ARTHUR TORRES NEGREIROS

Desenvolvimento de uma matriz polimérica a base de alginato extraído de algas pardas (*Sargassum cymosum* C. Agardh) e enriquecida com ácido ascórbico para impressão 3D.

Assis
2025

ARTHUR TORRES NEGREIROS

Desenvolvimento de uma matriz polimérica a base de alginato extraído de algas pardas (*Sargassum cymosum* C. Agardh) e enriquecida com ácido ascórbico para impressão 3D

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências e Letras, Assis, para a obtenção do título de Mestre em Biociências (Área de Conhecimento: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica).

Orientadora: Dra. Ivanise Guilherme Branco

Assis
2025

N385d

Negreiros, Arthur Torres
Desenvolvimento de uma matriz polimérica a base de alginato extraído de algas pardas (Sargassum cymosum C. Agardh) e enriquecido com ácido ascórbico para impressão 3D / Arthur Torres Negreiros. -- Assis, 2025
46 f. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências e Letras, Assis
Orientadora: Ivanise Guilherme Branco

1. Impressão 3D. 2. Hidrogel. 3. Alginato. 4. Reologia. 5. Alimentos Textura. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Assis

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE ARTHUR TORRES NEGREIROS, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIAS, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS E LETRAS - CÂMPUS DE ASSIS.

Aos 24 dias do mês de março do ano de 2025, às 14h, no(a) Sala de defesas da Pós-graduação e sala virtual: meet.google.com/ofk-pqjo-pfs, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de ARTHUR TORRES NEGREIROS, intitulada **Desenvolvimento de uma matriz polimérica a base de alginato extraído de algas pardas (Sargassum cymosum C. Agardh) e enriquecida com ácido ascórbico para impressão 3D.** . A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. IVANISE GUILHERME BRANCO (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) UNESP/FCL - Assis, Profa. Dra. IZABEL CRISTINA FREITAS MORAES (Participação Virtual) do(a) USP/FZEA - Pirassununga, Profa. Dra. CAMILA YAMASHITA (Participação Virtual) do(a) 3D Biotechnology Solutions - Campinas/SP. Após a exposição pelo mestrando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, o discente recebeu o conceito final: APROVADO . Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Profa. Dra. IVANISE GUILHERME BRANCO

Digitalizado com CamScanner

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente à minha orientadora pelo tempo, conhecimento e acolhimento.

Agradeço a minha família que foi meu sustentáculo durante meu percurso acadêmico, em especial a minha irmã por ter me aguentado perguntando sobre química constantemente.

Agradeço enormemente a minha namorada por ter acreditado em mim e me apoiado incondicionalmente.

Agradeço demais aos meus amigos de laboratório Camila, Natalie, Mariana e João pela amizade, companheirismo, parceria e pelas risadas ao longo desses anos, vocês deixaram essa árdua caminhada mais leve.

Agradeço a todos os docentes do curso de Engenharia Biotecnológica e aos servidores técnico-administrativos da Unesp Assis sem aos quais nada disso seria possível.

Agradeço à Fundação de Amparo à pesquisa do Estado São Paulo (FAPESP), processo n° 2022/05161-1

Agradeço ao Laboratório Multiusuário Labmult-ld - UTFPR/Londrina por ter realizado a análise de textura.

RESUMO

Matrizes poliméricas podem ser elaboradas utilizando polissacarídeos, como o alginato, que é proveniente de algas pardas. Devido sua capacidade de formar géis na presença de íons catiônicos, como o cloreto de cálcio, o alginato possui diversas aplicações, como componente para formulação de hidrogéis para impressão 3D. No entanto, matrizes poliméricas formuladas apenas com alginato não apresentam propriedades viscoelásticas necessárias para a impressão 3D. Portanto, o objetivo da pesquisa foi o desenvolvimento de uma matriz polimérica empregando alginato nativo (extraído de alga *Sargassum cymosum* C. Agardh) ou alginato comercial, ágar, para encapsulação de compostos bioativos. Devido às importantes propriedades do ácido ascórbico como, por exemplo, forte agente antioxidante, este biocomposto foi incorporado no hidrogel visando obter uma na matriz polimérica funcional. A comparação entre as formulações foi avaliada através de análises reológicas, estruturais (Transformada de Fourier no Infravermelho-FTIR), printabilidade das matrizes poliméricas, análise mecânica (textura das cubos pós impressão e após reidratação) e cinética de liberação do ácido ascórbico das estruturas cúbicas 3D. Inicialmente, foi avaliado o efeito da concentração de alginato comercial (SAC) (2, 3 e 4%), ágar (AG) (2, 2,5 e 3%) e cloreto de cálcio (25 e 50 mM) sobre as propriedades reológicas. Todas as formulações apresentaram comportamento pseudoplástico, recuperação rápida, com aumento da resistência e rigidez do gel com aumento de AG. A partir desses resultados foi selecionada a formulação com 2% SAC, 3% AG e 50 mM de $CaCl_2$ para ser enriquecida com 1% (p/v) de ácido ascórbico (AA) e o alginato comercial (SAC) substituído pelo nativo (SAN). A análise reológica da formulação com SAN mostrou recuperação mais rápida e gel mais rígido do que o SAC, porém levemente menos resistente. A avaliação da printabilidade foi conduzida com a formulação SAC enriquecida, a fim de determinar as melhores condições para impressão de estruturas cúbicas

(15 mm) empregando diferentes velocidades de impressão (2, 5 e 10 mm/s) e diâmetros de agulha (1,2 e 1,6 mm). Nas maiores velocidades de impressão, as estruturas impressas apresentaram-se amorfas (com a agulha de 1,6 mm de diâmetro) ou com falhas (com a agulha de 1,2 mm). Na menor velocidade (2 mm/s), ambos diâmetros de agulhas imprimiram satisfatoriamente as estruturas cúbicas, com menor tempo de impressão com a agulha de maior diâmetro (1,6 mm). Nestas melhores condições de impressão (agulha de 1,6 mm e velocidade de 2 mm/s), as formulações elaboradas com os diferentes alginatos (SAC e SAN), 3% AG, 50 mM de $CaCl_2$ e enriquecidas com AA, foram empregadas para impressão das estruturas cúbicas, as quais apresentaram ótima precisão (97,7% para SAC e 97,4% para SAN) e estabilidade (70,2% para SAC e 73,4% para SAN) mesmo após liofilização. O FTIR mostrou que a adição de AA aumentou a intensidade dos picos para a formulação SAC, com a formação de novos picos para a SAN, indicando interação com o AA. A formulação com SAN liberou mais AA da estrutura cúbica em menor tempo, porém a SAC atingiu maior liberação em 6h e, após esse período, ambas diminuíram a quantidade do biocomposto, provavelmente devido a degradação do ácido ascórbico. Os parâmetros de textura (dureza, coesividade, gomosidade e mastigabilidade) dos cubos SAN, após impressos ou reidratados (SAN RI), foram significativamente superiores em comparação com o SAC e SAC RI, respectivamente. A gomosidade e mastigabilidade dos cubos SAN reidratados (SAN RI) não diferiram dos cubos SAC, enquanto que a elasticidade não diferiu entre os cubos estudados. Adesividade dos cubos formulados com SAC diferiram significativamente dos outros (SAN, SAC RI e SAN RI). Por fim, o processo de liofilização e reidratação resultou na diminuição da dureza para ambos os tipos de alginato e aumento da coesividade.

Palavras-Chave : Impressão 3D; Hidrogel; Alginato; Reologia; Textura.

ABSTRACT

Polymeric matrices can be developed using polysaccharides such as alginate, which is derived from brown algae. Due to its ability to form gels in the presence of cationic ions such as calcium chloride, alginate has various applications, including as a component in the formulation of hydrogels for 3D printing. However, polymeric matrices formulated solely with alginate do not exhibit the viscoelastic properties required for 3D printing. Therefore, the objective of this research was to develop a polymeric matrix using native alginate (extracted from the alga *Sargassum cymosum* C. Agardh) or commercial alginate, along with agar, for the encapsulation of bioactive compounds. Given the important properties of ascorbic acid, such as its strong antioxidant activity, this biocompound was incorporated into the hydrogel to obtain a functional polymeric matrix. The comparison between the formulations was evaluated through rheological analyses, structural analyses (Fourier Transform Infrared Spectroscopy – FTIR), printability of the polymeric matrices, mechanical analysis (texture of the printed cubes and after rehydration), and release kinetics of ascorbic acid from the 3D cubic structures. Initially, the effect of the concentration of commercial alginate (SAC) (2, 3, and 4%), agar (AG) (2, 2.5, and 3%), and calcium chloride (25 and 50 mM) on the rheological properties was evaluated. All formulations showed pseudoplastic behavior, rapid recovery, and increased gel strength and stiffness with increasing AG concentration. Based on these results, the formulation with 2% SAC, 3% AG, and 50 mM $CaCl_2$ was selected to be enriched with 1% (w/v) ascorbic acid (AA), and the commercial alginate (SAC) was replaced by the native alginate (SAN). The rheological analysis of the SAN formulation showed faster recovery and a stiffer gel than SAC, although slightly less resistant. The printability evaluation was conducted using the enriched SAC formulation to determine the best conditions for printing cubic structures (15 mm) using different printing speeds (2, 5, and 10 mm/s) and needle diameters (1.2 and 1.6 mm). At higher

printing speeds, the printed structures appeared amorphous (with the 1.6 mm needle) or defective (with the 1.2 mm needle). At the lowest speed (2 mm/s), both needle diameters successfully printed cubic structures, with shorter printing time achieved using the larger diameter needle (1.6 mm). Under these optimal printing conditions (1.6 mm needle and 2 mm/s speed), formulations prepared with different alginates (SAC and SAN), 3% AG, 50 mM $CaCl_2$, and enriched with AA were used to print the cubic structures, which showed excellent precision (97.7% for SAC and 97.4% for SAN) and stability (70.2% for SAC and 73.4% for SAN), even after lyophilization. FTIR analysis showed that the addition of AA increased the intensity of the peaks for the SAC formulation and resulted in new peaks for SAN, indicating interaction with AA. The SAN formulation released more AA from the cubic structure in less time, although SAC achieved greater total release within 6 hours. After this period, both formulations showed a decrease in the amount of biocompound, likely due to ascorbic acid degradation. The texture parameters (hardness, cohesiveness, gumminess, and chewiness) of the SAN cubes, both printed and rehydrated (SAN RI), were significantly higher compared to SAC and SAC RI, respectively. The gumminess and chewiness of the rehydrated SAN cubes (SAN RI) did not differ from those of SAC cubes, while elasticity did not differ among the studied cubes. The adhesiveness of SAC-formulated cubes differed significantly from the others (SAN, SAC RI, and SAN RI). Finally, the lyophilization and rehydration process resulted in decreased hardness for both types of alginate and increased cohesiveness.

