos (item 3.4). A absorção máxima de um hidrogel é atingida quando as forças de hidratação se equilibram com a força de expansão da cadeia polimérica entrecruzada.

A utilização dos hidrogéis como suporte para liberação controlada de substâncias químicas vem sendo estudada para diversos sistemas. Assim, há necessidade de verificação da sua estabilidade no sistema estudado. Como exemplo, em sistemas biológicos usa-se o tampão fosfato salino (PBS), composto por cloreto de sódio, cloreto de potássio, fosfato dissódico e fosfato monopotássico. O PBS forma uma solução tampão isotônica, possuindo o mesmo pH, concentração de sais e pressão osmótica do corpo humano, portanto é possível sua utilização para simular a ação dos hidrogéis em seres humanos e meios biológicos.⁶⁶

Para verificar a estabilidade das amostras em diferentes meios, foi estudada a absorção dos hidrogéis utilizando quatro soluções sendo, soluções tampão com pH=4 e 10, PBS e água deionizada com pH=7. Os resultados da absorção (S) assim como, os parâmetros de rede V_r , M_c e d_x (item 3.4) dos três diferentes hidrogéis ALG:CH em relação à pH estão listados na tabela 4. Os valores da tabela 4 referem-se a média de três medidas.

Tabela 4 - Valores de grau de absorção (S), fração em volume do polímero (V_r), massa molecular média entre entrecruzamentos (M_c) e densidade de entrecruzamentos (d_x) para os hidrogéis ALG:CH.

ALG:CH	S				V_r (10^{-3})	M_c (10^3)	d_x (10^{-4})
	pH =4	pH=7	PBS	pH=10			
1:3	30±3	32±3	30±3	26±3	0,042	5,16	3,87
1:2	42 ±4	57±4	52±5	38±3	0,024	12,95	1,54
1:1	58±5	80±10	70±6	56±5	0,017	22,96	0,87

Os valores de V_r , M_c e d_x foram calculados com base na absorção dos géis em pH=7, neutro. Considerando que os pontos de entrecruzamentos são rígidos (hidrofóbicos) na estrutura da rede polimérica, portanto, eles não influenciam na sua absorção de água. Assim, uma maior densidade de entrecruzamentos indica menor absorção da água pela cadeia polimérica. Analisando a tabela 4 pode-se notar os maiores valores de absorção de água para menores valores de densidade de entrecruzamentos (d_x), comprovando com isso a teoria do Flory e Rehner.¹⁵

As cinéticas de absorção dos géis formados em diferentes pHs e em solução tampão PBS, estão representadas nas figuras 18-21.

Figura 18 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis ALG:CH em pH=7.

Figura 19 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis ALG:CH em pH=4.

Figura 20 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis ALG:CH em pH=10.

Figura 21 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis ALG:CH em tampão PBS.

Como pode ser observado nas figuras 18-21, os hidrogéis ALG:CH apresentam comportamento semelhante em diferentes pHs, bem como no tampão PBS. Dos resultados obtidos pode-se notar uma diminuição na absorção máxima de água para as amostras com menos quitosana no gel (ALG:CH 1:1). Também nessas amostras ocorre maior número de entrecruzamentos rígidos, resultando em menor absorção de água (tabela 4). A menor absorção de água observada em pH=4 ou pH=10 pode estar relacionada à interação dos grupos carboxila das cadeias poliméricas com as espécies H_3O^+ em soluções ácidas ou OH^- em soluções básicas. No PBS, a presença dos sais de sódio e potássio na sua composição pode anular a absorção dos sítios ativos. Assim, observa-se que esta pressão iônica afeta os sítios de absorção do hidrogel.¹⁰⁷ O maior valor de absorção de 80 vezes após 1400 min de imersão foi registrado para a água pura no qual não existem os contra íons ou espécies carregadas (fig. 18). Contudo, os hidrogéis de ALG:CH apresentaram absorção maior quando comparados às amostras preparados por Chen *et al*¹⁰¹ e Pasparakis *et al*.¹⁰² Além disso, as amostras de ALG:CH apresentaram também um tempo maior de hidratação, porém ainda abaixo de valores de absorção de hidrogéis sintéticos a base de poliácridamida, que podem absorver mais de 400 vezes o seu peso seco.¹⁰⁸

Para analisar a capacidade de retenção da água dos hidrogéis formados, foi medida a cinética de evaporação de água contida em 1,0 g de gel hidratado. Os

resultados mostrados na figura 22 estão expressos em perda de massa relativa, para os hidrogéis e para água pura. As medidas foram conduzidas a temperatura de 70°C em um determinador de umidade Marte ID50.

Figura 22 - Cinética de evaporação para os hidrogéis ALG:CH 1:3, 1:2 e 1:1 e para a água pura.

Diferentemente da água pura, a qual perde a massa linearmente ao decorrer do tempo, a perda de água dos hidrogéis possui um comportamento não linear. Isso se deve à interação da água com as cadeias poliméricas dos hidrogéis. A figura 22 revela que a perda de água pura ocorreu em 276 min enquanto perda de água do gel hidratado foi em 440 min. Assim, o tempo de perda de água do gel foi 59% maior do que da água pura, comprovando a sua boa retenção de água.

Apesar da perda inicial de água dos hidrogéis ser equivalente à perda da água pura, o comportamento do hidrogel favorece a perda gradativa de água após 100 min. Desta maneira pode se concluir que é possível sua utilização para controle de umidade de solos ou sistemas de liberação controlada de água no solo.

Para avaliar a utilização dos hidrogéis em sistemas de liberação controlada de substâncias químicas, foram realizados testes com os fertilizantes comerciais MKP e NPK. O gel seco foi imerso em uma solução de fertilizante por 24 horas e depois seco em estufa a 40°C. Os géis foram imersos em soluções de fertilizante de 1, 5 e 10 g/L. A liberação da substância foi avaliada após a imersão desse hidrogel seco em água e medição da condutividade ao decorrer do tempo. Os resultados de liberação do

fertilizante MKP estão apresentados nas figuras 23-25 e os resultados obtidos para o fertilizante NPK estão representados nas figuras 26-28.

Figura 23 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis de ALG:CH intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.

Figura 24 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis de ALG:CH intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.

Figura 25 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis de ALG:CH intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.

Figura 26 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis de ALG:CH intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.

Figura 27 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis de ALG:CH intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.

Figura 28 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis de ALG:CH intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.

Observando-se as figuras 23 até 28 pode-se notar uma liberação máxima em aproximadamente 8 horas do início da imersão dos géis na água para ambos fertilizantes estudados. Após este tempo a concentração do fertilizante na solução permanece praticamente constante indicando o fim da sua liberação. Os resultados obtidos também revelam o aumento de quantidade do fertilizante liberado em função

da concentração do mesmo independente da formulação do hidrogel. Pode-se observar média de liberação de MKP de 70, 220 e 350 mg de fertilizante por grama do hidrogel, para soluções de 1, 5 e 10 g/L respectivamente. Já para o NPK observa-se a liberação de aproximadamente 18, 90 e 150 mg do fertilizante por grama de polímero, sendo assim, o hidrogel apresenta maior eficiência na liberação de MKP. Estes valores apresentados mostram maior eficiência se comparados com hidrogéis a base de alginato e quitosana preparados por Chen *et al*.¹⁰¹ e Pasparakis *et al*,¹⁰² porém os tempos de liberação são inferiores aos hidrogéis sintéticos com a adição de zeolitas apresentados por Rashidzadeh *et al*.⁴¹ que apresentou liberação em até 60 dias. Apesar dos resultados inferiores aos hidrogéis sintéticos, estes hidrogéis apresentam diferencial de serem preparados a base de macromoléculas naturais.

4.2 Hidrogéis de goma gelana e quitosana

A goma gelana tem sido foco atualmente em pesquisas devido ao seu alto poder de absorção de água e biocompatibilidade. Cencetti *et al*.⁶² desenvolveu hidrogéis de goma gelana com ácido hialurônico para o auxílio na cicatrização de ferimentos e cirurgias, apresentando valores de absorção de água de aproximadamente 80 vezes em relação ao seu peso seco. Tang *et al*.¹⁰⁹ preparou hidrogéis a partir de goma gelana modificada com carboximetilquitosana para encapsulamento de células presentes no tecido cartilaginoso (condrócitos), que apresentaram absorção máxima de 180 vezes em relação ao seu peso seco após 10 horas imersos na solução.

Os espectros de FT-IR do alginato, quitosana e do hidrogel GGHA:CH obtido estão apresentados na figura 29. Essas análises espectrais revelaram as características semelhantes das amostras de ALG:CH, onde pode se identificar aumento na intensidade da banda em 1620 cm^{-1} referente à deformação N-H de aminas protonadas da quitosana e uma pequena mudança referente ao ânion carboxilato, em 1745 cm^{-1} para a goma gelana. No caso do gel essa banda aparece deslocada para 1728 cm^{-1} , devido à interação dos grupos carboxila da GGHA com os grupos NH_3^+ da quitosana. Além disso, observa-se um pequeno pico em 802 cm^{-1} associado à formação de algumas ligações C-O-NH.²⁴

Figura 29 - Espectro de FT-IR para goma gelana (GGHA), quitosana (CH) e hidrogel GGHA:CH.

As curvas de TGA e DTG para goma gelana, quitosana e o hidrogel GGHA:CH estão mostrados na figura 30.

Figura 30 – Curvas de TGA (a) e DTG (b) para a goma gelana (GGHA), quitosana (CH) e GGHA:CH.

Os resultados mostrados na figura 30a revelaram a perda inicial de massa de 8% para a goma gelana, 10% para a quitosana e 9% para o hidrogel GGHA:CH até aproximadamente 150 °C. Essa perda de massa pode ser atribuída à água adsorvida pelos polímeros. Nos resultados dos DTGs (figura 30b) nota-se picos únicos de

degradação térmica para a goma gelana em 256 °C e quitosana em 302°C. O termograma do hidrogel GGHA:CH apresenta dois picos de degradação sendo um em 247 e outro em 264°C. O pico em 259°C coincide com a decomposição térmica da goma gelana, enquanto que o pico em 245°C aparenta ser um pico de degradação da quitosana deslocado e explicado pela interação das cadeias poliméricas, formando pares iônicos entre os grupos carboxilatos da goma gelana e amina da quitosana¹⁰⁵, que pode confirmar a formação do hidrogel e sua estabilidade térmica até 240°C. Em 500°C ainda pode se observar permanência de resíduos das três amostras estudadas sendo, 26% para a goma gelana, 38% para a quitosana e 28% para o hidrogel.

As amostras também foram analisadas por calorimetria diferencial exploratória (DSC). Os resultados de DSC para goma gelana, quitosana e o hidrogel seco e hidratado estão apresentados na figura 31.

Figura 31 – Curvas de DSC para goma gelana (GGHA), quitosana (CH) e hidrogel GGHA:CH (a) e para hidrogel GGHA:CH seco, hidratado e água pura (b).

Os resultados das análises de DSC das amostras de GGHA e CH (figura 31a), mostram um pico endotérmico centrado em 85°C e atribuído à evaporação da água adsorvida pelas cadeias poliméricas. Isso pode ser explicado pela grande afinidade dos polissacarídeos com a água¹⁰⁶. A goma gelana exibe um pico exotérmico em 262°C seguido de um pico endotérmico em 267°C e o hidrogel apresenta comportamento semelhante. Os dois picos podem ser associados à decomposição da goma gelana e corroboram com os dados da análise termogravimétrica (figura 30). Ainda o pico em 319 °C da quitosana na figura 31a corresponde ao pico de degradação observado na análise termogravimétrica (figura 30).

O gel hidratado da figura 31b apresenta dois picos endotérmicos sendo um em 13 °C e o segundo em 108 °C. Esses picos estão associados à fusão e a evaporação da água de hidratação, respectivamente. A pequena diferença nos valores dos picos observados em relação aos picos da água pura (tracejado azul na Figura 31b) é devido à interação da água com as cadeias poliméricas.¹⁰⁶

Para analisar a estrutura dos hidrogéis quando hidratados^{8; 71; 110} as amostras foram submetidas às análises por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Uma parte das amostras foi seca na estufa a 40°C e outra parte foi submetida à liofilização com o objetivo de preservar sua estrutura no estado hidratado. As imagens da figura 32 mostram o corte transversal dos hidrogéis GGHA:CH 4:1 e 3:1 liofilizados e a face superior para os hidrogéis não liofilizados. A figura 32 revela que as amostras liofilizadas apresentam as estruturas mais abertas e a presença de poros (figura 32a e c). De modo geral as amostras GGHA:CH 4:1 (figura 32a e b) se apresentam densas e com alguns filamentos, aparentando mais organizados na amostra não liofilizada (figura 32b). A amostra GGHA:CH 3:1 apresenta estrutura porosa com alguns filamentos (figura 32c), enquanto a amostra não liofilizada (figura 32d) apresenta estrutura densa com filamentos não organizados.¹¹¹

Figura 32 – Imagens de MEV para os hidrogéis GGHA:CH 4:1 liofilizados (a) e não liofilizados (b) e para hidrogéis GGHA:CH 3:1 liofilizados (c) e não liofilizados (d), com aumento de 300x.