Keywords: 3D printing; Hidrogel; Alginate; Rheology; Texture

SUMÁRIO

1. Introdução 8

2. Objetivos 12

2.1 Objetivo Geral 12

2.2 Objetivos específicos 12

3. Materiais e Métodos 13

3.1 Materiais e reagentes 13

3.2 Extração do alginato de sódio *nativo* 13

3.3. Elaboração da matriz para impressão 3D 14

3.4. Comportamento reológico 15

3.5. Impressão das estruturas 3D 16

3.6. Equacionamento para determinação dos Parâmetros de Fluxo em Impressora 3D considerando Viscosímetro de Tubo 16

3.7 Precisão e estabilidade das estruturas 3D 18

3.8 Liberação de ácido ascórbico 18

3.9 FTIR 19

3.10 Textura 19

4. Resultados e Discussões 20

4.1 Comportamento reológico dos hidrogeis contendo SAC e ágar 20

4.1.2 Estudo do comportamento reológico das matrizes poliméricas formuladas com alginato (nativo) extraído de *Sargassum* e comercial, enriquecidas de ácido ascórbico 24

4.2 Determinação das parâmetros de impressão 26

4.3 Precisão e estabilidade 28

4.4 FTIR 31

4.5 Liberação do ácido ascórbico (AA) 33

4.6 Perfil de Textura 34

5. Conclusão 38

6. Referências 39

1. Introdução

Hidrogéis são redes poliméricas hidrofílicas tridimensionais com grandes quantidades de água, cerca de 90% (Wang et al., 2021; Baniasadi et al., 2021). Geralmente apresentam boa biocompatibilidade e são biodegradáveis, além de se assemelharem à composição da matriz extracelular quando hidratados (Wang et al., 2021; Baniasadi et al., 2021). Os hidrogéis podem ser fabricados empregando diversos polissacarídeos visando aplicação em diferentes áreas.

Uma das principais fontes de polissacarídeos naturais são as algas marinhas pardas, como as do gênero *Sargassum*, que apresentam em sua parede celular importantes polissacarídeos como o alginato (Fernando et al., 2019), que é um polissacarídeo aniônico composto por ácido gulurônico (bloco G) e ácido manurônico (bloco M) unidos por ligação glicosídica 1,4 (Sánchez-Cid et al., 2022). A razão entre os blocos M e G do alginato vão influenciar no comportamento do gel obtido com altos conteúdos de G formando géis firmes e rígidos enquanto altos níveis de M resultam em géis mais elásticos (Hu et al., 2021). Além disso, o peso molecular tem influência significativa no comportamento do gel, onde alginatos com maiores pesos moleculares formam géis mais rapidamente, com maior viscosidade e rigidez quando comparados com alginatos de baixo peso molecular (Hu et al., 2021). Estudos têm mostrado que as propriedades funcionais do alginato dependem da espécie algal, localização e época da coleta (Bertagnolli et al., 2014), além do seu processo de extração (Chica et al., 2024). A extração do alginato envolve etapa ácida seguida por uma básica (Nogueira et al. 2022). Geralmente é realizada por extração convencional usando ácidos inorgânicos como HCl. Porém, novos métodos de extração do polissacarídeo, como o uso de ultrassom combinado com a aplicação de solventes verdes, como o ácido cítrico, têm atraído atenção, pois além de aumentar o rendimento do polissacarídeo e diminuir o

tempo gasto para sua extração (Chica et al., 2024), podem obter alginato com diferentes propriedades físicas (Bojorges et al., 2023).

A gelificação do alginato pode ser induzida por reticulação iônica, através de diferentes cátions divalentes carregados positivamente. O mecanismo consiste na troca iônica entre os grupos carboxílicos do alginato (principalmente do bloco G) e um cátion, como por exemplo o Ca^{2+}, que tem sido o mais utilizado (Hu et al., 2021). Hidrogéis obtidos à partir da reticulação de alginato com cloreto de cálcio geralmente apresentam biocompatibilidade e boa retenção de água (Sánchez-Cid et al., 2022), tendo sido utilizados em sistemas de *drug delivery* (Kou et al., 2024; Song et al., 2024) por apresentarem estrutura porosa, não tóxica e possibilidade de controle de liberação (Junaid et al., 2024).

Dentre os compostos bioativos de grande importância está o ácido ascórbico (também conhecido como vitamina C) que é uma das mais importantes vitaminas do corpo humano, agindo como um forte antioxidante, além de participar na manutenção de outras vitaminas (Ebnalwaled et al., 2022). Porém, não pode ser sintetizado ou armazenado pelo corpo humano, sendo necessária uma ingestão regular (Karakurt et al., 2020). Apesar destas potencialidades, o ácido ascórbico é altamente sensível à luz e altas temperaturas (Barra et al., 2019) e a encapsulação com o alginato pode ser uma alternativa para aumentar sua estabilidade e disponibilidade (Barra et al., 2019), além de promover uma liberação controlada da cápsula (Comunian et al., 2013). Isso é devido aa formação de uma rede física tridimensional pelo polissacarídeo quando em contato com um agente ligante, que frequentemente são os íons de Ca^{2+}, formando uma estrutura de “caixa de ovo” que pode encapsular o biocomposto de interesse (Kou et al., 2024). Estudos têm sido conduzidos encapsulando o ácido ascórbico em um hidrogel formulado com alginato de sódio e cloreto de cálcio como agente reticulante (Barra et al., 2019, Song et al., 2024). Na literatura científica foram verificados estudos empregando hidrogéis formulados com alginato para

aplicação em curativos em feridas (Khan et al., 2025) e aplicações ambientais (Singh et al., 2025). Essa versatilidade do polissacarídeo também possibilita seu uso como componente da matriz polimérica para impressão de hidrogéis 3D (Mallakpour et al, 2021).

O tipo mais comum de impressão 3D é a técnica de impressão por extrusão, onde materiais são forçados a passar por um bocal, camada por camada, para formar o objeto 3D. Essa técnica permite a impressão de diversos materiais com variadas propriedades reológicas, uma vez que é relativamente fácil alterar os parâmetros de impressão (como diâmetro de agulha e velocidade de impressão) assim como a composição do material conforme a necessidade de diferentes indústrias (Tomašević et al., 2021). Entretanto, uma limitação é a conservação dos hidrogéis após impressão 3D. Uma alternativa para aumentar a vida útil, mantendo ao máximo o valor nutricional, consiste na aplicação de tecnologias não térmicas (Tomasévic et al., 2021). Na literatura, alguns trabalhos reportam a aplicação de secagem das estruturas 3D por liofilização (Baniasadi et al., 2021; Kuo et al., 2021), permitindo estabilidade do material durante o armazenamento. No entanto, o processo de secagem pode acarretar na redução de dimensões em relação ao padrão original.

Embora o alginato seja largamente utilizado para impressão 3D, emprega-se o mesmo combinado com outro material já que hidrogéis formulados apenas com esse polissacarídeo apresentam comportamento não-newtoniano, porém sem as características viscoelásticas necessárias para impressão 3D, nem mesmo quando alta concentração do polissacarídeo é adicionada à solução, o que contribui apenas com o aumento da viscosidade mas não do módulo elástico (Olmos-Juste et al., 2021; Mallakpour et al., 2021). Assim, hidrogéis formulados somente com alginato podem apresentar fraca resistência mecânica (Deng et al., 2021), não atendendo aos requisitos para impressão 3D, sendo assim necessário aumentar a viscoelasticidade dos hidrogéis de alginato e, consequentemente, o desempenho de impressão do sistema.

Uma alternativa é formular hidrogéis híbridos, combinando alginato, por exemplo, com o ágar, que é um polissacarídeo extraído de algas marinhas vermelhas, sendo constituído de agarose e agaropectina com a agarose sendo a fração gelificante (Wang et al., 2021). Apresenta diversos usos na indústria alimentícia e microbiológica devido sua excelente capacidade de gelificação, formando géis com alta estabilidade térmica e rigidez (Martínez-Sanz et al., 2020). A adição de ágar na formulação contribui para aumentar a viscosidade do hidrogel, melhorando as propriedades reológicas e as tornando adequadas para impressão 3D (Wang et al., 2021). Além disso, esses hidrogéis híbridos mostram-se como uma alternativa interessante, uma vez que seguem as tendências atuais para aplicação em produtos veganos.

A caracterização reológica é de extrema importância para avaliar o desempenho das formulações durante a impressão (extrusão) e na manutenção de sua forma final (Naghieh & Chen, 2021). As tintas devem apresentar um comportamento pseudoplástico e viscoelástico, assemelhando a sólidos, quando nenhuma força de cisalhamento for aplicada, porém com comportamento de fluidos quando submetidos à aplicação de uma força de cisalhamento, como ocorre quando o material é extrudado pelo bico durante a impressão 3D (Olmos-Juste et al., 2021). Após a finalização do processo, ou seja, quando cessa a aplicação da força de cisalhamento, o material deve ser capaz de recuperar sua estrutura inicial (Olmos-Juste et al., 2021). O comportamento reológico pseudoplástico pode ser determinado a partir das curvas de fluxo as quais relacionam a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento (Varaprasad et al., 2022). Já o comportamento viscoelástico pode ser determinado através de testes oscilatórios de varreduras de deformação, a fim de quantificar os módulos elástico e viscoso. O módulo de armazenamento de cisalhamento ou módulo elástico (G′) mede a energia armazenada e expressa o caráter similar a um sólido das tintas

e o módulo de perda de cisalhamento ou módulo viscoso (G″) mede a quantidade de energia dissipada pela tinta e expressa o fluxo viscoso (Varaprasad et al., 2022).

Considerando a ampla aplicabilidade do alginato e a influência da reologia no processo de impressão, este estudo tem como objetivo principal o desenvolvimento de uma formulação à base de alginato e agar, enriquecido com ácido ascórbico, a fim de se obter uma matriz polimérica funcional. O desempenho das formulações foi avaliado por meio de análises reológicas, com o intuito de selecionar a mais adequada para impressão 3D. Também foi substituído o alginato comercial pelo nativo, extraído da alga *Sargassum,* e realizadas análises comparativas através de análises reológicas, estruturais, printabilidade das matrizes poliméricas, análise mecânica (textura das cubos pós impressão e após reidratação) e cinética de liberação do ácido ascórbico das estruturas cúbicas 3D.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver uma formulação contendo alginato (comercial ou nativo), ágar e enriquecido com ácido ascórbico, visando a aplicação desses sistemas em impressão 3D.

2.2 Objetivos Específicos

- Elaborar matrizes híbridas de alginato comercial e ágar, adicionado de $CaCl_2$ como agente reticulante,
- Selecionar a formulação com o comportamento reológico mais adequado, para posterior enriquecimento com ácido ascórbico e substituição do alginato comercial pelo nativo.

- Caracterizar as formulações, elaboradas com os alginatos (comercial ou nativo) e enriquecidas com ácido ascórbico, através de análises de comportamento reológico e transformada de Fourier no infravermelho (FTIR).
- Avaliar a printabilidade das formulações através dos testes de precisão e estabilidade de estruturas cúbicas.
- Avaliar o perfil de textura e a cinética de liberação do ácido ascórbico das estruturas cúbicas elaboradas com os alginatos comercial ou nativo, assim como de suas respectivas estruturas reidratadas.

3. Materiais e Métodos

3.1 Materiais e reagentes

A alga *Sargassum cymosum* C. Agardh foi coletada em Praia Grande, Ubatuba, estado de São Paulo (23°28'00"S - 45°03'36"W), lavada em água corrente e sanitizada com água clorada (25 ppm) durante 30 min. As amostras foram secas em estufa de circulação de ar a 45° C por 12 h, moídas em moinho de facas e armazenadas em embalagens herméticas em local seco, escuro e em temperatura ambiente. Alginato de sódio (SA) de baixo peso molecular (A1112) e agar (A1296) foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Todos os reagentes utilizados foram de nível analítico.

3.2 Extração do alginato de sódio *nativo*

O alginato de sódio nativo (SAN) foi extraído conforme Yamashita (2024). Alga moída e seca (7 g) foi tratada 2 vezes com etanol 98% por 3 h sob agitação constante, seguido da secagem overnight a 40 °C em estufa com circulação de ar. Na etapa ácida foi utilizado solução de ácido cítrico 20% até pH 1,5, seguido da aplicação de ultrassom (OR-T-500, OMNI International™) com sonda (diâmetro 1,3 cm), na potência de 240 W e frequência 20

kHz por 11 min, e posterior filtração da solução ácida. A etapa básica foi conduzida conforme Nogueira et al. (2020), que consistiu na adição de solução de 2% de carbonato de sódio até pH 10, agitação por 90 min a 85 °C. A parte líquida foi recuperada após a filtração e o alginato precipitado usando etanol absoluto (2v), sendo posteriormente seco a 45°C por 12 h. O alginato extraído, denominado "nativo", apresenta coloração característica da alga parda, ou seja, sem aplicação de qualquer processo para clareamento.

3.3. Elaboração da matriz para impressão 3D

Foram desenvolvidas formulações contendo diferentes concentrações de alginato comercial (SAC), ágar e do agente reticulante $CaCl_2$ (Tabela 1). A elaboração da matriz polimérica foi conforme Wang et al. (2021), com algumas modificações. Diferentes concentrações de SAC e ágar foram adicionados em um tubo falcon com 10 mL de água destilada e deixados em repouso por 24 h até sua completa dissolução. Em seguida, o material foi homogeneizado em vortex por 30 s e aquecido em banho maria até atingir 95 °C. Após, 10 mL de solução de $CaCl_2$ foi adicionado e homogeneizado. Para a formulação selecionada para os testes posteriores, o SAC foi substituído pelo nativo (SAN), e adicionado 1% ácido ascórbico após o aquecimento. Além disso, o pH do SAN é corrigido para o mesmo pH do SAC.

Tabela 1 - Formulações contendo alginato de sódio comercial (SAC), ágar (AG) e cloreto de cálcio ($CaCl_2$).

Ensaio	Formulação	SAC (%)	AG (%)	$CaCl_2$ (mM)
1	SAC 4% AG 2% $CaCl_2$ 25 mM	4	2	25
2	SAC 3% AG 2% $CaCl_2$ 25 mM	3	2	25
3	SAC 2% AG 2% $CaCl_2$ 25 mM	2	2	25
4	SAC 2% AG 2% $CaCl_2$ 50 mM	2	2	50
5	SAC 2% AG 2.5% $CaCl_2$ 50 mM	2	2,5	50
6	SAC 2% AG 3% $CaCl_2$ 50 mM	2	3	50

3.4. Comportamento reológico

A caracterização reológica das matrizes poliméricas puras e enriquecidas com ácido ascórbico foi realizada usando o reômetro MCR 92 (Anton Paar, Áustria) em cisalhamento estacionário e oscilatório. No cisalhamento estacionário, foi utilizado a geometria de cilindros concêntricos e o teste conduzido na temperatura de 55 °C. Para as curvas de fluxo, a taxa de cisalhamento variou de 0 a 300 s^{-1} e os dados experimentais ajustados ao modelo da Lei da Potência (Eq. 1).

$$\tau = k\dot{\gamma}^{n-1} \quad (1)$$

Para avaliar a recuperação das formulações foi empregado o teste de tixotropia de três intervalos (3ITT) que consiste na aplicação de uma taxa de cisalhamento de 0,1 s^{-1} durante 10 s, seguido do aumento da taxa de cisalhamento para 100 s^{-1} por 6 s e, por fim, redução para 0,1 s^{-1}, a qual foi mantida nesta taxa de cisalhamento durante 120 s. Esse teste foi conduzido na temperatura de 55 °C.

Os testes oscilatórios (varredura de amplitude e frequência) foram realizados utilizando o sistema de geometria cone placa, na temperatura de 25 °C. Varredura de amplitude de deformação, na faixa de 0,1 a 100% e frequência de 10 Hz, foi empregado para determinação da região de viscoelasticidade linear (LVER), assim como o limite de linearidade e o ponto de fluxo. Na LVER, varreduras de frequência de 0,1 a 100 rad/s foram conduzidas a fim de avaliar a estabilidade dos módulos de armazenamento (G´) e de perda (G'').

3.5. Impressão das estruturas 3D

Estruturas no formato cúbico (15 mm x 15 mm x 15 mm e preenchimento retilinear de 60%) foram impressas, utilizando a formulação SAC ou SAN e enriquecidas com ácido ascórbico, através da impressora 3D modelo educacional starter (3D Biotechnology Solutions) empregando diferentes diâmetros de agulha (1,2 e 1,6 mm) e velocidades de impressão (2, 5 e 10 mm/s), na temperatura de 55 °C (Wang et al., 2021), a fim de determinar as melhores condições de impressão. Slic3r foi usado para fatiamento do desenho e gerar G code. Já o Pronterface, um software de código aberto que atua como uma interface gráfica de usuário para impressão 3D, foi utilizado para o controle da impressora. O software Imagej foi utilizado para as medições de precisão e estabilidade.

3.6 Equacionamento para determinação dos Parâmetros de Fluxo em Impressora 3D

Em uma impressora 3D de extrusão, a viscosidade da matriz polimérica deve ser suficientemente baixa para que ela possa fluir adequadamente pela agulha de impressão. Esse comportamento é alcançado pela aplicação de uma taxa de cisalhamento, que é gerada pelo movimento do êmbolo da seringa. O escoamento da matriz polimérica através da agulha

pode ser comparado ao escoamento em tubo capilar, o que torna necessário dimensionar os parâmetros envolvidos com base nos princípios desse sistema. Assim, foram calculados parâmetros cruciais para o processo, como i) fluxo volumétrico de impressão (Eq. 2), ii) queda de pressão necessária para a extrusão da amostra (Eq. 3) (Li; Liu; Li, 2016), a qual considera os parâmetros reológicos *K* (índice de consistência) e *n* (índice de comportamento) das matrizes poliméricas obtidos através do ajuste dos dados experimentais ao modelo da Lei da Potência (Eq. 1) (Zhang; Xu, 2015), iii) taxa de cisalhamento durante a extrusão (Eq. 4), iv) taxa de cisalhamento durante a deposição das camadas (Eq. 5), e v) viscosidades das matrizes poliméricas tanto no momento da extrusão (Eq. 6) quanto na deposição (Equação 7) (Huijun *et al*., 2016).

$$Q = volume\ impresso\ /\ tempo \tag{2}$$

$$Q = \left(\frac{\pi n}{3n+1}\right)\left(\frac{-\Delta p}{2kL}\right)^{\frac{1}{n}}\left(\frac{D}{2}\right)^{\frac{3n+1}{n}} \tag{3}$$

$$\dot{\gamma}_E = \frac{32Q}{\pi D^3} \tag{4}$$

$$\dot{\gamma}_D = \frac{v}{h} \tag{5}$$

$$\mu_E = k\dot{\gamma}_E{}^{n-1} \tag{6}$$

$$\mu_D = K\dot{\gamma}_D{}^{n-1} \tag{7}$$

Onde Q é a vazão volumétrica de impressão (m^3/s), L é o comprimento da agulha (mm), D é o diâmetro da agulha (mm), Δp é a queda de pressão (Pa) sofrida pelo amostra ao escoar pelo sistema, $\dot{\gamma}_E$ é a taxa de cisalhamento na extrusão (1/s), $\dot{\gamma}_D$ é a taxa de cisalhamento na deposição (1/s), *h* é a altura da camada (mm), *v* é a velocidade de impressão (mm/s), μ_E é a viscosidade na taxa de extrusão (Pa.s) e μ_D é a viscosidade na taxa de deposição (Pa.s).

3.7. Precisão e estabilidade das estruturas 3D

À partir das condições selecionadas anteriormente (diâmetro da agulha e velocidade de impressão), ambas as matrizes foram impressas e a precisão (Eq. 8) e a estabilidade (Eq. 9) de impressão foram avaliadas conforme Pan et al. (2022). A medição de cada amostra foi em triplicata.

A precisão de impressão foi calculada de acordo com Eq. 8

$$Precisão = 1 - [(|Ac - Am|)/Ac)] \quad (8)$$

Onde Ac é o valor da aresta do cubo previsto do desenho e Am o valor medido após a impressão.