Géis de goma gelana nativa (GGHA) são mais maleáveis e elásticos do que os equivalentes de goma gelana desacilada (GGLA), assim, os géis com GGHA possuem maior absorção de água.^{59; 60} Para o estudo de absorção dos hidrogéis obtidos foram utilizadas quatro soluções, como no caso anterior: solução tampão com pH=4, água deionizada com pH=7, solução tampão com pH=10 e a solução tampão PBS.

A absorção de água (S) dos hidrogéis formados por goma gelana (GGHA) e quitosana (CH) em relação à sua composição e pH, bem como os valores de V_r , M_c e d_x estão listados na tabela 5 onde os valores referem-se a média de três medidas.

Tabela 5 - Valores de grau de absorção (S), fração em volume do polímero (V_r), massa molecular média entre entrecruzamentos (M_c) e densidade de entrecruzamentos (d_x) para os hidrogéis GGHA:CH

GGHA:CH	S				V_r	M_c	d_x
	pH=4	pH=7	pH=10	PBS	(10^{-3})	(10^3)	(10^{-4})
4:1	176±14	219±23	156±16	192±16	6,4	18,7	1,07
3:1	134±12	173±2	129±1	153±14	8,2	7,8	2,56
2:1	106±9	126±7	87±9	111±10	11,1	4,6	4,35
1:1	86±9	108±2	77±6	89±7	13,0	3,6	5,55
1:2	78±6	98±8	67±5	84±7	14,3	3,1	6,45
1:3	62±5	78±6	55±5	69±7	17,8	2,1	9,52
1:4	60±5	71±6	50±5	66±6	19,6	1,8	11,1

A análise da tabela 5 revela que os hidrogéis de GGHA:CH absorvem mais água quando comparadas com os valores obtidos pelos hidrogéis ALG:CH (tabela 4), o que deve ser devido as cadeias poliméricas de goma gelana. Por outro lado e como citado anteriormente, uma menor densidade de entrecruzamentos (d_x) leva a uma maior absorção (S) (item 4.1). Assim, comparando as amostras com quantidade igual dos dois polissacarídeos, 1:1, observa-se que os valores de S variam entre 77±6 e 108±2 com $d_x = 5,55 \times 10^{-4}$ para GGHA:CH e entre 58±5 e 80±10 com $d_x = 0,87 \times 10^{-4}$ para os géis ALG:CH (tabela 4). Assim, observa se uma maior absorção de água para os hidrogéis de GGHA:CH em relação aos hidrogéis de ALG:CH, mesmo quando estes possuem uma maior quantidade de entrecruzamentos. Portanto, provavelmente a estrutura de dupla hélice da goma gelana (figura 9) deve ajudar na absorção de água nos géis de GGHA:CH.

A cinética de absorção dos hidrogéis GGHA:CH, efetuada de mesma maneira como nos hidrogéis de ALG:CH (item 4.1) está representada nas figuras 33 - 36.

Figura 33 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:CH em pH=7.

Figura 34 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:CH em pH=4.

Figura 35 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:CH em pH=10.

Figura 36 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:CH em solução tampão PBS.

Dos resultados obtidos e apresentados nas figuras 33 à 36 pode ser observado que os hidrogéis de goma gelana-quitosana (GGHA:CH) apresentam absorção até 1323 min (22 horas) após submersos em água, diferentemente dos hidrogéis de alginato-quitosana que praticamente não apresentam absorção após 8 horas de sua imersão em água (figuras 18-21). Estes resultados, com os valores de absorção entre 160 a 210 após 1323 min se apresentam superiores aos resultados obtidos pelos hidrogéis ALG:CH e aos preparados por Cencetti *et al*.⁶² e Tang *et al*,¹⁰⁹ com valores

de $S=180$ e 80 , respectivamente. Os hidrogéis preparados a partir de goma gelana e quitosana porém, apresentaram valores inferiores aos hidrogéis sintéticos ($S=400$),¹⁰⁸ conforme citado anteriormente.

Hidrogéis físicos de goma gelana nativa pura possuem elevada absorção, quando comparados com os géis sintéticos, porém se desintegram após algumas horas submersos em água.¹¹² Portanto, eles apresentam baixa estabilidade, o que inviabiliza a sua utilização para liberação controlada de fertilizantes.

Para analisar a capacidade de retenção da água dos hidrogéis formados, foi medida a cinética de evaporação de água contida em $1,0$ g de gel hidratado, com determinador de umidade marte ID50 em temperatura constante de 70°C conforme descrito na seção 3.7 Os resultados deste ensaio estão expressos em perda de massa relativa na figura 37.

Figura 37 - Cinética de evaporação para GGHA:CH, 4:1 e 1:1 e para água pura.

O resultado das análises apresentadas na figura 37 mostra que o tempo de perda de água pura foi de 276 min e de água contida no gel foi de 550 min. Assim, o tempo de perda de água do gel hidratado foi 199% maior quando comparado com à água pura. Os hidrogéis GGHA:CH apresentam valores de retenção de água maiores quando comparados com os hidrogéis ALG:CH. Este ensaio provou então, a sua possível utilização para controle de umidade de solos ou sistemas de liberação controlada de substâncias químicas.

Os testes de liberação controlada dos fertilizantes comerciais MKP e NPK foram conduzidos seguindo os mesmos parâmetros descritos anteriormente para os géis ALG:CH. Os valores obtidos de liberação do fertilizante MKP estão mostrados nas figuras 38-40 e os valores de liberação para o fertilizante NPK estão representados nas figuras 41-43.

Figura 38 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis de GGHA:CH intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.

Figura 39 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis de GGHA:CH intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.

Figura 40 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis de GGHA:CH intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.

Figura 41 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis de GGHA:CH intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.

Figura 42 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis de GGHA:CH intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.

Figura 43 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis de GGHA:CH intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.

Os resultados apresentados nas Figuras 38-43 apresentam liberação dos fertilizantes MKP e NPK máxima em aproximadamente 8 horas (480 min) após a imersão dos géis na água. Esses resultados também são comparáveis com os resultados dos hidrogéis ALG:CH apresentados anteriormente. Pode-se observar média de liberação de MKP de 60, 280 e 380 mg de fertilizante por um grama do hidrogel, intumescido previamente com as soluções de 1, 5 e 10 g/L e depois seco,

respectivamente.¹¹¹ Já para a liberação de NPK observa-se liberação de aproximadamente 45, 150 e 240 mg do fertilizante por um grama de polímero. Comparando os resultados da liberação dos dois fertilizantes pode se constatar que o hidrogel apresenta maior eficiência na liberação de MKP. O ensaio de liberação dos fertilizantes MKP e NPK para os hidrogéis de GGHA:CH revelou o mesmo comportamento e os valores de mesma ordem observados para os hidrogéis de alginato-quitosana.

Os hidrogéis de goma gelana com poucos grupos de acila (GGLA) também formam géis com quitosana. Contudo, como os valores de absorção de água destas amostras de GGLA:CH foram baixos (aproximadamente 10 vezes o seu peso seco) os mesmos não estão apresentados neste trabalho. Entretanto, a liberação controlada de substâncias químicas neste tipo de sistemas não é influenciada pela propriedade de absorção do hidrogel,^{40; 113; 114} o que foi demonstrado no caso de hidrogéis GGLA:CH.¹¹² Os resultados dessas análises estão expostos nas figuras 44-46 para liberação controlada de MKP e figuras 47-49 para liberação controlada de NPK.

Figura 44 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:CH intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.

Figura 45 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:CH intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.

Figura 46 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:CH intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.

Figura 47 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:CH intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.

Figura 48 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:CH intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.

Figura 49 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:CH intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.

A análise dos resultados das figuras 44-49 evidenciou novamente a liberação máxima dos fertilizantes MKP e NPK em aproximadamente 8 horas (480 min) após imersão dos géis na água. Este resultado é comparável ao resultado obtido com os hidrogéis apresentados anteriormente. Porém, hidrogéis de GGLA:CH apresentaram valores menores de liberação se comparados com os resultados dos hidrogéis GGHA:CH, sendo em média 60, 180 e 280 mg de fertilizante MKP liberado por um grama de hidrogel e 40, 140 e 230 mg de fertilizante NPK liberado por um grama de hidrogel. Tanto os hidrogéis GGHA quanto os hidrogéis GGLA apresentam valores semelhantes aos apresentados por Tang *et al*,¹⁰⁹ porém ainda inferiores aos hidrogéis preparados a partir de poliacrilamida, os quais apresentam liberação de fertilizante em até 60 dias.⁴¹

Para o cálculo do total de água e quantidade de água congelável (W_f) e não congelável no sistema (W_{nf}), uma amostra do gel de GGHA:CH foi imersa durante uma hora em água (item 4.9). Em seguida, uma parte da amostra foi analisada por DSC em panela de alumínio aberta (figura 50a) e outra em panela de alumínio fechada hermeticamente (figura 50b).¹⁰⁰

Figura 50 - Curvas de DSC para GGHA:CH em panela aberta (a) e panela fechada (b).

Como pode ser observado na figura 50a os resultados obtidos revelam dois picos, sendo um em 10,5°C (330,9 J/g) e o segundo em 109,4°C (2063 J/g). Esses picos são atribuídos as entalpias de fusão e evaporação da água, respectivamente. Os valores obtidos estão próximos aos valores padrão de 334 e 2257 J/g para a fusão e a evaporação de água, respectivamente. A estabilização da linha de base indicou a remoção completa da água do hidrogel. A pesagem da amostra seca após a análise, revelou que 98% (m/m) do seu peso inicial era relativo à água absorvida pela amostra.

O resultado da figura 50b indica a porcentagem de água não congelável no sistema. Como este tipo de água é fortemente ligado ao polímero então não apresenta transição de fase e, conseqüentemente não participa dos picos endotérmicos deste termograma. Sendo assim, é possível determinar a quantidade de água mais fracamente ligada à cadeia polimérica, ou água congelável (w_f). A variação de entalpia

(ΔH_m) obtida foi de 233.1 J/g, medida no termograma da figura 50b e refere-se apenas à água congelável do sistema. Assim, dividindo-se este valor pela entalpia de fusão da água ($H_0=334$ J/g) obtém-se o total de água congelável do sistema $w_f = \Delta H_m/H_0 = 0,70$. Este valor indica que um total de 70% do total de água do sistema está mais fracamente ligada às cadeias do hidrogel, o que significa que ela é facilmente liberada.

No final foi determinado que os hidrogéis hidratados GGHA:CH continham 70% de água congelável (w_f) e 28% de água não congelável (w_{nf}) na sua estrutura. Os 2% restantes foi atribuído à massa do hidrogel seco. Estes valores podem ser relacionados com o meio de aplicação dos hidrogéis. A água não congelável somente será liberada em condições mais adversas do solo, onde existe uma necessidade maior de hidratação.

4.3 Hidrogéis de goma gelana e Jeffamina

O termo de Jeffamina refere-se a uma série de polieteramínas. Neste trabalho foi utilizada a diamina O,O'-Bis(2-aminopropil)polipropilenoglicol com peso molecular de aproximadamente 130, onde as duas aminas terminais da cadeia se ligam as cadeias da goma gelana através da reação com EDC/NHS. Um trabalho similar sobre a síntese de hidrogéis a base de alginato e Jeffamina em meio ácido foi desenvolvido anteriormente e os resultados revelaram uma absorção máxima de 43 vezes seu peso seco após 18 dias.¹¹⁵

O entrecruzamento entre as cadeias poliméricas da goma gelana e Jeffamina usando EDC/NHS ocorre pela formação de uma ligação peptídica, resultando em um grupo amida, os espectros de FT-IR estão representados na figura 51.