A estabilidade de impressão foi calculada de acordo com a Eq. 9, onde A0 é o valor da aresta do cubo medida a 0 h e A24 é o valor medido a 24 h.

$$Estabilidade = 1 - [(|A24 - A0|)/A0] \quad (9)$$

3.8 Liberação de ácido ascórbico (AA)

A liberação do ácido ascórbico (AA) das estruturas cúbicas, formuladas com SAC ou SAN e posteriormente liofilizadas, foi determinada conforme metodologia proposta por Zhang et al. (2022), com algumas modificações. As estruturas 3D foram imersas em 100 mL de água deionizada, mantida a 37 °C em banho termostático e, em diferentes intervalos de tempos, uma alíquota da solução (1 mL) foi retirada, sendo reposto o mesmo volume com

água deionizada à amostra para restabelecer o volume original. Para cada tempo (15 min, 30 min, 45 min, 1 h, 1,5 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h e 30 h), as análises foram realizadas em triplicata. A liberação de AA das estruturas foi medida por espectrofotômetro (SHIMADZU UV-1900i, Japão) em comprimento de onda de 225 nm e a porcentagem liberada calculada pela Eq. 10.

$$\text{Liberação } \% = (C/C0) \times 100 \quad (10)$$

Onde C0 é o conteúdo inicial de ácido ascórbico na estrutura 3D e C é o conteúdo de ácido ascórbico liberado na solução, para cada tempo. Para quantificação do ácido ascórbico foi construída uma curva de calibração com concentração conhecida (5 - 25 µg/mL) de ácido ascórbico. A equação de reta é dada por: absorbância = 0,0356*concentração AA (µg/mL) - 0,0661, com coeficiente de correlação de 0,99.

3.9 Transformada de Fourier no infravermelho (FTIR)

A interação entre os componentes das matrizes poliméricas formuladas com alginato (nativo ou comercial), ágar e ácido ascórbico foi analisada por espectrometria no infravermelho por transformada de Fourier na faixa de 4000-400 cm^{-1}.

3.10 Textura

O perfil de textura (dureza, adesividade, elasticidade, coesividade, gomosidade e mastigabilidade) foi realizado nos cubos impressos com as formulações contendo SAC e SAN, e também nos respectivos cubos após impressão, liofilização e reidratação (SAC RI e SAN RI) a fim de comparar a influência do tipo de alginato e da reidratação. Para a análise, foi utilizado um texturômetro (TA.XTplusC – Stable Micro System, UK) com sonda cilíndrica de 20 mm em temperatura ambiente. As velocidades de pré-teste, teste e pós-teste foram de 1mm/s com 2 ciclos de compressão.

4. Resultados e discussão

4.1 Comportamento reológico dos hidrogéis contendo SAC e ágar

O processo de impressão 3D pode ser dividido em 3 etapas que são: extrusão, recuperação e auto suporte (Liu et al., 2019). A extrusão é a etapa de passagem da tinta pela agulha, enquanto a recuperação ocorre imediatamente após a impressão, na qual a tinta recupera sua estrutura, sendo necessário que esta etapa seja rápida. Já o auto suporte está relacionado com a capacidade da tinta de manter sua estrutura após impressão (Zhong et al., 2024). O comportamento reológico das tintas tem grande influência em todas essas etapas e, como consequência, na qualidade estrutural do impresso. Portanto, foram realizados ensaios estacionários (curvas de fluxo), oscilatórios (varreduras de amplitude de deformação e frequência) e tixotropia (3ITT) a fim de se avaliar o desempenho das formulações durante e após impressão 3D.

Inicialmente, foi realizado um estudo para avaliar o efeito da concentração de alginato de sódio, depois do íon catiônico e, por fim, de ágar nas matrizes poliméricas, de modo a encontrar as formulações com as melhores características reológicas para posterior estudo oscilatório.

A Figura 1 apresenta as curvas de fluxo das diferentes matrizes poliméricas. Pode-se observar que todas as 6 formulações foram ajustadas satisfatoriamente com o modelo da Lei da Potência (Tabela 2), apresentando comportamento pseudoplástico, que é necessário para a extrusão das tintas (Kadival et al., 2023).

O aumento da concentração de SAC nas formulações acarretou no decréscimo da viscosidade, independente da concentração de $CaCl_2$. Entretanto, para uma dada concentração de alginato, o aumento da concentração de $CaCl_2$ (de 25 mM para 50 mM) acarretou no aumento da viscosidade aparente da formulação, que pode ser devido a

necessidade de maiores quantidades de íon Ca^{2+} para que o alginato de baixo peso molecular, o qual foi empregado nas formulações, possa formar redes contínuas (Zhong et al., 2024). Além disso, o excesso de Ca^{2+} presente no meio também pode reticular o ágar resultando no aumento da viscosidade aparente (Alvarez-Lorenzo et al., 2013). Em relação ao aumento de ágar na formulação, foi verificado aumento na viscosidade, que pode ser devido à maior interação entre as cadeias, acarretando na formação de um gel rígido, comportamento este também verificado por Ghebremedhin, Seiffert e Vilgis (2021).

Conforme Tabela 2, as formulações que apresentaram os maiores valores de K e menores n (formulações 4, 5 e 6) foram selecionadas para testes oscilatórios, uma vez que tintas com elevadas viscosidades aparentes contribuem para manutenção da forma e fidelidade estrutural do impresso (Zhong et al., 2024).

Tabela 2 - Parâmetros de ajuste ao modelo da Lei da Potência das diferentes formulações contendo alginato comercial (SAC), agar (AG) e cloreto de cálcio ($CaCl_2$): K é o índice de consistência, n é o índice de comportamento do fluido e R^2 é o coeficiente de correlação.

Ensaio	Formulação	K (Pa*s)	n (-)	R^2
1	SAC 4% AG 2% $CaCl_2$ 25 mM	0.45	0.75	0.999
2	SAC 3% AG 2% $CaCl_2$ 25 mM	1.24	0.63	0.997
3	SAC 2% AG 2% $CaCl_2$ 25 mM	3.10	0.51	0.991
4	SAC 2% AG 2% $CaCl_2$ 50 mM	8.47	0.43	0.975
5	SAC 2% AG 2.5% $CaCl_2$ 50 mM	8.67	0.46	0.982
6	SAC 2% AG 3 % $CaCl_2$ 50 mM	11.11	0.48	0.991

No teste de tixotropia (3ITT), onde é avaliado o desempenho das formulações durante a impressão (Olmos-Juste et al., 2021), as amostras são submetidas a 3 intervalos com taxas de cisalhamento simulando o processo de impressão. O primeiro intervalo é conduzido em baixas taxas de cisalhamento para simular o repouso do material na seringa, o segundo em alta taxa para simular a extrusão e, no terceiro intervalo, novamente em baixa taxa de cisalhamento para simular a recuperação do material. Todas as formulações estudadas (4, 5 e 6) demonstraram uma rápida recuperação após cisalhamento (Figura 1B), comportamento essencial para a qualidade do produto impresso (Maldonado-Rosas et al., 2022).

Testes oscilatórios de varredura de amplitudes das formulações (Figura 1C) foram realizadas para determinar a região de viscoelasticidade linear (LVER), que é a região onde o módulo de armazenamento (G') se sobrepõe sobre o módulo de perda (G''), de maneira constante, simbolizando um predomínio do comportamento sólido. Após ocorre diminuição do G' e aumento do G'', sinalizando deformação estrutural até o ponto em que G' = G'', denominado ponto de fluxo (Pf), que também pode ser representado como tensão inicial de escoamento (yield stress), definida como a mínima tensão a partir da qual há escoamento do material (G'' > G') (Kadival et al., 2023). O Pf (ou tensão inicial) e G' estão intimamente relacionado ao auto-suporte do material, representando a tensão limite que a estrutura suportaria nas camadas até colapsar, e G' representando a capacidade de resistir a compressão (Liu et al., 2019). A formulação com a menor concentração de ágar (2%) apresentou Pf de 1,1% de deformação (correspondente a uma tensão de 27,3 Pa), enquanto as formulações com 2,5% e 3% apresentaram Pf de 2,24% (132 Pa) e 2,33% (133,7 Pa), respectivamente. Esses resultados mostram que o aumento da concentração de ágar acarretou no aumento da tensão inicial e de G', ou seja, proporcionou significativo aumento da rigidez do material, provavelmente pela maior interação entre as cadeias (Ghebremedhin; Seiffert; Vilgis, 2021).

A partir desse teste foi determinada a LVRE e estabelecida uma deformação fixada em 0,05% para ser aplicado na varredura de frequência.

A Figura 1D mostra a varredura de frequência para todas as formulações estudadas. Pode-se notar que o módulo G' tem predomínio sobre G'', caracterizando o comportamento de gel estruturado, embora haja leve dependência da frequência (Liu et al., 2019). O aumento do ágar também acarretou no aumento do G', indicando que a formulação com a maior concentração apresentou um gel mais rígido. Por apresentar comportamento pseudoplástico, com uma recuperação rápida, além de formar um gel mais rígido e resistente a deformação, a formulação contendo 3% de ágar (formulação 6, Tabela 2) foi selecionada para ser enriquecida com ácido ascórbico.

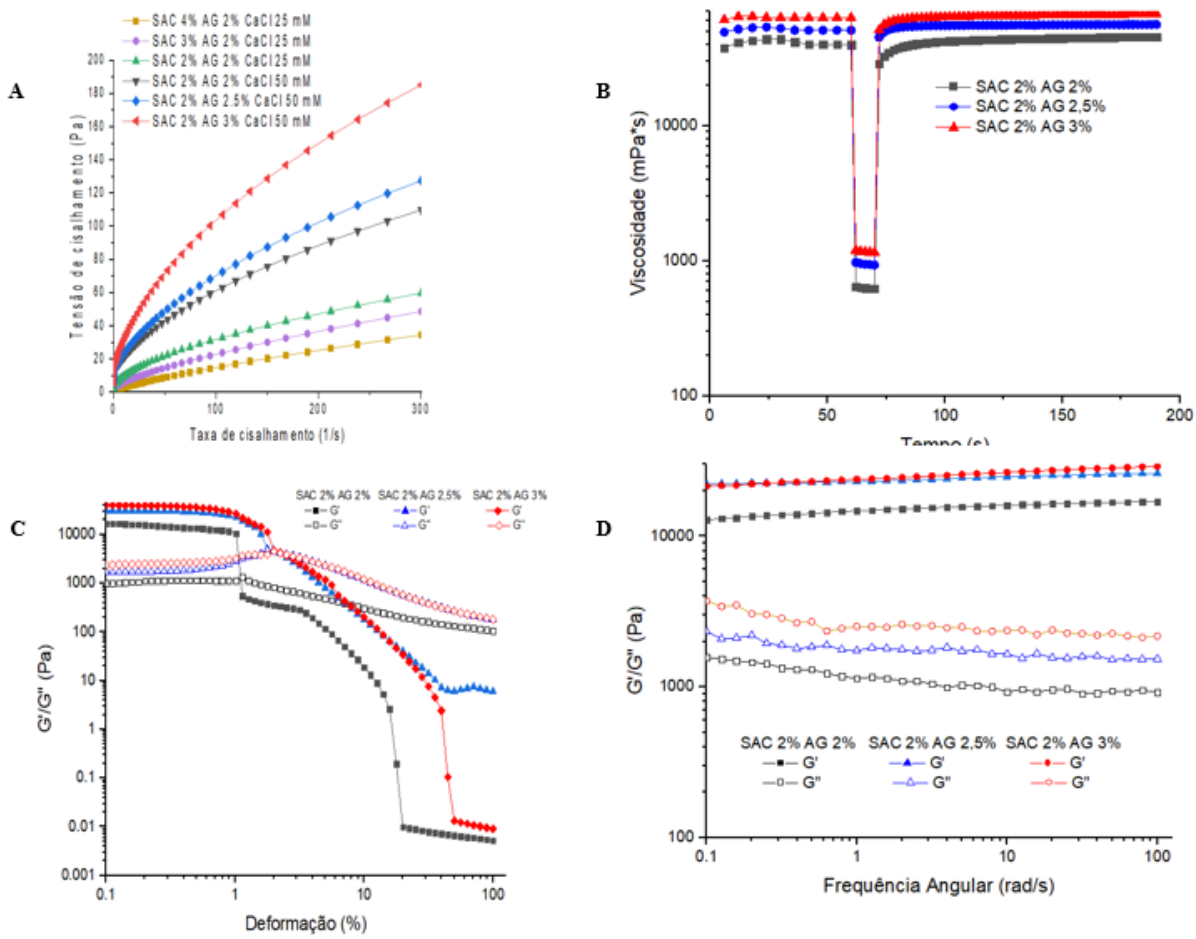


Figura 1. A- Curvas de fluxo das formulações estudadas, B- Recuperação (3ITT) das formulações estudadas, C- Varredura de amplitude de deformação das formulações, D- Varredura de Frequência das formulações. SAC: alginato comercial, AG: ágar.

4.1.2 Estudo do comportamento reológico das matrizes poliméricas formuladas com alginato comercial ou nativo, extraído de *Sargassum,* e enriquecidas de ácido ascórbico

Conforme resultado anterior, foi selecionada a formulação contendo 3% de ágar, 2 % de SAC e 50 mM de $CaCl_2$ para ser enriquecida com 1% ácido ascórbico (AA), e o alginato comercial (SAC) substituído pelo nativo (SAN) a fim de comparar o comportamento reológico dessas matrizes poliméricas, bem como seus desempenhos na impressão de estruturas 3D.

A Figura 2A apresenta as curvas de fluxo obtidas para as formulações enriquecidas, onde pode ser verificado comportamento pseudoplástico tanto para a formulação SAC (índice de comportamento (n) = 0,46 e índice de consistência (K) = 11,94 Pa*s) como para a formulada com SAN (n = 0,43 e K = 7,97 Pa*s). A recuperação das formulações, elaboradas com as duas fontes de alginato (SAN e SAC) e enriquecidas com AA, foi avaliada após aplicação de baixas, altas e, novamente, baixas taxas de cisalhamento. Ambas formulações apresentam excelente recuperação (Figura 2B), com o SAN demonstrando uma recuperação mais rápida. Além disso, a formulação com SAN apresentou menor viscosidade aparente em comparação ao produto comercial, comportamento este importante já que pode facilitar a extrusão do material durante a impressão. A varredura de amplitude (Figura 2C) revelou que a formulação elaborada com SAN apresentou módulo elástico (G') ligeiramente superior, embora sua resistência à deformação seja um pouco inferior à do produto comercial. A varredura de frequência (Figura 2D) mostrou que ambas as formulações exibem comportamento de gel estruturado (G' > G''), com a formulação adicionada de SAN apresentando maior valor de G', o que pode ser explicado pela razão M/G do alginato, SAC apresenta razão M/G de 1,10 e o SAN de 0,75 Yamashita (2024). Alginatos com maior conteúdo de G formam géis firmes e rígidos enquanto altos níveis de M resultam em géis mais elásticos (Hu et al., 2021) Além disso, o fator de perda (tan $\delta = G'' / G'$) para formulação SAC foi de 0,08 e SAN de 0,12 o que indica a predominância do comportamento sólido (Kadival et al., 2023), necessário para manutenção da forma do objeto. Estes resultados demonstram que a matriz com SAN não só possibilitará facilitar o processo de impressão, devido à sua menor viscosidade aparente, como também a formar um gel mais rígido, o que pode beneficiar a estabilidade e a qualidade final dos produtos impressos.

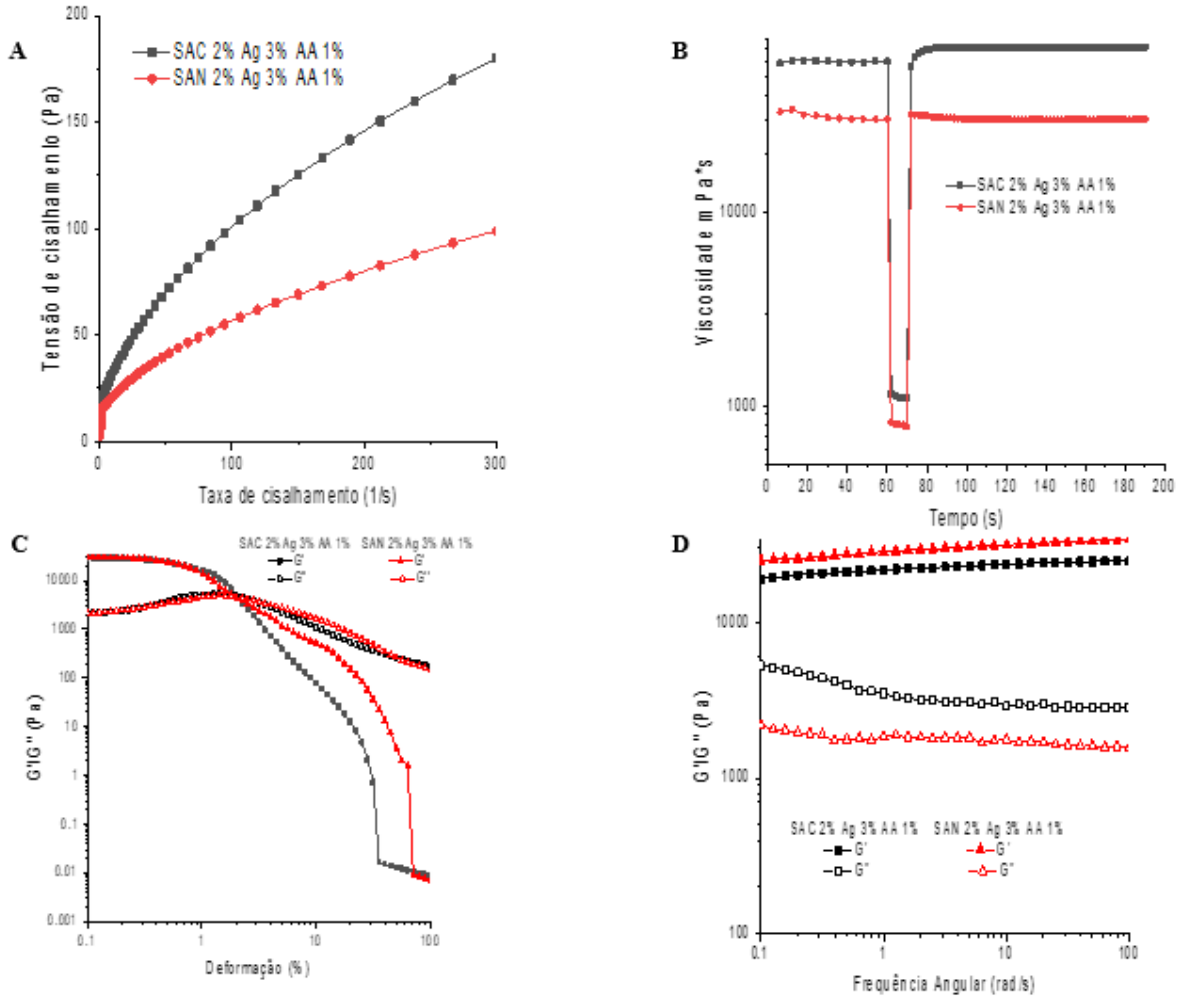


Figura 2. A- Curva de fluxo das formulações matrizes enriquecidas com ácido ascórbico, B- Recuperação das matrizes enriquecidas com ácido ascórbico, C- Varredura de deformação das matrizes enriquecidas, D- Varredura de frequência das matrizes enriquecidas. SAN: alginato nativo, SAC: alginato comercial e AA: ácido ascórbico.

4.2 Determinação dos parâmetros de impressão

Estruturas cúbicas da matriz contendo 2% de SAC, 3% de AG, 50 mM de $CaCl_2$ e 1% de AA foram impressas em diferentes parâmetros de impressão (velocidades de 2, 5 e 10 mm/s e agulhas com diâmetros de 1,2 mm e 1,6 mm) para determinar as melhores condições de impressão (Figura 3). Posteriormente, nas condições estabelecidas, foi avaliada a precisão e estabilidade de ambas as matrizes.