Figura 51 – Espectros de FT-IR para goma gelana, Jeffamina e o hidrogel GGHA:JEF

A análise do espectro de FT-IR revela uma banda em 1650 cm⁻¹ no hidrogel, associado ao estiramento C=O (amida I), a banda em 1550 cm⁻¹ está associada à deformação N-H no plano acoplada com estiramento C-N (amida II) e a banda em 1260 cm⁻¹ está associada ao estiramento C-N acoplada com deformação N-H (amida III). A banda em 1720 cm⁻¹ está associada a deformação C=O de ácidos carboxílicos, presente em maior intensidade no espectro da goma gelana. A banda em 1100 cm⁻¹ está associada ao estiramento C-O-C, presente tanto no hidrogel quanto na Jeffamina.^{90; 116} Os resultados FT-IR confirmaram a formação do entrecruzamento entre as duas cadeias poliméricas.

Os resultados das análises térmicas de TG e DTG para a goma gelana, Jeffamina e o hidrogel (GGHA:JEF) estão representados na figura 52.

Figura 52 – Curvas de TGA (a) e DTG (b) para goma gelana (GGHA), Jeffamina (JEF) e hidrogel GGHA:JEF.

As curvas de TGA (figura 52a) da goma gelana e da Jeffamina revelaram a perda inicial de massa de 8% para a goma gelana, 2% para a Jeffamina e 3% para o hidrogel goma gelana-Jeffamina até aproximadamente 150°C. Essa perda de massa pode ser atribuída à água absorvida pelos polímeros. Nos resultados dos DTGs (figura 52b) nota-se picos únicos de degradação térmica para a goma gelana em 256°C e para a Jeffamina em 346°C. A curva de DTG do hidrogel apresenta dois picos de degradação sendo um em 253 °C e o segundo em 380°C. A presença de picos de degradação semelhantes indica a presença de ambos os polímeros na composição do hidrogel. Além disso, observa-se a estabilidade térmica do hidrogel de aproximadamente 250°C e a presença de resíduos de 26% para a goma gelana, 15% para o hidrogel e 0,5% para a Jeffamina em 800°C.

Para analisar a morfologia dos hidrogéis formados, as amostras foram liofilizadas e fotografadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), conforme citado anteriormente. Na figura 53 estão representadas as amostras de GGHA:JEF 2 (A) e 4 (B) e as amostras de GGLA:JEF 2 (C) e 4 (D), com aumento de 100x. Os números 2 e 4 indicam as amostras de GGxx:JEF descritas na tabela 3.

Figura 53 – Imagens de MEV dos hidrogéis liofilizados GGHA:JEF 2 (A) e 4 (B) e GGLA:JEF 2 (C) e 4 (D), com aumento de 100x.

As imagens da figura 53 evidenciam a presença de uma estrutura altamente porosa em todos os hidrogéis a base de goma gelana e Jeffamina com a presença de poros irregulares.⁹¹ Contudo, comparando as imagens da figura 53 pode-se notar a menor densidade das amostras 4 (figura 53 B e D) com a estrutura mais aberta e poros maiores do que das amostras 2 (figura 53 A e C). Estas últimas apresentam poros menores. Associando as imagens obtidas com as condições da síntese dos hidrogéis (tabela 3), pode se constatar que as amostras 4 devem possuir mais pontos de entrecruzamentos. Como consequência, isso provoca a diminuição do espaço entre as cadeias e promove o aparecimento de mais espaço livre entre elas, comprovado pelos dados de parâmetros de rede expostos nas tabelas 6 e 7.

A absorção de água (S) dos hidrogéis formados por goma gelana e Jeffamina em relação ao pH estudado, bem como os valores de V_r , M_c e d_x estão listados nas tabelas 6 e 7 onde os valores referem-se a média de três medidas.

Tabela 6 - Valores de grau de absorção (S), fração em volume do polímero (V_r), massa molecular média entre entrecruzamentos (M_c) e densidade de entrecruzamentos (d_x) para os hidrogéis GGHA:JEF

GGHA:JEF	S				V_r	M_c	d_x
	pH =4	pH=7	pH=10	PBS	(10^{-3})	(10^3)	(10^{-4})
1	115±12	145±36	100±8	124±21	7,6	8,34	2,39
2	95±5	121±14	98±9	111±11	10,2	5	4,0
3	79±4	95±7	82±3	82±6	13,6	3,43	5,82
4	69±6	85±6	65±4	71±3	16,5	2,83	7,05

Tabela 7 - Valores de grau de absorção (S), fração em volume do polímero (V_r), massa molecular média entre entrecruzamentos (M_c) e densidade de entrecruzamentos (d_x) para os hidrogéis GGLA:JEF

GGLA:JEF	S				V_r	M_c	d_x
	pH =4	pH=7	pH=10	PBS	(10^{-3})	(10^3)	(10^{-4})
1	72±6	77±7	63±5	58±2	16,3	2,86	6,96
2	69±4	74±4	57±8	54±3	19,7	2,36	8,44
3	62±2	64±3	52±3	47±2	21,9	2,13	9,36
4	56±3	60±3	47±4	40±2	24,6	1,9	10,51

Os valores de V_r , M_c e d_x apresentados nas tabelas 6 e 7 foram calculados utilizando as equações (2) a (5), considerando a absorção máxima dos polímeros em pH=7. Como citado anteriormente, uma menor densidade de entrecruzamentos (d_x) leva a uma maior absorção (S). Neste caso, a maior quantidade de EDC/NHS (4:1; amostras 4; tabela 3) utilizado na síntese dos hidrogéis levou à obtenção de materiais com uma quantidade maior de entrecruzamentos e consequentemente menor absorção de água o que foi comprovando pelos dados apresentados nas tabelas 6 e 7.

A cinética de absorção dos hidrogéis GGHA:JEF está representada nas figuras 54-57.

Figura 54 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:JEF em pH=7.

Figura 55 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:JEF em solução tampão pH=4.

Figura 56 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:JEF em solução tampão pH=10.

Figura 57 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:JEF em solução tampão PBS.

Dos resultados obtidos e apresentados nas figuras 54-57 pode ser observado que os hidrogéis de goma gelana e Jeffamina apresentam absorção até 24 horas após submersos em água. Além disso, também pode-se notar a influência do pH na absorção máxima dos hidrogéis sendo a maior absorção de ~140 para o pH=7 de modo análogo aos hidrogéis discutidos anteriormente. Semelhante aos hidrogéis GGHA:JEF, foram efetuadas as medidas de cinética de absorção para os hidrogéis

GGLA:JEF cujos resultados estão mostrados nas figuras 58-61. A análise destes resultados revela similaridades aos resultados das amostras GGHA:JEF, i.e., a absorção em até 24 horas porém, como pode ser visto nas tabelas 6 e 7 os valores de absorção são menores.

Figura 58 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:JEF em pH=7.

Figura 59 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:JEF em solução tampão pH=4.

Figura 60 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:JEF em solução tampão pH=10.

Figura 61 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:JEF em solução tampão PBS.

Observando-se as cinéticas de hidratação dos hidrogéis de GGLA:JEF, pode-se notar menores valores de absorção quando comparados com os hidrogéis GGHA:JEF. O maior valor de $S \approx 75$ foi para GGLA:JEF 1 em pH=7. Estes hidrogéis também apresentam menores valores de absorção máxima do que os hidrogéis GGHA:CH, sendo comparáveis com os hidrogéis apresentados por Cencetti *et al*⁶² e

Tang *et al*¹⁰⁹ também utilizando goma gelana, que apresentaram absorção respectivamente de 80 e 180 vezes em relação a sua massa seca.

Também para essas amostras foi analisada a capacidade de retenção da água através da medida da cinética de evaporação de água contida em 1,0 g de gel hidratado. Os resultados deste ensaio estão expressos em perda de massa relativa na figura 62.

Figura 62 - Cinética de evaporação para os hidrogéis GGHA:JEF e para água pura.

O resultado das análises apresentadas na figura 62 mostra que o tempo de perda de água pura foi de 276 min e de água contida no gel foi de 450 min. Assim, o tempo de perda de água do hidrogel GGHA:JEF hidratado foi de aproximadamente 60% maior quando comparado com a água pura.

Os testes de liberação controlada dos fertilizantes comerciais MKP e NPK foram conduzidos seguindo os mesmos parâmetros descritos para os hidrogéis das seções anteriores (seção 4.8). Os valores obtidos de liberação do fertilizante MKP para os hidrogéis GGHA:JEF estão mostrados nas figuras 63-65 e os valores de liberação para o fertilizante NPK estão representados nas figuras 66-68.

Figura 63 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:JEF intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.

Figura 64 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:JEF intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.

Figura 65 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:JEF intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.

Figura 66 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:JEF intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.

Figura 67 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:JEF intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.

Figura 68 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:JEF intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.

Estes resultados obtidos também apresentam liberação dos fertilizantes MKP e NPK máxima em aproximadamente 8 horas após a imersão dos géis na água, sendo comparáveis com os resultados dos hidrogéis ALG:CH e GG:CH, onde pode-se notar um padrão nos testes de liberação controlada. Pode-se observar média de liberação de MKP de 60, 200 e 350 mg de fertilizante por um grama do hidrogel, para as amostras intumescidas em soluções de 1, 5 e 10 g/L e depois secas, respectivamente.

Já para a liberação de NPK observa-se liberação de aproximadamente 35, 145 e 240 mg do fertilizante por um grama de polímero, apresentando maior eficiência na liberação do fertilizante MKP, equivalente aos resultados apresentados nas outras seções.

Os hidrogéis GGLA:JEF também foram testados em relação a liberação controlada de fertilizantes. Os resultados dessas análises estão expostos nas figuras 44-46 para liberação controlada de MKP e figuras 47-49 para liberação controlada de NPK.

Figura 69 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:JEF intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.

Figura 70 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:JEF intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.

Figura 71 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:JEF intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.

Figura 72 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:JEF intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.

Figura 73 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:JEF intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.

Figura 74 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:JEF intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.

Neste caso, as figuras 69-74 evidenciam liberação máxima dos fertilizantes MKP e NPK em aproximadamente 8 horas após imersão dos géis na água, sendo comparável ao resultado obtido com os hidrogéis apresentados anteriormente. Porém, hidrogéis de GGLA:JEF apresentaram valores menores de liberação quando comparados com os resultados dos hidrogéis GGHA:CH, sendo em média 55, 220 e 300 mg de fertilizante MKP liberado por um grama de hidrogel e 40, 140 e 230 mg de fertilizante NPK liberado por um grama de hidrogel. Tanto os hidrogéis GGHA:JFF quanto os hidrogéis GGLA:JEF apresentam valores semelhantes aos apresentados por Tang *et al*,¹⁰⁹ porém ainda inferiores aos hidrogéis preparados a partir de poli(acrilamida), os quais liberavam o fertilizante em até 60 dias.⁴¹

4.4 Hidrogéis de goma gelana e L-lisina

A lisina é um α -aminoácido essencial para os seres humanos, com fórmula estrutural $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{NH}_2)(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$. Esta molécula foi escolhida porque a presença de grupos $-\text{NH}_2$ na sua estrutura favorece a reação de entrecruzamento com as cadeias da goma gelana usando EDC/NHS como agentes entrecruzantes. Existem alguns trabalhos que descrevem o uso de lisina como monômero de partida para polimerização e preparação de hidrogéis. Wang *et al*¹¹⁷ preparou hidrogéis a partir da polimerização da L-lisina com genipin, composto químico encontrado nos extratos de

frutos de planta gardênia, como agente entrecruzante. Esses hidrogéis apresentaram a absorção máxima de 20 vezes da sua massa seca e foram usadas para encapsulamento de drogas. A liberação de drogas ocorreu em até 70 horas após a imersão desses hidrogéis em água. Watkins *et al*¹¹⁴ preparou hidrogéis a partir de poli(L-lisina isoftalimida) entrecruzadas com éster de L-lisina, também obtendo absorção de 20 vezes em relação à sua massa seca e liberação de substâncias incorporadas em até 25 horas.

O entrecruzamento entre as cadeias poliméricas da goma gelana e lisina usando EDC/NHS ocorre pela formação de uma ligação peptídica, resultando em um grupo amida. Para verificar o sucesso da síntese foram obtidos os espectros de FT-IR apresentados na figura 75.

Figura 75 – Espectros de FT-IR para goma gelana, L-lisina e o hidrogel GGHA:LYS.

Pelo espectro de FT-IR da figura 75 é possível observar uma banda em 1630 cm^{-1} no hidrogel GGHA:LYS, associado ao estiramento C=O (amida I); a banda em 1550 cm^{-1} está associada à deformação N-H no plano acoplada com estiramento C-N (amida II) e a banda em 1220 cm^{-1} está associada ao estiramento C-N acoplado com a deformação N-H (amida III). A banda em 1701 cm^{-1} está associada a deformação C=O de ácidos carboxílicos, presente em 1720 cm^{-1} no espectro da goma gelana.^{90; 116} No espectro da lisina estão presentes bandas em 1580 cm^{-1} referente a deformação

assimétrica dos grupos -NH_2 e em 1508 cm^{-1} referente a deformação simétrica dos grupos -NH_2 .¹¹⁸ O desaparecimento deste último é um indício da formação do entrecruzamento entre as duas cadeias poliméricas

As curvas de TGA e DTG para goma gelana, L-lisina e o hidrogel GGHA:LYS estão ilustrados na figura 76.

Figura 76 - TGA (a) e DTG (b) para goma gelana (GGHA), L-Lisina (LYS) e hidrogel GGHA:LYS.

A figura 76a apresenta perda inicial de massa até aproximadamente 150°C de 8% para a goma gelana e 1% tanto para a lisina quanto para o hidrogel goma gelana-lisina. Essa perda de massa pode ser atribuída à água absorvida pelos polímeros. Nos resultados dos DTGs da figura 76b pode-se observar picos únicos de degradação térmica para a goma gelana em 256 °C e dois picos para a lisina, em 304°C e 453°C. O gráfico de termogravimetria para o hidrogel GGHA:LYS apresenta três picos de degradação sendo em 232, 316 e 453°C. O primeiro pico é atribuído à goma gelana e os outros dois são atribuídos ao deslocamento dos picos de degradação da lisina. A presença de picos de degradação semelhantes indica a presença de ambos os polímeros na composição do hidrogel. O deslocamento dos picos também indica a interação entre as cadeias poliméricas, comprovando a formação da rede polimérica. Ainda é possível observar resíduos acima 800°C no valor de 24% para a goma gelana, 9% para o hidrogel GGHA:LYS e 2% para a lisina.

As imagens de MEV para as amostras desta seção foram preparadas conforme anteriormente, liofilizadas e então fotografadas por MEV. Na figura 77 estão representadas as amostras de GGHA:LYS 2 (A) e 4 (B) e as amostras de GGLA:LYS 2 (C) e 4 (D) (tabela 3), com aumento de 100x.

Figura 77 – Imagens de MEV dos hidrogéis liofilizados GGHA:LYS 2 (A) e 4 (B) e GGLA:LYS 2 (C) e 4 (D), com aumento de 100x.

Como no caso das amostras de GGHA:JEF (figura 53) as amostras de GGHA:LYS (figura 77) apresentam uma estrutura bastante parecida, i.e., altamente porosa em todos os hidrogéis com a presença de poros irregulares.⁹¹ Nas imagens observa-se novamente a estrutura mais densa para as amostras 4 (figura 77 B e D) preparadas com maior quantidade de EDC/NHS, com os poros maiores e estrutura mais compacta nas amostras 4 e a presença de uma estrutura mais aberta nas amostras 2 (figura 77 A e C). Novamente as amostras 4 devem possuir mais pontos de entrecruzamentos o que promove a diminuição dos espaços entre as cadeias.

A absorção de água (S) dos hidrogéis formados por goma gelana e L-lisina em relação ao pH estudado, conforme efetuado nos hidrogéis anteriores, bem como os valores de V_r , M_c e d_x estão listados nas tabelas 8 e 9 onde os valores referem-se a média de três medidas.

Tabela 8 - Valores de grau de absorção (S), fração em volume do polímero (V_r), massa molecular média entre entrecruzamentos (M_c) e densidade de entrecruzamentos (d_x) para os hidrogéis GGHA:LYS

GGHA:LYS	S				V_r (10^{-3})	M_c (10^3)	d_x (10^{-4})
	pH =4	pH=7	pH=10	PBS			
1	121±6	164±24	124±10	140±23	7,46	8,56	2,33
2	109±11	146±7	117±5	125±13	9,21	6,54	3,89
3	76±6	107±15	85±11	92±7	12,3	5,18	5,82
4	64±3	105±13	84±10	87±4	13,01	4,91	5,21

Tabela 9 - Valores de grau de absorção (S), fração em volume do polímero (V_r), massa molecular média entre entrecruzamentos (M_c) e densidade de entrecruzamentos (d_x) para os hidrogéis GGHA:LYS

GGLA:LYS	S				V_r (10^{-3})	M_c (10^3)	d_x (10^{-4})
	pH =4	pH=7	pH=10	PBS			
1	56±3	67±6	54±4	67±6	3,35	7,99	3,35
2	46±3	52±5	44±4	52±5	2,16	10,33	2,16
3	43±3	49±4	41±3	44±3	2,34	11,52	2,34
4	38±4	42±5	37±4	42±5	2,16	12,48	2,16

Estes valores apresentados nas tabelas 8 e 9 foram calculados conforme as seções anteriores. Mais uma vez, uma menor densidade de entrecruzamentos (d_x) leva a uma maior absorção (S). Neste caso, a maior quantidade de EDC/NHS utilizado na síntese dos hidrogéis levou a materiais com uma quantidade maior de entrecruzamentos, logo, materiais que apresentam uma absorção menor de água. Isso é comprovando pelos dados apresentados nas tabelas 8 e 9, bem como pela análise da figura 77 que apresenta as imagens de MEV.

A cinética de absorção dos hidrogéis GGHA:LYS está representada nas figuras 78-81.

Figura 78 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:LYS em pH=7.

Figura 79 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:LYS em solução tampão pH=4.

Figura 80 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:LYS em solução tampão pH=10.

Figura 81 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:LYS em solução tampão PBS.

Dos resultados obtidos e apresentados nas figuras 78-81 pode ser observado que os hidrogéis GGHA:LYS apresentam absorção até 24 horas após submersos em água. Também, como nos casos anteriores pode-se notar a influência do pH na absorção máxima dos hidrogéis. Semelhante aos outros hidrogéis apresentados, foram efetuadas as medidas de cinética de absorção para os hidrogéis GGLA:LYS, demonstrando a mesma característica de absorção em até 24 horas porém

apresentando menores valores de absorção, sendo 164 para GGHA:LYS e 67 para GGLA:LYS, conforme ilustrado nas tabelas 8 e 9. As cinéticas de absorção para os hidrogéis GGLA:LYS estão representados nas figuras 82-85.

Figura 82 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:LYS em pH=7.

Figura 83 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:LYS em solução tampão pH=4.

Figura 84 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:LYS em solução tampão pH=10.

Figura 85 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:LYS em solução tampão PBS.

Hidrogéis de GGLA:LYS apresentam menores valores de absorção quando comparados com os hidrogéis GGHA:LYS.^{59; 60} Estes hidrogéis também apresentam menores valores de absorção máxima comparados aos hidrogéis GGHA:CH, sendo 164 para GGHA:LYS e 219 para GGHA:CH. Apesar disso, estes valores são comparáveis com os hidrogéis GGHA:JEF que apresentou S=145, sendo também comparáveis com os hidrogéis apresentados por Cencetti *et al*,⁶² e Tang *et al*,¹⁰⁹ com

absorção máxima de 180 e 80 vezes o seu peso seco, respectivamente. Os hidrogéis GGHA:LYS também apresentaram absorção superior aos hidrogéis preparados a partir da polimerização da lisina, preparados por Wang *et al*,¹¹⁷ e Watkins *et al*,¹¹⁴ onde ambos tiveram absorção máxima de 20 vezes seu peso seco.

Para analisar a capacidade de retenção da água dos hidrogéis formados, foi medida a cinética de evaporação de água contida em 1,0 g de gel hidratado, conforme o item 3.7. Os resultados deste ensaio estão expressos em perda de massa relativa na figura 86.

Figura 86 - Cinética de evaporação para os hidrogéis GGHA:LYS e para água pura.

O resultado das análises apresentadas na figura 86 mostra que o tempo de perda de água pura foi de 276 min e de água contida no gel foi de aproximadamente 450 min. Assim, o tempo de perda de água do hidrogel hidratado foi de aproximadamente 63% maior quando comparado à água pura. Estes valores são equivalentes aos 60% apresentados pelos hidrogéis GGHA:JEF e menores aos valores apresentados pelos hidrogéis GGHA:CH, que apresentaram a perda de água em 500 min.

Os testes de liberação controlada dos fertilizantes comerciais MKP e NPK foram conduzidos seguindo os mesmos parâmetros descritos anteriormente para os hidrogéis das seções anteriores. Os valores obtidos de liberação do fertilizante MKP

para os hidrogéis GGHA:LYS estão mostrados nas figuras 87-89 e os valores de liberação para o fertilizante NPK estão representados nas figuras 90-92.

Figura 87 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:LYS intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.

Figura 88 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:LYS intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.

Figura 89 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:LYS intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.

Figura 90 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:LYS intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.

Figura 91 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:LYS intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.

Figura 92 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:LYS intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.

Estes valores de liberação de fertilizantes comprovam um padrão nas medidas, onde os resultados das figuras 87-92 apresentam liberação dos fertilizantes MKP e NPK máxima em aproximadamente 8 horas (480 min) após a imersão dos géis na água, com uma média de liberação de MKP de 50, 200 e 400 mg de fertilizante por um grama do hidrogel, para as amostras imersas em soluções de 1, 5 e 10 g/L e depois secas, respectivamente. Já para a liberação de NPK observa-se liberação de

aproximadamente 30, 140 e 300 mg do fertilizante por um grama de polímero, apresentando maior eficiência na liberação do fertilizante MKP, equivalente aos resultados apresentados nas outras seções.

Os hidrogéis GGLA:LYS também foram testados em relação a liberação controlada de fertilizantes. Os resultados dessas análises estão expostos nas figuras 93- 95 para liberação controlada de MKP e figuras 96-98 para liberação controlada de NPK.

Figura 93 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:LYS intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.

Figura 94 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:LYS intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.

Figura 95 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:LYS intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.

Figura 96 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:LYS intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.

Figura 97 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:LYS intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.

Figura 98 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:LYS intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.

Conforme os resultados anteriores, as figuras 93-98 apresentam a liberação máxima dos fertilizantes MKP e NPK em aproximadamente 8 horas após imersão dos géis na água, sendo em média 50, 250 e 300 mg de fertilizante MKP liberado por um grama de hidrogel e 25, 140 e 250 mg de fertilizante NPK liberado por um grama de hidrogel.

Os hidrogéis preparados a partir de goma gelana e lisina apresentaram valores de liberação inferiores aos citados no início da seção, preparados a partir de lisina, preparados por Wang *et al*¹⁷ com liberação máxima em até 70 horas após a imersão desses hidrogéis em água e preparados por Watkins *et al*¹⁴ com liberação em até 25 horas.

4.5 Hidrogéis de goma gelana e gelatina

A gelatina é uma proteína produzida a partir da desnaturação do colágeno. A presença de resíduos de glicina em sua estrutura favorece a reação de entrecruzamento com as cadeias da goma gelana na presença de EDC/NHS. Dentre alguns trabalhos realizados com gelatina pode se citar o hidrogel preparado por Wakhet *et al*¹⁹ a partir de gelatina e ágar que apresentou a absorção de 1 vez em relação ao seu peso seco após 5 horas imerso em água. Gaowa *et al*²⁰ preparou hidrogéis a partir de gelatina para liberação controlada de peptídeos anti

cancerígenos com liberação controlada em até 48 horas e Oun *et al*¹²¹ preparou hidrogéis a partir de gelatina e álcool polivinílico (PVA) para liberação de cisplatina, droga usa em quimioterapia com absorção de 2 vezes e liberação em até 24 horas.

O entrecruzamento entre as cadeias poliméricas da goma gelana e gelatina usando EDC/NHS ocorre de modo parecido como com a lisina, i.e., pela formação de uma ligação peptídica, resultando em um grupo amida. No sentido de verificar a formação de redes poliméricas de GGHA:GEL foram obtidos os espectros de FT-IR que estão representados na figura 99.

Figura 99 – Espectros de FT-IR para goma gelana, gelatina e o hidrogel GGHA:GEL.