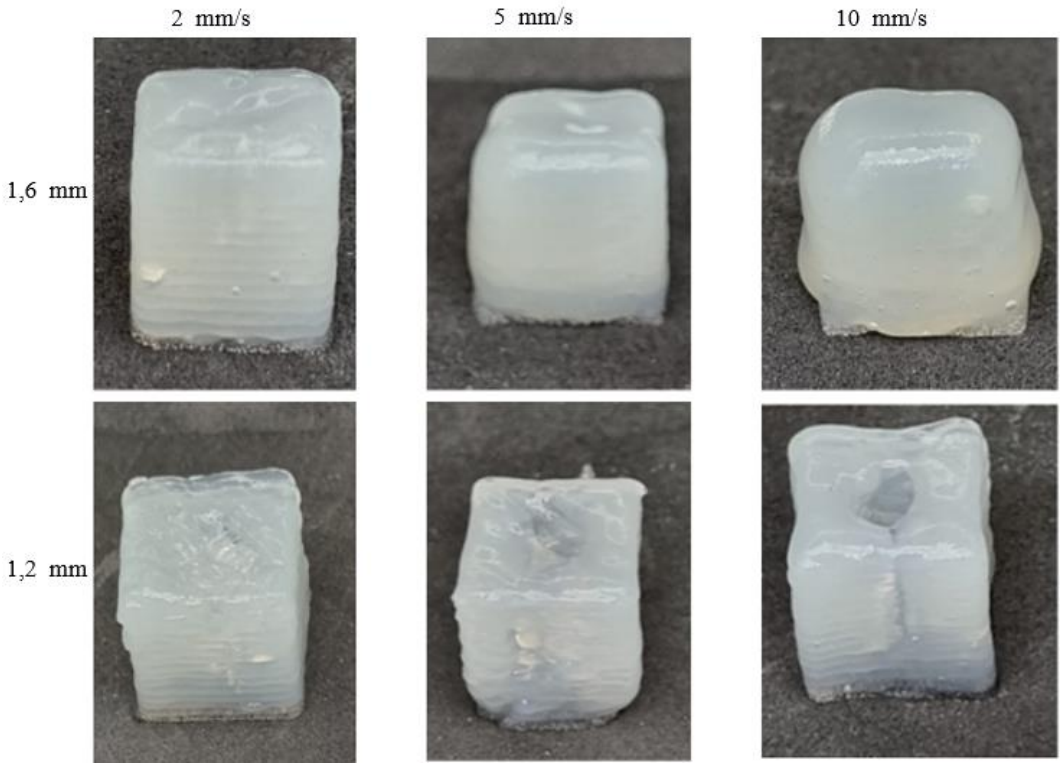


Figura 3. Estruturas impressas em diferentes diâmetros de agulha e velocidades com a formulação elaborada com SAC (alginato comercial)**.**

Nas maiores velocidades (5 e 10 mm/s), a estrutura não manteve a forma quando impressa com agulha de 1,6 mm de diâmetro, e com presença de orifício no centro da estrutura, quando a agulha de 1,2 mm foi utilizada na impressão. Já para a menor velocidade (2 mm/s) e com ambas as agulhas, foi possível imprimir um cubo com camadas bem definidas, diferindo apenas no tempo de impressão. Empregando a agulha de 1,2 mm de diâmetro, o tempo gasto para imprimir o cubo foi de 25 min, enquanto com a de 1,6 mm foi de 15 min. Portanto, a condição de impressão selecionada foi agulha com 1,6 mm de diâmetro e velocidade de 2 mm/s, para avaliar a precisão e estabilidade da formulação elaborada com o alginato nativo.

4.3 Precisão e estabilidade

Na condição selecionada (diâmetro da agulha de 1,6 mm, velocidade de 2 mm/s e tempo de impressão de 15 min), as estruturas cúbicas (15 x 15 x 15 mm^3) previamente formuladas com os diferentes alginatos foram impressas (Figura 4) e avaliadas em relação à precisão e estabilidade (Eqs. 8 e 9), logo após impressão (T 0h) e depois de 24 h (T 24h). Ambas as estruturas 3D apresentaram ótima precisão com camadas bem definidas (97,7% ± 1,11 para a formulada com SAC e 97,4% ± 0,94 para com SAN), resultados que estão em concordância com os apontados na caracterização reológica, que mostrou recuperação rápida para ambas formulações. Esses comportamentos são desejáveis na impressão 3D já que tem influência na qualidade e definição do produto, assim como de seu auto suporte, uma vez que esses materiais apresentam gel firme ao toque e possibilidade de manuseio, sem quebras das estruturas. Após 24h mantidos expostos à temperatura ambiente, a estabilidade das estruturas 3D foi de 70,2% ± 1,63 para as formuladas com SAC e de 73,4% ± 2,46 para com SAN. O encolhimento verificado para ambas as estruturas ocorreu provavelmente devido à perda de água para o ambiente, já que os cubos estavam secos ao toque.

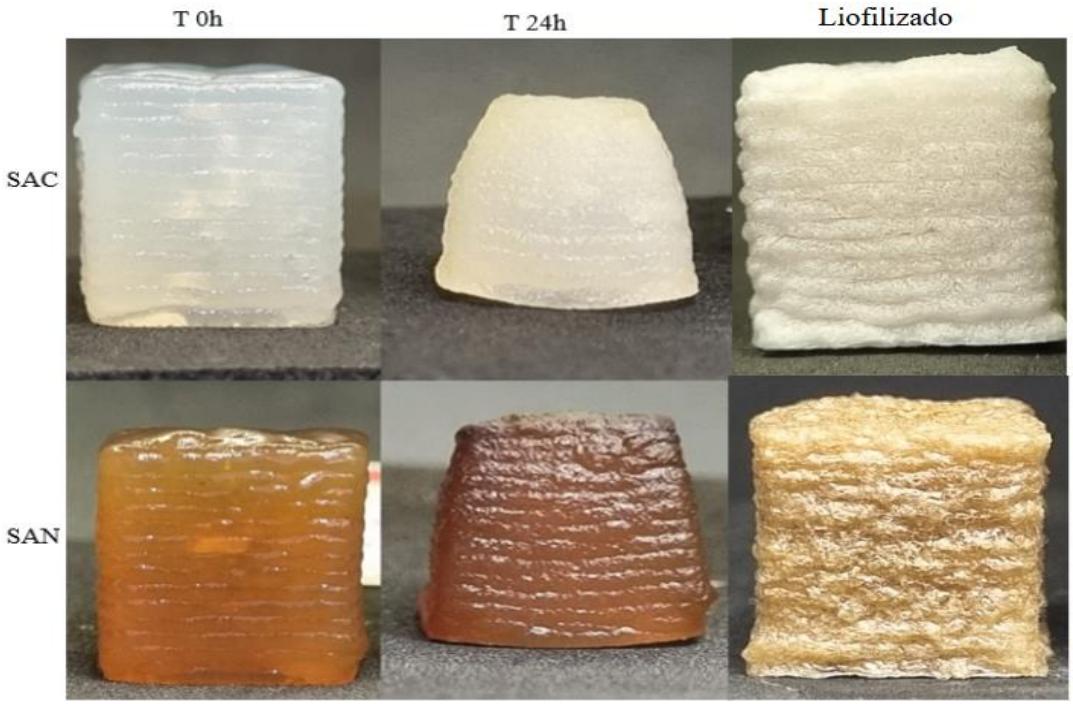


Figura 4 Estruturas das matrizes enriquecidas após impressão, 24 h e liofilização. SAC: alginato comercial; SAN: alginato nativo.

Na Tabela 3 são apresentados os parâmetros empregados (diâmetro da agulha e velocidade) na impressão das estruturas 3D assim como os obtidos através de equações matemáticas como queda de pressão (Eq. 3), taxas de cisalhamento na deposição (Eq. 4) e na extrusão (Eq. 5) e viscosidade aparente (Eq. 6) obtidas considerando as taxas de cisalhamento na deposição e na extrusão. A formulação com SAN apresentou menor queda de pressão do que o SAC, que pode ser devido a sua menor viscosidade aparente na extrusão, demonstrando que a matriz polimérica formulada com SAN é mais facilmente extrusada que o comercial. Comparando os resultados da Tabela 3 com as viscosidades aparentes obtidas experimentalmente (SAC: μ_D = 13,3 Pa.s, μ_{ER} = 3,65 Pa.s; SAN: μ_D = 8,54 Pa.s μ_{ER} = 2,29 Pa.s), pode-se observar valores bem próximos (deposição) ou mesmo similares (extrusão), mostrando que as Eqs. 1 a 7 empregadas foram satisfatórias para mimetizar a impressão 3D.

Tabela 3 - Parâmetros de fluxo das formulações com SAC e SAN, enriquecidas com ácido ascórbico e extrusadas em impressoras 3D.

Formulação	PS (mm/s)	NID (mm)	IT (s)	LH (mm)	γ_D (s^{-1})	γ_E (s^{-1})	μ_D (Pa.s)	μ_E (Pa.s)	**Δ**P (Pa)
SAC	2	1,6	900	1,6	1,25	9,32	10,58	3,57	2163,55
SAN	2	1,6	900	1,6	1,25	9,32	7,01	2,23	1916,14

PS: velocidade de impressão; NID: diâmetro interno da agulha; IT: tempo de impressão; LH: altura da camada; γ_D: taxa de deposição; γ_E: taxa de extrusão; μ_D : viscosidade aparente na taxa de deposição; μ_E : viscosidade aparente na taxa de extrusão e ΔP: queda de pressão.

No estudo de impressão, foi também avaliada a massa extrusada e a retenção da forma cúbica após a extrusão e após a liofilização, através da determinação da precisão (Eq. 8) de manutenção das estruturas. Os resultados mostraram (Tabela 4) que, independente do alginato empregado na formulação, houve diminuição significativa na massa e na precisão de impressão após a extrusão e secagem, que pode ser devido ao leve encolhimento em consequência da perda de água durante o processo de secagem. No entanto, ambas as estruturas foram capazes de manter suas formas, o que foi corroborado pelo excelente auto-suporte demonstrado no estudo reológico das formulações (item 4.1.2).

Tabela 4 - Massa e precisão de impressão das estruturas cúbicas, formuladas com alginato comercial (SAC) e nativo (SAN), após impressão e liofilização.

Formulação	Massa (g) após impressão	Precisão (%)	Massa (g) após liofilização	Precisão (%)
SAC	$3,0445 \pm 0,035^a$	$97,7 \pm 1,11^a$	$0,1743 \pm 0,05^b$	$88,88 \pm 2,23^b$
SAN	$3,0294 \pm 0,048^a$	$97,4 \pm 0,94^a$	$0,195 \pm 0,02^b$	$87,88 \pm 1,31^b$

Dados apresentados como média ± desvio padrão. Valores acompanhados de letras iguais na mesma coluna ou linha, não apresentam diferença significativa entre si ($p \leq 0.05$).

4.4 FTIR

As interações entre os diferentes grupos funcionais dos componentes individuais (SAC, SAN, ágar e AA) e das formulações elaboradas tanto com SAC ou SAN, com ou sem AA, são apresentados na Figura 5 A e B. Na Tabela 5 estão sumarizados os principais picos, determinados conforme Ebnalwaled et al., 2022; Kavoosi et al., 2018; Brandán; Bichara; Lanús, 2011; Singh et al., 2025; Kok; Wong, 2022; Kanmani; Rhim, 2014; Volery; Besson; Schaffer-Lequart, 2004. Para as formulações SAC não foi verificado o surgimento ou desaparecimento de picos quando o AA foi incorporado na matriz polimérica, apenas aumento da intensidade para todos os picos, o que pode indicar aumento das ligações de hidrogênio com a adição de ácido ascórbico (Khan et al., 2025). Já para a formulação SAN, além do aumento de intensidade dos picos, houve o surgimento de novos picos em 1311 cm^{-1} e 1330 cm^{-1}, que são associados a ligação com C=C, e em 1272 cm^{-1}, associados C-O-H (Ebnalwaled et al., 2022; Brandán; Bichara; Lanús, 2011) (Figura 6).

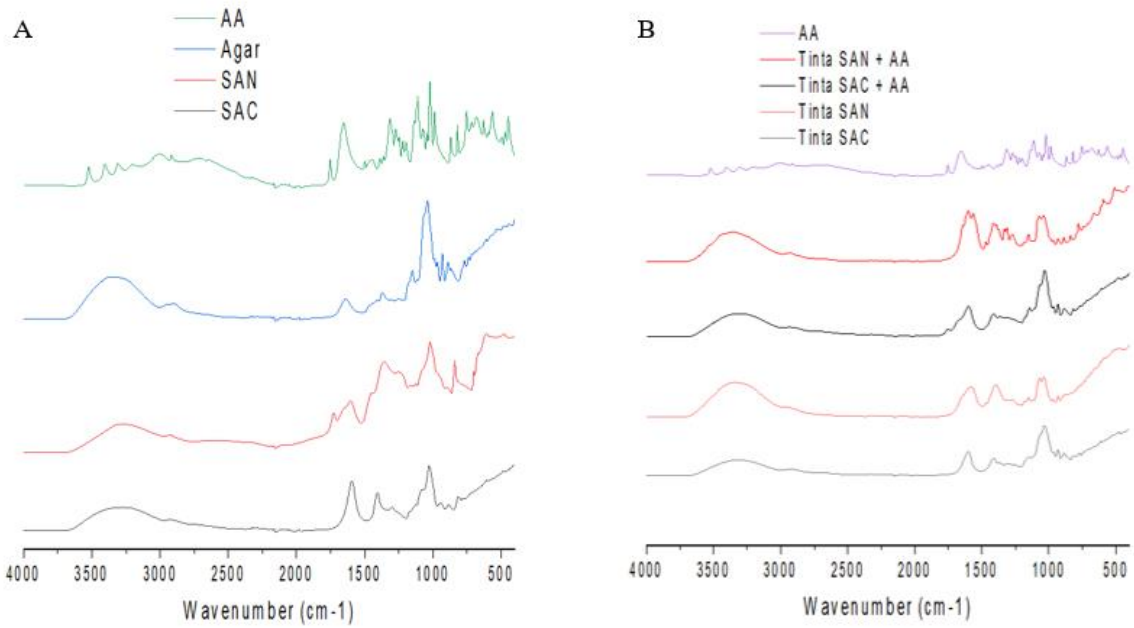


Figura 5 A- Espectro FTIR do ácido ascórbico (AA), ágar, alginato nativo (SAN) e comercial (SAC); B- Espectro FTIR das formulações elaboradas com alginato comercial (SAC) ou nativo (SAN), ágar e enriquecido, ou não, com ácido ascórbico (AA).

Tabela 5 - Picos encontrados no espectro de alginato comercial (SAC), nativo (SAN), ágar e ácido ascórbico (AA) e os correspondentes grupos funcionais.

Grupos funcionais	Número de onda cm^{-1} SAC	Número de onda cm^{-1} SAN	Número de onda cm^{-1} agar	Número de onda cm^{-1} AA
OH	3300	3270	3344	3000-3521
Grupos CH_2 ou C-H	2912	2912	2900	2919
C=O	-	-	-	1754
C=C	-	-	-	1658
NH e Acetona no ágar	-	-	1639	-
Vibração de alongamento assimétrica de COOH	1596	1608	-	-
Vibração de alongamento simétrica de COOH	1405	1448	-	-
Éster de sulfato no ágar	-	-	1371	-
C=C	-	-	-	1315
C-O-H	-	-	-	1272
C-O-C	-	-	-	1110
C-O	1080	1085	1153	-
C-O-C glicosídico	1029	1024	1041	-
C-C	-	-	-	1018
C-O Bloco G	945	950	-	-
C-O Bloco M	815	838	-	-

Determinados de acordo com Ebnalwaled et al., 2022; Kavoosi et al., 2018; Brandán; Bichara; Lanús, 2011; Singh et al., 2025; Kok; Wong, 2022; Kanmani; Rhim, 2014; Volery; Besson; Schaffer-Lequart, 2004).

4.5 Liberação do ácido ascórbico (AA)

A liberação do AA das estruturas 3D liofilizadas, independente se formuladas com SAC ou SAN, atingiram um pico em 6h (38,54% de AA liberado para SAC e 34,53% para SAN), com subsequente redução na quantidade do biocomposto liberado (Figura 6). O mecanismo de liberação compreende na difusão da água para o interior da estrutura, desencadeando no relaxamento do hidrogel, tornando-o mais flexível e com os poros aumentados, aumentando assim a mobilidade do composto bioativo e, consequentemente, na sua liberação (Baniasadi et al., 2021). Os cubos elaborados com SAN apresentaram maior liberação de AA inicialmente, porém mais lentamente e em menor quantidade ao longo do tempo. Já as estruturas 3D com SAC mostraram liberação de AA inicial menor, porém foi capaz de liberar mais o AA ao longo do tempo. Essa diferença pode estar relacionada a razão M/G presente na molécula dos alginatos nativo e comercial. Estudo tem mostrado que alginatos com maior proporção de G formam géis mais rígidos e menos suscetíveis à erosão, formando uma barreira mais efetiva para liberação (Liew et al., 2006). Isso pode ser uma explicação para a diferença na quantidade liberada de AA entre os cubos, uma vez que os formulados com SAN, o qual contém maior conteúdo de G, foi menos suscetível a liberação. Com isso, o baixo teor de liberação pode indicar que as matrizes poliméricas (em especial o SAN) contribuíram para a retenção do AA em sua estrutura. Notadamente após 30h, ambos os tipos de cubo mantiveram-se intactos no meio, não desmanchando quando manuseados.

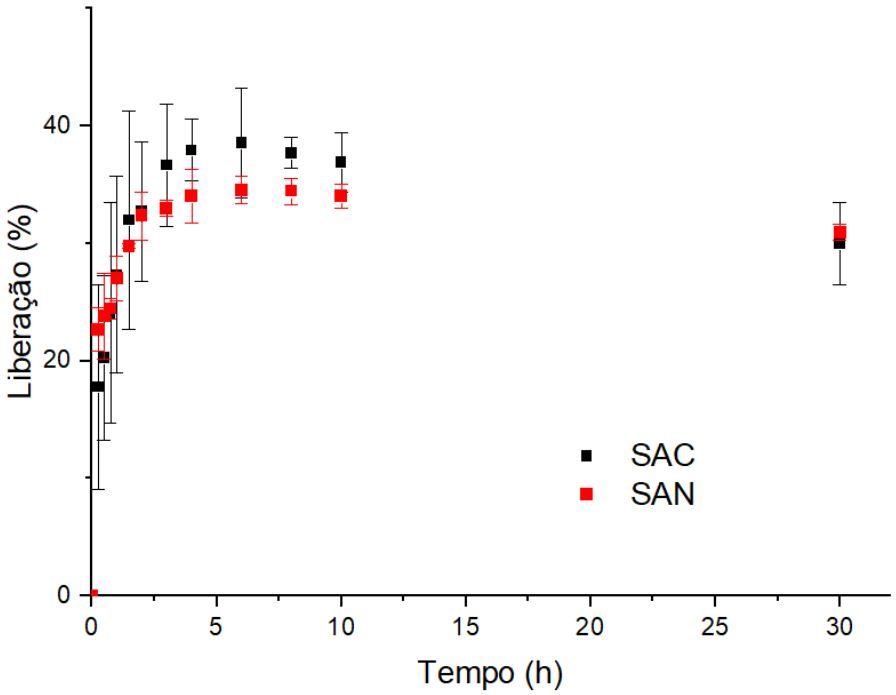


Figura 6. Liberação de ácido ascórbico das estruturas 3D formuladas com alginato de sódio comercial (SAC) e alginato de sódio nativo (SAN).

4.6 Perfil de Textura

O perfil de textura (dureza, adesividade, elasticidade, coesividade, gomosidade e mastigabilidade) foi realizado dos cubos impressos com as formulações SAC e SAN e de cubos impressos, liofilizados e reidratados (RI) antes da realização do teste (SAC RI e SAN RI) a fim de comparar os dois tipos de alginato e a influência do processo de liofilização.

A dureza, que está relacionada com a força do gel sobre compressão (Lau; Tang; Paulson, 2000), reflete a retenção da forma e as características de extrusão dos materiais após a impressão 3D (Oyinloye; Yoon, 2021). Em alimentos, uma dureza elevada indica uma textura mais firme enquanto baixos valores indicam textura mais suave (Mahat et al. 2020). Os cubos impressos empregando o alginato nativo (SAN) e os reidratados (SAN RI) (Tabela 6) exibiram dureza significativamente maior do que os formulados com SAC, resultando em uma textura mais firme. Esse resultado pode ser relacionado com os obtidos nos testes oscilatórios de varreduras de amplitude e frequência, onde foi observado maior módulo de armazenamento (G') para a amostra formulada com SAN quando comparada a com SAC. Essa diferença de dureza pode ser explicada pela razão M/G uma vez que maiores quantidades de blocos G (nativo), resultam em um gel mais firme, enquanto maiores de bloco M (comercial) resultam em um gel mais elástico (Hu et al., 2021). O processo de reidratação dos cubos liofilizados, para ambas formulações, acarretou na redução significativa da dureza, alcançando valores inferiores aos observados após impressos. Esse comportamento pode ser devido à incapacidade do alginato de reabsorver toda a água perdida ao liofilizar. Smaniotto et al., (2020) verificaram que géis de alginato com alto índice de crosslink não conseguiram recuperar suas características após a reidratação pois suas cadeias estão menos móveis e, portanto, conseguem reabsorver apenas parte da água perdida.