A análise do espectro de FT-IR revela uma banda em 1637 cm^{-1} no hidrogel, associado ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ (amida I), a banda em 1550 cm^{-1} está associada à deformação N-H no plano acoplada com estiramento C-N (amida II) e a banda em 1215 cm^{-1} está associada ao estiramento C-N acoplada com deformação N-H (amida III). A banda em 1710 cm^{-1} está associada a deformação $\text{C}=\text{O}$ de ácidos carboxílicos, que se apresenta em 1720 cm^{-1} no espectro da goma gelana.^{90; 116} O espectro da gelatina apresenta bandas em 1674 cm^{-1} (amida I), 1540 cm^{-1} (amida II), 1236 cm^{-1} (amida III) e uma pequena banda em 2850 cm^{-1} associado ao estiramento simétrico $-\text{CH}_2$.¹²¹

Curvas de TG e DTG para goma gelana, gelatina e o hidrogel GGHA:GEL estão mostrados na figura 100.

Figura 100 - TGA (a) e DTG (b) para goma gelana (GGHA), gelatina (GEL) e hidrogel GGHA:GEL.

Observando-se as curvas de TGA da figura 100 a, a água absorvida pelos polímeros é eliminada até aproximadamente 150°C, sendo de 11% para gelatina, 8% para a goma gelana e 6% para o hidrogel GGHA:GEL. Os DTGs (figura 100b) apresentam picos únicos de degradação térmica para a goma gelana em 256°C e para a gelatina em 330°C, o hidrogel apresenta dois picos de degradação sendo em 264 e 338°C, associados respectivamente a picos deslocados pela interação polimérica de degradação da goma gelana e gelatina, estes picos deslocados indicam a interação entre as cadeias poliméricas da goma gelana e da gelatina. Os resíduos da degradação das amostras foram de 24% para goma gelana e o hidrogel GGHA:GEL e 11% para a gelatina a 800°C.

Conforme as outras seções, amostras liofilizadas dos hidrogéis preparados a partir de goma gelana e gelatina foram fotografadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Na figura 101 estão representadas as amostras de GGHA:GEL 2 (A) e 4 (B) e as amostras de GGLA:GEL 2 (C) e 4 (D), com aumento de 100x.

Figura 101 – Imagens de MEV dos hidrogéis liofilizados GGHA:GEL 2 (A) e 4 (B) e GGLA:GEL 2 (C) e 4 (D), com aumento de 100x.

Observando-se a figura 101 A e B, pode-se notar a presença de poros em ambas amostras porém com uma quantidade maior para a amostra GGHA:GEL 2, já a amostra GGHA:GEL 4 apresenta menos poros e uma estrutura mais compacta. As amostras de GGLA apresentam menos poros porém com uma estrutura aberta, a presença uma estrutura em placas para a amostra GGLA:GEL 4 (figura 101 D) evidencia um maior número de entrecruzamentos que a amostra GGLA:GEL 2 (figura 101 C) onde ainda existem alguns poros.^{8; 110}

A absorção de água (S) dos hidrogéis formados por goma gelana e gelatina em diferentes pHs, conforme efetuado nos hidrogéis anteriores, bem como os valores de V_r , M_c e d_x estão listados nas tabelas 10 e 11 onde os valores referem-se a média de três medidas.

Tabela 10 - Valores de grau de absorção (S), fração em volume do polímero (V_r), massa molecular média entre entrecruzamentos (M_c) e densidade de entrecruzamentos (d_x) para os hidrogéis GGHA:GEL

GGHA:GEL	S				V_r (10^{-3})	M_c (10^3)	d_x (10^{-4})
	pH =4	pH=7	pH=10	PBS			
1	100±4	113±9	87±7	73±5	7,46	8,56	2,33
2	97±6	108±8	85±5	68±2	9,21	6,54	3,89
3	82±5	91±6	71±2	63±3	12,3	5,18	5,82
4	66±8	74±9	59±7	56±3	13,01	4,91	5,21

Tabela 11 - Valores de grau de absorção (S), fração em volume do polímero (V_r), massa molecular média entre entrecruzamentos (M_c) e densidade de entrecruzamentos (d_x) para os hidrogéis GGLA:GEL

GGLA:GEL	S				V_r (10^{-3})	M_c (10^3)	d_x (10^{-4})
	pH =4	pH=7	pH=10	PBS			
1	59±3	66±6	54±3	52±4	18,9	3,35	7,99
2	48±3	49±8	44±3	39±6	24,4	2,16	10,33
3	38±3	42±5	41±4	35±3	27,2	2,34	11,52
4	37±4	40±5	37±4	34±4	29,5	2,16	12,48

O comportamento destas amostras é semelhante as amostras apresentadas nas seções anteriores, onde amostras preparadas a partir de GGHA apresentam valores maiores de absorção em comparação as amostras GGLA e também, amostras preparadas com maiores quantidades de EDC/NHS apresentam maiores densidades de entrecruzamentos e menores valores de absorção, conclusão semelhante as imagens de MEV da figura 101.

As cinéticas de absorção dos hidrogéis formados estão representadas nas figuras 102 a 105.

Figura 102 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:GEL em pH=7.

Figura 103 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:GEL em pH=4.

Figura 104 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:GEL em pH=10.

Figura 105 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGHA:GEL em solução tampão PBS.

Estes resultados obtidos nas figuras 102-105 apresentam as mesmas características que os outros hidrogéis apresentados, onde a estabilização da absorção ocorre após 24 horas submersos em água. Os melhores valores de absorção entre 85 e 140 foram obtidos para a amostra de GGLA:LYS 1. Da mesma forma, foi efetuado as medidas de cinética de absorção para os hidrogéis GGLA:GEL, apresentados nas figuras 106-109.

Figura 106 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:GEL em pH=7.

Figura 107 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:GEL em solução tampão pH=4.

Figura 108 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:GEL em solução tampão pH=10.

Figura 109 - Cinética de absorção (S) para os hidrogéis GGLA:GEL em solução tampão PBS.

Dentre os hidrogéis preparados a partir de goma gelana apresentados neste trabalho, os hidrogéis preparados a partir de goma gelana, tanto GGHA quanto GGLA e gelatina foram os que apresentaram menores valores de absorção. Dos valores de absorção obtidos os melhores variaram entre 54 e 65 e foram registrados para a amostra GGHA:GEL 1. Apesar de serem baixos, esses valores de absorção foram maiores quando comparados com os hidrogéis preparados a partir de gelatina e

descritos por Wakhet *et al*¹¹⁹, Gaowa *et al*¹²⁰ e Oun *et al*¹²¹ com absorção de apenas duas vezes o seu peso seco, citados no início desta seção.

A cinética de evaporação foi efetuada conforme descrito na seção 3.7 para as amostras GGHA:GEL estão apresentadas na figura 110.

Figura 110 - Cinética de evaporação para os hidrogéis GGHA:GEL e para água pura.

Os valores de perda de massa mostrados na figura 110 são semelhantes aos valores obtidos para os hidrogéis das seções anteriores, apresentando tempo de retenção de água de aproximadamente 450 min, sendo 63% maior em comparação a água pura.

Para avaliar a liberação controlada de fertilizantes, os mesmos testes realizados para os hidrogéis das seções anteriores foram realizados com os hidrogéis GGHA:GEL. Os valores obtidos de liberação do fertilizante MKP para os hidrogéis estão mostrados nas figuras 111-113 e os valores de liberação para o fertilizante NPK estão representados nas figuras 114-116.

Figura 111 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:GEL intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.

Figura 112 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:GEL intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.

Figura 113 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGHA:GEL intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.

Figura 114 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:GEL intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.

Figura 115 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:GEL intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.

Figura 116 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGHA:GEL intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.

Os resultados de liberação controlada para os hidrogéis GGLA:GEL estão apresentados nas figuras 117-119 para liberação controlada de MKP e figuras 120-122 para liberação controlada de NPK.

Figura 117 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:GEL intumescido com a solução MKP 1 g/L e seco.

Figura 118 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:GEL intumescido com a solução MKP 5 g/L e seco.

Figura 119 - Liberação de fertilizante MKP em água para hidrogéis GGLA:GEL intumescido com a solução MKP 10 g/L e seco.

Figura 120 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:GEL intumescido com a solução NPK 1 g/L e seco.

Figura 121 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:GEL intumescido com a solução NPK 5 g/L e seco.

Figura 122 - Liberação de fertilizante NPK em água para hidrogéis GGLA:GEL intumescido com a solução NPK 10 g/L e seco.

Observando-se os valores de liberação controlada para os hidrogéis GGHA:GEL e GGLA:GEL novamente constata-se semelhanças nos resultados, tanto entre eles quanto apresentados nas seções anteriores. Os hidrogéis sintetizados por Gaowa *et al*¹²⁰ tiveram a liberação em 48 horas, e preparados por Oun *et al*¹²¹ mostraram a liberação completa após 24 horas, sendo estes valores superiores aos obtidos para os hidrogéis GGHA:GEL e GGLA:GEL.

4.6 Resumo e aplicações em germinação de sementes

Nas seções anteriores foram apresentados os resultados obtidos para os hidrogéis ALG:CH, GGxx:CH, GGxx:JEF, GGxx:LYS e GGxx:GEL (xx=HA ou LA). O resumo dos resultados obtidos para esses hidrogéis de absorção (S), densidade de entrecruzamentos (dx) e liberação de MKP e NPK estão apresentados na tabela 12.

Tabela 12 – Resumo dos valores obtidos de (S), (dx), liberação de MKP e NPK para os hidrogéis preparados.

Hidrogel	S (pH=7)	dx (10 ⁻⁴)	MKP (mg/g)	NPK (mg/g)
ALG:CH 1:3	32±3	3,87	388±22	166±2
ALG:CH 1:1	80±10	0,87	365±22	158±8
GGHA:CH 4:1	218±23	1,07	414±82	223±12
GGHA:CH 1:4	71±6	11,10	406±44	240±12
GGHA:JEF 1	145±36	2,39	437±59	327±65
GGHA:JEF 4	85±6	7,05	345±53	288±34
GGHA:LYS 1	164±24	2,33	466±82	333±98
GGHA:LYS 4	105±13	5,21	385±77	307±42
GGHA:GEL 1	113±9	2,33	307±38	333±98
GGHA:GEL 4	74±9	5,21	315±37	307±42

Pela tabela 12, os valores máximos de absorção são comparáveis com os dados encontrados na literatura sobre os hidrogéis a base de polímeros naturais. Por exemplo, os hidrogéis a base de goma gelana e ácido hialurônico descritos por Cencetti *et al*⁶² tiveram S=80, os hidrogéis a base de goma gelana modificada com carboximetilquitosana preparados por Tang *et al*¹⁰⁹ tiveram S=180 e hidrogéis a base de celuloses modificadas preparadas por Sannino *et al*¹²² tiveram S=82. Contudo, estes valores são inferiores aos valores obtidos para os hidrogéis sintéticos, como por exemplo, os hidrogéis preparados usando a poliacrilamida e descritos por Zhang *et al*¹²³, que tiveram o valor de absorção S=2400.

Os valores de liberação controlada de fertilizantes se apresentaram equivalentes para todos os hidrogéis estudados neste trabalho, com liberação completa em aproximadamente 8 horas após imersos em água, sendo equivalente

aos outros hidrogéis de polímeros naturais, como exemplo hidrogéis preparados por Watkins *et al*¹¹⁴ cuja liberação completa ocorreu após 25 horas de imersão. Contudo, novamente, estes valores são inferiores aos valores obtidos para os hidrogéis a base de polímeros sintéticos, como preparados por Noppakundilograt *et al*⁴² com liberação completa em 30 dias ou hidrogéis preparados por Rashidzadeh *et al*⁴¹ com liberação completa após 60 dias.

A tabela 12 revela também que cada hidrogel sintetizado apresenta uma característica única, i.e., o hidrogel GGHA:CH 4:1, apesar de ter mostrado o maior valor de S, não tinha menor número de entrecruzamentos e também não apresentou maiores valores de liberação tanto de MKP quanto NPK. Isso significa que dependendo da eventual aplicação deste tipo de materiais é possível escolher a melhor formulação dentre as composições estudadas.

No sentido de verificação da utilidade dos hidrogéis sintetizados e estudados foram feitos os primeiros testes laboratoriais qualitativos de aplicação como materiais de liberação de fertilizantes. A figura 123 ilustra a aplicação dos hidrogéis para germinação de sementes, onde foram preparadas 3 amostras contendo 1g de hidrogel GGHA:CH com fertilizante MKP (GGHA:CH-MKP), 3 amostras contendo 1g de hidrogel intumescido e 3 amostras apenas com o substrato de casca de coco, utilizando-se sementes de alface americana peletizada (*Lactuca sativa*) e uma única aplicação de 15 mL de água no momento de semeadura. Pela altura dos brotos na imagem da figura 123 observa-se que houve a melhor eficiência da germinação das sementes nas amostras contendo o hidrogel estudado.

Figura 123 – Aplicação dos hidrogéis na germinação de sementes de alface.

Em seguida, tentando quantificar o uso dos hidrogéis em sistemas de germinação de sementes foram realizados os primeiros testes com sementes de alface americana e crespa, seguindo os procedimentos adaptados de Liu¹²⁴ e Pazderu.¹²⁵ Foram preparadas 25 amostras de cada variedade de sementes de alface com a adição de aproximadamente 1g do hidrogel GGHA:LYS com fertilizante MKP, 1g do hidrogel GGGHA:LYS e amostras sem aplicação dos hidrogéis. Como o objetivo da aplicação do hidrogel é aumentar a eficiência dos sistemas de cultivo, foi adicionado 1mL de água por dia para cada amostra. Os resultados estão apresentados na tabela 13, que mostra a porcentagem de germinação e sobrevivência após 4 semanas. As figuras 124 e 125 mostram a média de tamanho das plantas tratadas com hidrogel com fertilizante e com hidrogel, respectivamente.

Tabela 13 – Resultados de germinação e sobrevivência das amostras de alface americana e crespa.

Amostra	% germinação	% sobrevivência
Americana GGHA:LYS-MKP	100%	84%
Crespa GGHA:LYS-MKP	56%	40%
Americana GGHA:LYS	92%	72%
Crespa GGHA:LYS	32%	24%
Americana controle	84%	16%
Crespa controle	56%	4%

Analizando-se a tabela pode-se observar maiores taxas de germinação e sobrevivência para as amostras contendo hidrogel. Observou-se que a presença do hidrogel aumentou a eficiência em situações adversas, como o racionamento de água. O uso do hidrogel além de aumentar a eficiência de germinação, também auxiliou na sobrevivência das amostras. As amostras de hidrogel com fertilizante apresentaram um pequeno aumento na média de tamanho comparadas com as amostras contendo apenas o hidrogel, 5,2 cm e 4,3 cm para alface americana e para alface crespa 4,8 cm e 4,2 cm, respectivamente (figuras 124 e 125). A figura 126 ilustra as amostras na segunda e na quarta semana de germinação.

Figura 124 – Histograma representando a média de tamanho para amostras de alface americana.

Figura 125 – Histograma representando a média de tamanho para amostras de alface cresa.

Figura 126 – Amostras de alface americana e crespa na segunda e quarta semana, respectivamente.

A utilização de polímeros naturais em oposição aos polímeros sintéticos tem como base a biodegradabilidade, para evitar a acumulação no meio ambiente. Para visualizar esta propriedade, as amostras do hidrogel GGHA:CH foram armazenados em frasco aberto à temperatura ambiente e foi constatado ataque por fungos após uma semana de exposição ao ar, podendo evidenciar início de degradação conforme ilustrado na figura 127.

Como foi demonstrado através destes experimentos iniciais, os dois assuntos, tanto o uso de hidrogéis para a germinação e/ou crescimento de plantas quanto a sua biodegradação são os assuntos bastante promissores para serem pesquisados futuramente.

Figura 127 – Visualização do ataque por fungos no hidrogel GGHA:CH vista superior (foto da esquerda) e vista lateral (foto da direita).

5 CONCLUSÕES

Os hidrogéis sintetizados através de reações de entrecruzamento de goma gelana com (i) quitosana (ii) Jeffamina (iii) L-lisina, (iv) gelatina e, alginato com quitosana foram caracterizados por FT-IR e análises térmicas. Também foram testados em relação à estabilidade, índice de absorção de água e liberação de fertilizantes MKP e NPK.

Os ensaios de absorção de água (S) mostraram altos valores de absorção de água em relação ao seu peso seco, sendo 218 vezes para GGHA:CH, 145 vezes para GGHA:JEF, 164 vezes para GGHA:LYS, 113 vezes para GGHA:GEL e 80 vezes para ALG:CH, mesmo apresentando densidade de entrecruzamentos menor. Isto comprova uma maior capacidade de absorção da cadeia da goma gelana quando comparada a outros polímeros estudados, conforme sumarizado na tabela 12.

Para a aplicação como condicionadores de solo, foi calculado que 98% da massa do hidrogel GGHA:CH hidratado consiste de água, sendo 70% água congelável (W_f) e 28% água não congelável (W_{nf}). A presença de água fortemente ligada às cadeias poliméricas favorece a aplicação do hidrogel como condicionador de solo, visto que a liberação desta ocorrerá apenas em condições adversas.

Os hidrogéis a base de macromoléculas naturais também foram submetidos aos ensaios de retenção de água em relação à água pura. Os resultados obtidos revelaram que todos os hidrogéis preparados apresentam tempos maiores de retenção de água em relação a água pura. Os géis de ALG:CH revelaram a retenção de água de 400 min, os géis GGHA:CH de 500 min e, hidrogéis GGHA:JEF, GGHA:LYS e GGHA:GEL apresentaram tempos de retenção de aproximadamente 450 min, enquanto a água pura evaporava em 276 min. Esses resultados demonstraram a viabilidade dos géis para o armazenamento de água e podem ser estendidos para as substâncias químicas, como fertilizantes.

As amostras de géis foram também submetidas aos ensaios de liberação dos fertilizantes comerciais MKP e NPK revelando o comportamento similar para todas as amostras estudadas. Foi observado que a liberação do MKP é influenciada apenas pela concentração da solução na qual o gel foi intumescido. Os géis liberaram aproximadamente 400 mg do fertilizante MKP por um grama do hidrogel em um

intervalo de 8 horas, enquanto houve a liberação de aproximadamente 300 mg de NPK por um grama de hidrogel (tabela 12).

Os produtos sintetizados apresentaram alta absorção de água, tempo de retenção de água elevado, tempo de liberação dos fertilizantes longo. Concluindo, os hidrogéis a base de goma gelana, e outros polímeros naturais atendem os pré-requisitos necessários para a aplicação como agente de condicionamento de solo e de liberação controlada de substâncias químicas, mesmo possuindo menores valores se comparados aos hidrogéis sintéticos, porém apresentando o diferencial de serem preparados a base de macromoléculas naturais, tendo também sua biodegradabilidade e otimização em sistemas de cultivo como perspectivas de avanço do trabalho.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1]PAWLICKA, A.; FRESQUI, M.; TRSIC, M. **Curso de química para engenharia**. São Paulo: Manole, 2013. v. 2.

[2]KULKARNI VISHAKHA, S.; BUTTE KISHOR, D.; RATHOD SUDHA, S. Natural polymers—a comprehensive review. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 3, n. 4, p. 1597-1613, 2012.

[3]DAVIDSON, D.; GU, F. X. Materials for sustained and controlled release of nutrients and molecules to support plant growth. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 4, p. 870-876, 2012.

[4]NI, B. L.; LIU, M. Z.; LU, S. Y.; XIE, L. H.; WANG, Y. F. Environmentally friendly slow-release nitrogen fertilizer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 18, p. 10169-10175, 2011.

[5]DAI, Y. N.; LI, P.; ZHANG, J. P.; WANG, A. O.; WEI, Q. Swelling characteristics and drug delivery properties of nifedipine-loaded pH sensitive alginate-chitosan hydrogel beads. **Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials**, v. 86B, n. 2, p. 493-500, 2008.

[6]VAN BEMMELEN, J. M. Das hydrogel und das krystallinische hydrat des kupferoxyds. **Zeitschrift für anorganische Chemie**, v. 5, n. 1, p. 466-483, 1894.

[7]WICHTERLE, O.; LIM, D. Hydrophilic gels for biological use. **Nature**, v. 185, n. 4706, p. 117-118, 1960.

[8]FAN, L. H.; TAN, C.; WANG, L. B.; PAN, X. R.; CAO, M.; WEN, F.; XIE, W. G.; NIE, M. Preparation, characterization and the effect of carboxymethylated chitosan-cellulose derivatives hydrogels on wound healing. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 128, n. 5, p. 2789-2796, 2013.

[9]BAYSAL, K.; AROGUZ, A. Z.; ADIGUZEL, Z.; BAYSAL, B. M. Chitosan/alginate crosslinked hydrogels: preparation, characterization and application for cell growth purposes. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 59, p. 342-348, 2013.

[10]TIAN, K.; XIE, C. S.; XIA, X. P. Chitosan/alginate multilayer film for controlled release of IDM on Cu/LDPE composite intrauterine devices. **Colloids and Surfaces B-Biointerfaces**, v. 109, p. 82-89, 2013.

- [11]WU, L.; LIU, M. Z. Preparation and properties of chitosan-coated NPK compound fertilizer with controlled-release and water-retention. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, n. 2, p. 240-247, 2008.
- [12]PAL, K.; BANTHIA, A. K.; MAJUMDAR, D. K. Polymeric hydrogels: characterization and biomedical applications. **Designed Monomers and Polymers**, v. 12, n. 3, p. 197-220, 2009.
- [13]BUWALDA, S. J.; BOERE, K. W. M.; DIJKSTRA, P. J.; FEIJEN, J.; VERMONDEN, T.; HENNINK, W. E. Hydrogels in a historical perspective: from simple networks to smart materials. **Journal of Controlled Release**, v. 190, p. 254-273, 2014.
- [14]SHUKLA, J. M. V. K. Cross-linking in hydrogels - a review. **American Journal of Polymer Science**, v. 4, n. 2, p. 25-31, 2014.
- [15]FLORY, P. J.; REHNER, J. Statistical mechanics of cross-linked polymer networks II. swelling. **The Journal of Chemical Physics**, v. 11, n. 11, p. 521-526, 1943.
- [16]ZOHURIAAN-MEHR, M. J.; KABIRI, K. Superabsorbent polymer materials: a review. **Iranian Polymer Journal**, v. 17, n. 6, p. 451-477, 2008.
- [17]AHMED, E. M. Hydrogel: preparation, characterization, and applications: a review. **Journal of Advanced Research**, v. 6, n. 2, p. 105-121, 2015.
- [18]DAS, N. Preparation methods and properties of hydrogel: a review. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 3, p. 112-117, 2013.
- [19]HAMIDI, M.; AZADI, A.; RAFIEI, P. Hydrogel nanoparticles in drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, n. 15, p. 1638-1649, 2008.
- [20]INAL, M.; YIGITOGU, M.; ISIKLAN, N. Controlled release of indomethacin from crosslinked alginate beads. **E-Polymers**, v. 8, n. 1, p. 177-192, 2008.
- [21]YOSHIMURA, T.; MATSUO, K.; FUJIOKA, R. Novel biodegradable superabsorbent hydrogels derived from cotton cellulose and succinic anhydride: synthesis and characterization. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 99, n. 6, p. 3251-3256, 2006.

[22]GUO, M. Y.; LIU, M. Z.; HU, Z.; ZHAN, F. L.; WU, L. Preparation and properties of a slow release NP compound fertilizer with superabsorbent and moisture preservation. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 96, n. 6, p. 2132-2138, 2005.

[23]YANG, C.; XU, L.; ZHOU, Y.; ZHANG, X. M.; HUANG, X.; WANG, M.; HAN, Y.; ZHAI, M. L.; WEI, S. C.; LI, J. Q. A green fabrication approach of gelatin/CM-chitosan hybrid hydrogel for wound healing. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 4, p. 1297-1305, 2010.

[24]COUTINHO, D. F.; SANT, S. V.; SHIN, H.; OLIVEIRA, J. T.; GOMES, M. E.; NEVES, N. M.; KHADEMHOSEINI, A.; REIS, R. L. Modified gellan gum hydrogels with tunable physical and mechanical properties. **Biomaterials**, v. 31, n. 29, p. 7494-7502, 2010.

[25]PARK, K. Controlled drug delivery systems: Past forward and future back. **Journal of Controlled Release**, v. 190, p. 3-8, 2014.

[26]MATRICARDI, P.; CENCETTI, C.; RIA, R.; ALHAIQUE, F.; COVIELLO, T. Preparation and characterization of novel gellan gum hydrogels suitable for modified drug release. **Molecules**, v. 14, n. 9, p. 3376-3391, 2009.

[27]FERRIS, C. J.; PANHUIS, M. I. H. Conducting bio-materials based on gellan gum hydrogels. **Soft Matter**, v. 5, n. 18, p. 3430-3437, 2009.

[28]GUZMAN-VILLANUEVA, D.; SMYTH, H. D. C.; HERRERA-RUIZ, D.; EL-SHERBINY, I. M. A Novel aerosol method for the production of hydrogel particles. **Journal of Nanomaterials**, v. 2011, p. 1-10, 2011.

[29]TORELLI-SOUZA, R. R.; BASTOS, L. A. C.; NUNES, H. G. L.; CAMARA, C. A.; AMORIM, R. V. S. Sustained release of an antitumoral drug from alginate-chitosan hydrogel beads and its potential use as colonic drug delivery. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 126, n. S1, p. E408-E417, 2012.

[30]COLOMBO, P. Swelling-controlled Release in hydrogel matrices for oral route. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 11, n. 1-2, p. 37-57, 1993.

[31]GUO, M. Y.; LIU, M. Z.; ZHAN, F. L.; WU, L. Preparation and properties of a slow-release membrane-encapsulated urea fertilizer with superabsorbent and moisture preservation. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 44, n. 12, p. 4206-4211, 2005.

- [32]ZHANG, W. J.; ZHANG, X. Y. A forecast analysis on fertilizers consumption worldwide. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 133, n. 1-3, p. 427-434, 2007.
- [33]SHAVIV, A.; MIKKELSEN, R. L. Controlled-release fertilizers to increase efficiency of nutrient use and minimize environmental degradation - a review. **Fertilizer Research**, v. 35, n. 1-2, p. 1-12, 1993.
- [34]MALHI, S. S.; SOON, Y. K.; GRANT, C. A.; LEMKE, R.; LUPWAYI, N. Influence of controlled-release urea on seed yield and N concentration, and N use efficiency of small grain crops grown on Dark Gray Luvisols. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 90, n. 2, p. 363-372, 2010.
- [35]BORTOLIN, A.; AOUADA, F. A.; DE MOURA, M. R.; RIBEIRO, C.; LONGO, E.; MATTOSO, L. H. C. Application of polysaccharide hydrogels in adsorption and controlled-extended release of fertilizers processes. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 123, n. 4, p. 2291-2298, 2012.
- [36]AHMAD, N. N. R.; FERNANDO, W. J. N.; UZIR, M. H. Parametric evaluation using mechanistic model for release rate of phosphate ions from chitosan-coated phosphorus fertiliser pellets. **Biosystems Engineering**, v. 129, p. 78-86, 2015.
- [37]JAROSIEWICZ, A.; TOMASZEWSKA, M. Controlled-release NPK fertilizer encapsulated by polymeric membranes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 2, p. 413-417, 2003.
- [38]TAO, S. M.; LIU, J.; JIN, K. M.; QIU, X. Y.; ZHANG, Y. A.; REN, X. Q.; HU, S. W. Preparation and characterization of triple polymer-coated controlled-release urea with water-retention property and enhanced durability. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 120, n. 4, p. 2103-2111, 2011.
- [39]ZHANG, N. Y.; LI, X. Q.; ZHANG, J.; DAI, L. L. Study on environmentally friendly slow-release fertilizer for plant camouflage. **Advances in Environmental Technologies**, v. 726-731, p. 4521-4524, 2013.
- [40]BORTOLIN, A.; AOUADA, F. A.; MATTOSO, L. H. C.; RIBEIRO, C. Nanocomposite PAAm/methyl cellulose/montmorillonite hydrogel: evidence of synergistic effects for the slow release of fertilizers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 31, p. 7431-7439, 2013.
- [41]RASHIDZADEH, A.; OLAD, A.; SALARI, D.; REYHANITABAR, A. On the preparation and swelling properties of hydrogel nanocomposite based on sodium alginate-g-poly (acrylic acid-co-acrylamide)/clinoptilolite and its application as slow release fertilizer. **Journal of Polymer Research**, v. 21, n. 2, p. 1-15, 2014.

[42]NOPPAKUNDILOGRAT, S.; PHEATCHARAT, N.; KIATKAMJORNWONG, S. Multilayer-coated NPK compound fertilizer hydrogel with controlled nutrient release and water absorbency. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 2, 2015.

[43]ZHANG, G. Q.; ZHA, L. S.; ZHOU, M. H.; MA, J. H.; LIANG, B. R. Preparation and characterization of pH- and temperature-responsive semi-interpenetrating polymer network hydrogels based on linear sodium alginate and crosslinked poly(N-isopropylacrylamide). **Journal of Applied Polymer Science**, v. 97, n. 5, p. 1931-1940, 2005.

[44]STANFORD, E. C. C. **Manufacture of useful products from sea-weed**. US n. US341072A, 04 maio 1886.

[45]SCHMIDT, E.; VOCKE, F. Information on poly-glycuronic acids (I). **Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 59, n. 7, p. 1585-1588, 1926.

[46]NELSON, W. L.; CRETCHER, L. H. The alginic acid from macrocystis pyrifera^{1,2}. **Journal of the American Chemical Society**, v. 51, n. 6, p. 1914-1922, 1929.

[47]HAUG, A.; SMIDSROD, O. Fractionation of alginates by precipitation with calcium and magnesium ions. **Acta Chemica Scandinavica**, v. 19, n. 5, p. 1221-1226, 1965.

[48]AUGST, A. D.; KONG, H. J.; MOONEY, D. J. Alginate hydrogels as biomaterials. **Macromolecular Bioscience**, v. 6, n. 8, p. 623-633, 2006.

[49]PIRES, A. L. R.; MORAES, A. M. Improvement of the mechanical properties of chitosan-alginate wound dressings containing silver through the addition of a biocompatible silicone rubber. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 12, p. 1-9, 2015.

[50]QIN, Y. M. Alginate fibres: an overview of the production processes and applications in wound management. **Polymer International**, v. 57, n. 2, p. 171-180, 2008.

[51]DUMITRIU, R. P.; MITCHELL, G. R.; VASILE, C. Rheological and thermal behaviour of poly(N-isopropylacrylamide)/alginate smart polymeric networks. **Polymer International**, v. 60, n. 9, p. 1398-1407, 2011.

[52]DUMITRIU, R. P.; MITCHELL, G. R.; VASILE, C. Multi-responsive hydrogels based on N-isopropylacrylamide and sodium alginate. **Polymer International**, v. 60, n. 2, p. 222-233, 2011.

- [53]ROUILLARD, A. D.; BERGLUND, C. M.; LEE, J. Y.; POLACHECK, W. J.; TSUI, Y.; BONASSAR, L. J.; KIRBY, B. J. Methods for photocrosslinking alginate hydrogel scaffolds with high cell viability. **Tissue Engineering Part C-Methods**, v. 17, n. 2, p. 173-179, 2011.
- [54]PAUL, F.; MORIN, A.; MONSAN, P. Microbial polysaccharides with actual potential industrial applications. **Biotechnology Advances**, v. 4, n. 2, p. 245-259, 1986.
- [55]BAJAJ, I. B.; SURVASE, S. A.; SAUDAGAR, P. S.; SINGHAL, R. S. Gellan gum: fermentative production, downstream processing and applications. **Food Technology and Biotechnology**, v. 45, n. 4, p. 341-354, 2007.
- [56]KANG, K. S.; VEEDER, G. T.; MIRRASOUL, P. J.; KANEKO, T.; COTTRELL, I. W. Agar-like polysaccharide produced by a pseudomonas species: production and basic properties. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 43, n. 5, p. 1086-1091, 1982.
- [57]TAKEUCHI, M.; SAWADA, H.; OYAIZU, H. Phylogenetic evidence for *Sphingomonas* and *Rhizomonas* as nonphotosynthetic members of the alpha4 subclass of the proteobacteria. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 44, n. 2, p. 308-314, 1994.
- [58]JANSSON, P. E.; LINDBERG, B.; SANDFORD, P. A. Structural studies of gellan gum, an extracellular polysaccharide elaborated by *Pseudomonas-Elodea*. **Carbohydrate Research**, v. 124, n. 1, p. 135-139, 1983.
- [59]RAMAIAH, J. K.; PARIKH, J. R.; SHAH, J. Gellan gum and its applications – a review. **Pharmaceutical Reviews**, v. 5, n. 6, p. 341-354, 2007.
- [60]GIAVASIS, I.; HARVEY, L. M.; MCNEIL, B. Gellan gum. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 20, n. 3, p. 177-211, 2000.
- [61]QUINN, F. X.; HATAKEYAMA, T.; YOSHIDA, H.; TAKAHASHI, M.; HATAKEYAMA, H. The conformational properties of gellan gum hydrogels. **Polymer Gels and Networks**, v. 1, n. 2, p. 93-114, 1993.
- [62]CENCETTI, C.; BELLINI, D.; LONGINOTTI, C.; MARTINELLI, A.; MATRICARDI, P. Preparation and characterization of a new gellan gum and sulphated hyaluronic acid hydrogel designed for epidural scar prevention. **Journal of Materials Science-Materials in Medicine**, v. 22, n. 2, p. 263-271, 2011.

- [63]GONG, Y.; WANG, C.; LAI, R.; SU, K.; ZHANG, F.; WANG, D. An improved injectable polysaccharide hydrogel: modified gellan gum for long-term cartilage regeneration in vitro. **Journal of Materials Chemistry**, v. 19, n. 14, p. 1968-1977, 2009.
- [64]HADELER, B.; SCHOLZ, S.; RESKI, R. Gelrite and agar differently influence cytokinin-sensitivity of a moss. **Journal of Plant Physiology**, v. 146, n. 3, p. 369-371, 1995.
- [65]CARLFORS, J.; EDSMAN, K.; PETERSSON, R.; JORNVING, K. Rheological evaluation of Gelrite (R) in situ gels for ophthalmic use. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 2, p. 113-119, 1998.
- [66]PAULSSON, M.; EDSMAN, K. Controlled drug release from gels using lipophilic interactions of charged substances with surfactants and polymers. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 248, n. 1, p. 194-200, 2002.
- [67]COVIELLO, T.; DENTINI, M.; RAMBONE, G.; DESIDERI, P.; CARAFA, M.; MURTAS, E.; RICCIERI, F. M.; ALHAIQUE, F. A novel co-crosslinked polysaccharide: studies for a controlled delivery matrix. **Journal of Controlled Release**, v. 55, n. 1, p. 57-66, 1998.
- [68]AGNIHOTRI, S. A.; AMINABHAVI, T. M. Development of novel interpenetrating network gellan gum-poly(vinyl alcohol) hydrogel microspheres for the controlled release of carvedilol. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 31, n. 6, p. 491-503, 2005.
- [69]AMICI, E.; CLARK, A. H.; NORMAND, V.; JOHNSON, N. B. Interpenetrating network formation in agarose–sodium gellan gel composites. **Carbohydrate Polymers**, v. 46, n. 4, p. 383-391, 2001.
- [70]DOMARD, A.; DOMARD, M. Chitosan: structure-properties relationship and biomedical applications. In: DUMITRIU, S. **Polymeric biomaterials, revised and expanded**. Boca Raton: CRC, 2001. p. 187-212.
- [71]WASIKIEWICZ, J. M.; MITOMO, H.; NAGASAWA, N.; YAGI, T.; TAMADA, M.; YOSHII, F. Radiation crosslinking of biodegradable carboxymethylchitin and carboxymethylchitosan. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 102, n. 1, p. 758-767, 2006.
- [72]ALTINISIK, A.; YURDAKOC, K. Synthesis, characterization, and enzymatic degradation of chitosan/PEG hydrogel films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 122, n. 3, p. 1556-1563, 2011.

- [73]FAN, L. H.; PAN, X. R.; ZHOU, Y.; CHEN, L. Y.; XIE, W. G.; LONG, Z. H.; ZHENG, H. Preparation and characterization of crosslinked carboxymethyl chitosan-oxidized sodium alginate hydrogels. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 122, n. 4, p. 2331-2337, 2011.
- [74]ARORA, S.; GUPTA, S.; NARANG, R. K.; BUDHIRAJA, R. D. Amoxicillin loaded chitosan–alginate polyelectrolyte complex nanoparticles as mucopenetrating delivery system for H. Pylori. **Scientia Pharmaceutica**, v. 79, n. 3, p. 673-694, 2011.
- [75]DUTTA, P. K.; DUTTA, J.; TRIPATHI, V. S. Chitin and chitosan: chemistry, properties and applications. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 63, n. 1, p. 20-31, 2004.
- [76]DI LULLO, G. A.; SWEENEY, S. M.; KORKKO, J.; ALA-KOKKO, L.; SAN ANTONIO, J. D. Mapping the ligand-binding sites and disease-associated mutations on the most abundant protein in the human, type I collagen. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 6, p. 4223-4231, 2002.
- [77]GELSE, K.; POSCHL, E.; AIGNER, T. Collagens - structure, function, and biosynthesis. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 55, n. 12, p. 1531-1546, 2003.
- [78]HULMES, D. J.; MILLER, A. Molecular packing in collagen. **Nature**, v. 293, n. 5829, p. 239-234, 1981.
- [79]BRUCKNER, P.; VAN DER REST, M. Structure and function of cartilage collagens. **Microscopy Research and Technique**, v. 28, n. 5, p. 378-384, 1994.
- [80]CRESCENZI, V.; FRANCESCANGELI, A.; TAGLIENTI, A. New gelatin-based hydrogels via enzymatic networking. **Biomacromolecules**, v. 3, n. 6, p. 1384-1391, 2002.
- [81]KUIJPERS, A. J.; ENGBERS, G. H. M.; FEIJEN, J.; DE SMEDT, S. C.; MEYVIS, T. K. L.; DEMEESTER, J.; KRIJGSVELD, J.; ZAAT, S. A. J.; DANKERT, J. Characterization of the network structure of carbodiimide cross-linked gelatin gels. **Macromolecules**, v. 32, n. 10, p. 3325-3333, 1999.
- [82]PAWLICKA, A.; VIEIRA, D.; SABADINI, R. Gelatin-HCl biomembranes with ionic-conducting properties. **Ionics**, v. 19, n. 12, p. 1723-1731, 2013.
- [83]YOUNG, S.; WONG, M.; TABATA, Y.; MIKOS, A. G. Gelatin as a delivery vehicle for the controlled release of bioactive molecules. **Journal of Controlled Release**, v. 109, n. 1-3, p. 256-274, 2005.

[84]LI, M. Y.; GUO, Y.; WEI, Y.; MACDIARMID, A. G.; LELKES, P. I. Electrospinning polyaniline-contained gelatin nanofibers for tissue engineering applications. **Biomaterials**, v. 27, n. 13, p. 2705-2715, 2006.

[85]AWAD, H. A.; WICKHAM, M. Q.; LEDDY, H. A.; GIMBLE, J. M.; GUILAK, F. Chondrogenic differentiation of adipose-derived adult stem cells in agarose, alginate, and gelatin scaffolds. **Biomaterials**, v. 25, n. 16, p. 3211-3222, 2004.

[86]LANGER, R. S.; PEPPAS, N. A. Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems. **Biomaterials**, v. 24, n. 4, p. 14, 1981.

[87]PASQUI, D.; DE CAGNA, M.; BARBUCCI, R. Polysaccharide-based hydrogels: the key role of water in affecting mechanical properties. **Polymers**, v. 4, n. 3, p. 1517-1534, 2012.

[88]HERMANSON, G. T. **Bioconjugate techniques** 2. ed. New York: Academic Press, 2008. p. 213-233.

[89]D'ESTE, M.; EGLIN, D.; ALINI, M. A systematic analysis of DMTMM vs EDC/NHS for ligation of amines to hyaluronan in water. **Carbohydrate Polymers**, v. 108, p. 239-246, 2014.

[90]SAM, S.; TOUAHIR, L.; ANDRESA, J. S.; ALLONGUE, P.; CHAZALVIEL, J. N.; GOUGET-LAEMMEL, A. C.; DE VILLENEUVE, C. H.; MORAILLON, A.; OZANAM, F.; GABOUZE, N.; DJEBBAR, S. Semiquantitative study of the EDC/NHS activation of acid terminal groups at modified porous silicon surfaces. **Langmuir**, v. 26, n. 2, p. 809-814, 2010.

[91]CAO, H.; XU, S. Y. EDC/NHS-crosslinked type II collagen-chondroitin sulfate scaffold: characterization and in vitro evaluation. **Journal of Materials Science-Materials in Medicine**, v. 19, n. 2, p. 567-575, 2008.

[92]WANG, C.; YAN, Q.; LIU, H. B.; ZHOU, X. H.; XIAO, S. J. Different EDC/NHS Activation Mechanisms between PAA and PMAA Brushes and the Following Amidation Reactions. **Langmuir**, v. 27, n. 19, p. 12058-12068, 2011.

[93]CAO, L. F.; YANG, H. L.; ZHOU, Y.; ZHAO, F.; XU, P. F.; YAO, Q. Q.; YU, N.; HU, Z. W.; PENG, Z. Q. A new process for preparation of porous polyacrylamide resins and their humidity control properties. **Energy and Buildings**, v. 62, p. 590-596, 2013.

[94]SEYBOLD, C. A. Polyacrylamide review - soil conditioning and environmental fate. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 25, n. 11-12, p. 2171-2185, 1994.

[95]AGNIHOTRI, S. A.; AMINABHAVI, T. M. Novel interpenetrating network chitosan-poly(ethylene oxide-g-acrylamide) hydrogel microspheres for the controlled release of capecitabine. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 324, n. 2, p. 103-115, 2006.

[96]ZHAN, F. L.; LIU, M. Z.; GUO, M. Y.; WU, L. Preparation of superabsorbent polymer with slow-release phosphate fertilizer. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 92, n. 5, p. 3417-3421, 2004.

[97]GIANNOULI, P.; MORRIS, E. R. Cryogelation of xanthan. **Food Hydrocolloids**, v. 17, n. 4, p. 495-501, 2003.

[98]HATAKEYEMA, T.; YAMAUCHI, A.; HATAKEYEMA, H. Studies on bound water in poly(vinyl-alcohol) - hydrogel by DSC and FT-NMR. **European Polymer Journal**, v. 20, n. 1, p. 61-64, 1984.

[99]BARLKANI, M. H., C. Determination of crosslink density by swelling in the castable polyurethane elastomer based on 1/4 - cyclohexane diisocyanate and para - phenylene diisocyanate. **Iranian Journal of Polymer Science & Technology**, v. 1, n. 1, p. 1-5, 1992.

[100]HATAKEYAMA, T.; QUINN, F. X. **Thermal analysis fundamentals and applications to polymer science**. New York: Wiley, 1994. p. 98-100.

[101]CHEN, S. C.; WU, Y. C.; MI, F. L.; LIN, Y. H.; YU, L. C.; SUNG, H. W. A novel pH-sensitive hydrogel composed of N,O-carboxymethyl chitosan and alginate cross-linked by genipin for protein drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 96, n. 2, p. 285-300, 2004.

[102]PASPARAKIS, G.; BOUROPOULOS, N. Swelling studies and in vitro release of verapamil from calcium alginate and calcium alginate-chitosan beads. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 323, n. 1-2, p. 34-42, 2006.

[103]POURJAVADI, A.; FARHADPOUR, B.; SEIDI, F. Synthesis and investigation of swelling behavior of new agar based superabsorbent hydrogel as a candidate for agrochemical delivery. **Journal of Polymer Research**, v. 16, n. 6, p. 655-665, 2009.

[104]LI, Z.; RAMAY, H. R.; HAUCH, K. D.; XIAO, D.; ZHANG, M. Chitosan–alginate hybrid scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v. 26, n. 18, p. 3919-3928, 2005.

[105]OSTROWSKA-CZUBENKO, J.; GIERSEWSKA-DRUZYNSKA, M. Effect of ionic crosslinking on the water state in hydrogel chitosan membranes. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, n. 3, p. 590-598, 2009.

[106]OMIDIAN, H.; ZOHURIAAN-MEHR, M. J. DSC studies on synthesis of superabsorbent hydrogels. **Polymer**, v. 43, n. 2, p. 269-277, 2002.

[107]SPILLER, K. L.; LAURENCIN, S. J.; LOWMAN, A. M. Characterization of the behavior of porous hydrogels in model osmotically-conditioned articular cartilage systems. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 90, n. 2, p. 752-759, 2009.

[108]KABIRI, K.; ZOHURIAAN-MEHR, M. J. Porous superabsorbent hydrogel composites: Synthesis, morphology and swelling rate. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 289, n. 7, p. 653-661, 2004.

[109]TANG, Y.; SUN, J.; FAN, H.; ZHANG, X. An improved complex gel of modified gellan gum and carboxymethyl chitosan for chondrocytes encapsulation. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 1, p. 46-53, 2012.

[110]TIAN, W. M.; HOU, S. P.; MA, J.; ZHANG, C. L.; XU, Q. Y.; LEE, I. S.; LI, H. D.; SPECTOR, M.; CUI, F. Z. Hyaluronic acid-poly-D-lysine-based three-dimensional hydrogel for traumatic brain injury. **Tissue Engineering**, v. 11, n. 3-4, p. 513-525, 2005.

[111]SABADINI, R.; MARTINS, V. A.; PAWLICKA, A. Synthesis and characterization of gellan gum: chitosan biohydrogels for soil humidity control and fertilizer release. **Cellulose**, v. 22, n. 2, p. 1-10, 2015.

[112]FERRIS, C. J.; GILMORE, K. J.; WALLACE, G. G.; PANHUIS, M. I. H. Modified gellan gum hydrogels for tissue engineering applications. **Soft Matter**, v. 9, n. 14, p. 3705-3711, 2013.

[113]POURJAVADI, A.; DOULABI, M.; SOLEYMAN, R.; SHARIF, S.; EGHTESADI, S. A. Synthesis and characterization of a novel (salep phosphate)-based hydrogel as a carrier matrix for fertilizer release. **Reactive & Functional Polymers**, v. 72, n. 10, p. 667-672, 2012.

[114]WATKINS, K. A.; CHEN, R. pH-responsive, lysine-based hydrogels for the oral delivery of a wide size range of molecules. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 478, n. 2, p. 496-503, 2015.

[115]SABADINI, R. C.; RAPHAEL, E.; MARQUES, S. T.; BERCI, P.; PAWLICKA, A. Alginate-Jeffamine covalently crosslinked hydrogel. **Molecular Crystals and Liquid Crystals**, v. 603, n. 1, p. 240-247, 2014.

[116]ROEGES, N. P. G. **A guide to the complete interpretation of infrared spectra of organic structures**. New York: Wiley, 1994. 356 p.

[117]WANG, S. S.; HSIEH, P. L.; CHEN, P. S.; CHEN, Y. T.; JAN, J. S. Genipin-cross-linked poly (L-lysine)-based hydrogels: synthesis, characterization, and drug encapsulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 111, p. 423-431, 2013.

[118]AYDIN, M.; KARTAL, Z.; OSMANOĞLU, Ş.; HALIM BAŞKAN, M.; TOPKAYA, R. EPR and FT-IR spectroscopic studies of L-lysine monohydrochloride and L-glutamic acid hydrochloride powders. **Journal of Molecular Structure**, v. 994, n. 1–3, p. 150-154, 2011.

[119]WAKHET, S.; SINGH, V. K.; SAHOO, S.; SAGIRI, S. S.; KULANTHAIVEL, S.; BHATTACHARYA, M. K.; KUMAR, N.; BANERJEE, I.; PAL, K. Characterization of gelatin-agar based phase separated hydrogel, emulgel and bigel: a comparative study. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 26, n. 2, p. 118-131, 2015.

[120]GAOWA, A.; HORIBE, T.; KOHNO, M.; SATO, K.; HARADA, H.; HIRAOKA, M.; TABATA, Y.; KAWAKAMI, K. Combination of hybrid peptide with biodegradable gelatin hydrogel for controlled release and enhancement of anti-tumor activity in vivo. **Journal of Controlled Release**, v. 176, p. 1-7, 2014.

[121]LI, W. M.; LIU, D. M.; CHEN, S. Y. Amphiphilically-modified gelatin nanoparticles: self-assembly behavior, controlled biodegradability, and rapid cellular uptake for intracellular drug delivery. **Journal of Materials Chemistry**, v. 21, n. 33, p. 12381-12388, 2011.

[122]SANNINO, A.; DEMITRI, C.; MADAGHIELE, M. Biodegradable cellulose-based hydrogels: design and applications. **Materials**, v. 2, n. 2, p. 353-373, 2009.

[123]ZHANG, M.; CHENG, Z.; ZHAO, T.; LIU, M.; HU, M.; LI, J. Synthesis, characterization, and swelling behaviors of salt-sensitive maize bran-poly(acrylic acid) superabsorbent hydrogel. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 35, p. 8867-8874, 2014.

[124]LIU, C. W.; SUNG, Y.; CHEN, B. C.; LAI, H. Y. Effects of nitrogen fertilizers on the growth and nitrate content of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 11, n. 4, p. 4427-4440, 2014.

[125]PAZDERŮ, K.; KOUDELA, M. Influence of hydrogel on germination of lettuce and onion seed at different moisture levels. **Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis**, v. 61, n. 6, p. 1817-1822, 2013.