Adesividade está correlacionada com as forças agindo entre a superfície da amostra e outro material (Szczesniak, 2002) e valores altos indicam um maior esforço de deglutição durante a fase faringeal (Keršienė et al., 2020). Os cubos impressos com SAN apresentaram adesividade significativamente menor que o SAC, porém sem diferença significativa para este atributo quando comparados com os cubos reidratados e formulados com ambos

alginatos (Tabela 6). Estes resultados mostram que os cubos impressos com SAN e os cubos SAC RI e SAN RI são mais facilmente deglutidos.

Elasticidade representa o grau de retorno da amostra à sua altura inicial após compressão, impactando na quebra da estrutura, onde altos valores representam uma quebra da estrutura em maiores pedaços, enquanto menores valores representam uma quebra em pedaços menores (Kuo et al., 2021). Independente do material, não houve diferença significativa em relação à elasticidade e os valores obtidos apontam para a quebra da estrutura em grandes pedaços após a compressão.

Coesividade indica a força das ligações internas de uma amostra (Civille; Szczesniak, 1973) e a sua habilidade de resistir a forças externas (Cebrián-Lloret et al., 2024), representando a desintegração do material durante a mastigação (Li et al., 2020). Os resultados mostraram que os cubos não liofilizados (SAC e SAN) são significativamente diferentes e podem ser fragmentados mais facilmente do que os reidratados, que não diferem entre si. Além disso, as formulações com SAN são levemente mais coesas do que as estruturas impressas com SAC.

Gomosidade é o produto de dureza e coesividade e representa a força necessária para desintegrar uma amostra (Mostaghimi et al., 2023). Como os cubos formulados com SAN ou mesmo o reidratado (SAN RI) apresentaram elevada dureza, estes são menos facilmente desintegrados quando comparados com SAC ou SAC RI, respectivamente. Por fim, mastigabilidade é o produto de dureza, coesividade e elasticidade, representando a energia necessária durante a mastigação (Mostaghimi et al., 2023). Neste trabalho a elasticidade apresentou valores 1, com isso a mastigabilidade seguirá a mesma tendência da gomosidade.

Em relação ao processo de desidratação (liofilização) e reidratação dos cubos, este modificou significativamente a textura das gomas, embora seja uma alternativa eficaz para

a conservação a longo prazo (Kuo et al., 2021). Após a reidratação, as gomas apresentaram menor dureza e adesividade, resultando em uma textura mais macia e de fácil mastigação e deglutição. Em contraste, as gomas recém-impressas mantiveram uma textura mais firme. Essas variações evidenciam a versatilidade da formulação, permitindo a obtenção de produtos com diferentes características texturais, adaptáveis a diversas aplicações.

Comparando os resultados de perfil de textura dos cubos (SAN e SAC) com gomas alimentícias comerciais (Kuo et al., 2021), verifica-se que apresentam valores próximos de elasticidade (0,92) e coesividade (0,89), porém inferiores em relação à dureza (26.033), adesividade (-0,44), gomosidade (23.174) e mastigabilidade (21.397). Esses resultados mostram que a goma comercial apresentou textura muito mais firme e que é mais facilmente deglutida do que as estruturas obtidas neste trabalho.

Tabela 6 - Perfil de textura dos cubos formulados com SAN e SAC pós impressão e pós liofilização e reidratação (RI).

Formulação	Dureza (g)	Adesividade (g)	Elasticidade	Coesividade	Gomosidade (g)	Mastigabilidade
SAC	256,57± 18,41^{a}	-14,03±3,18^{a}	1,00±002^{a}	0,65±0,04^{a}	168,91±18,67^{a}	169,8±18,42^{a}
SAN	462,43±74,33^{b}	-7,49±3,93^{b}	1,00±0,001^{a}	0,73±0,05^{b}	340,64±61,58^{b}	341,99±61,82^{b}
SAC RI	62,06±9,90^{c}	-5,51±2,64^{b}	1,00±0,003^{a}	1,22±0,07^{c}	75,948±11,24^{c}	76,30±11,21^{c}
SAN RI	107,04±18,29^{d}	-4,72±1,68^{b}	1,00±0,002^{a}	1,24±0,09^{c}	134,24±28,32^{a}	134,70±28,53^{a}

Dados apresentados como média ± desvio padrão. Valores acompanhados de letras iguais na mesma coluna, não apresentam diferença significativa entre si ($p \leq 0.05$).

5. Conclusão

A formulação contendo 2% alginato, 3% de ágar e 50 mM de $CaCl_2$ apresentou géis mais firmes, ótima recuperação após cisalhamento e foi a selecionada para ser enriquecida com 1% de ácido ascórbico (AA) e o alginato comercial (SAC) substituído pelo nativo (SAN). A matriz polimérica contendo SAN apresentou as melhores características reológicas como menor viscosidade, o que facilita a extrusão da tinta, recuperação mais rápida, o que influencia na qualidade do produto final, e formação de um gel mais rígido, comportamento necessário para um bom auto-suporte. Na avaliação da printabilidade, a condição selecionada para impressão foi agulha de 1,6 mm com velocidade de 2 mm/s. Nessas condições ambas as formulações enriquecidas com ácido ascórbico apresentaram ótima precisão e manutenção da estrutura, mesmo após liofilização. O espectro FTIR das matrizes poliméricas apresentou os picos característicos dos componentes e, para formulação SAN, surgiram novos picos com a adição de AA. A formulação SAN é capaz de liberar maior quantidade de AA em menor intervalo de tempo, atingindo maior porcentagem de liberação em 6h , após esse período ambas as matrizes sofrem diminuição da quantidade de AA provavelmente devido a degradação da vitamina C. As estruturas impressas com SAN apresentaram textura mais firme que a SAC, independente se foram reidratados, apresentando menor adesividade e maior coesividade, gomosidade e mastigabilidade. Não houve diferença estatística para a elasticidade. Entretanto, a liofilização ocasionou diminuição da dureza para ambas as formulações (SAN ou SAC) e aumento da coesividade. Essas variações evidenciam a versatilidade da formulação, permitindo a obtenção de produtos com diferentes características texturais, adaptáveis a diversas aplicações

6. Referências

ALVAREZ-LORENZO, C. et al. Crosslinked ionic polysaccharides for stimuli-sensitive drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, n. 9, p. 1148–1171, ago. 2013.

BANIASADI, H. et al. Ascorbic acid-loaded polyvinyl alcohol/cellulose nanofibril hydrogels as precursors for 3D printed materials. **Materials Science and Engineering C**, v. 130, 1 nov. 2021.

BARRA, P. A. et al. Spray-Drying Performance and Thermal Stability of L-ascorbic Acid Microencapsulated with Sodium Alginate and Gum Arabic. **Molecules**, v. 24, n. 16, p. 2872, 7 ago. 2019.

BERTAGNOLLI, C., Espindola, A. P. D., Kleinübing, S. J., Tasic, L., & da Silva, M. G. C. (2014). Sargassum filipendula alginate from Brazil: Seasonal influence and characteristics. **Carbohydrate Polymers**, 111, 619-623.

BOJORGES, H. et al. Overview of alginate extraction processes: Impact on alginate molecular structure and techno-functional properties. **Trends in Food Science and Technology.** Elsevier Ltd, 1 out. 2023.

BRANDÁN, S. A.; BICHARA, L. C.; LANÚS, H. E. First Oxidation Product of Vitamin C, the Dehydro-L-Ascorbic Acid Dimer: A Study Based on FTIR-Raman and DFT Calculations. **J. Chem. Chem. Eng**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/262012461>.

CEBRIÁN-LLORET, V. et al. Exploring alternative red seaweed species for the production of agar-based hydrogels for food applications. **Food Hydrocolloids**, v. 146, p. 109177, jan. 2024.

CHICA, L. R. et al. Optimizing alginate extraction using Box-Behnken design: Improving yield and antioxidant properties through ultrasound-assisted citric acid extraction. Food Chemistry Advances, v. 5, 1 dez. 2024

CIVILLE, G. V.; SZCZESNIAK, A. S. Guidelines to training a texture profile panel. **Journal of Texture Studies**, v. 4, n. 2, p. 204–223, 30 jun. 1973.

COMUNIAN, T. A. et al. Microencapsulation of ascorbic acid by complex coacervation: Protection and controlled release. **Food Research International**, v. 52, p. 373-379, 2013.

DENG, Y. et al. Alginate modification via click chemistry for biomedical applications. **Carbohydrate Polymers** Elsevier Ltd, , 15 out. 2021.

EBNALWALED, A. A. et al. XRD and FTIR of Ascorbic Acid and Monosodium Glutamate Food Additives. **International Journal of Research Publication and Reviews**, p. 2155–2159, 3 out. 2022.

FERNANDO, I. P. S. et al. Advances in functionalizing fucoidans and alginates (bio)polymers by structural modifications: A review. **Chemical Engineering Journal** Elsevier B.V., , 1 jan. 2019.

GHEBREMEDHIN, M.; SEIFFERT, S.; VILGIS, T. A. Physics of agarose fluid gels: Rheological properties and microstructure. **Current Research in Food Science**, v. 4, p. 436–448, 1 jan. 2021.

HU, C. et al. Ions-induced gelation of alginate: Mechanisms and applications. **International Journal of Biological Macromolecules** Elsevier B.V., 30 abr. 2021.

HUIJUN, Li *et al*. Rheological study on 3D printability of alginate hydrogel and effect of graphene oxide. **International Journal of Bioprinting**, 2(2), p. 54–66, 2016.

JUNAID, P. M. et al. Polysaccharide-based hydrogels for microencapsulation of bioactive compounds: A review. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 15, p. 101038, mar. 2024.

KADIVAL, A. et al. Extrusion-Based 3D Food Printing: Printability Assessment and Improvement Techniques. **Food and Bioprocess Technology Springer,** 1 maio 2023.

KANMANI, P.; RHIM, J.-W. Antimicrobial and physical-mechanical properties of agar-based films incorporated with grapefruit seed extract. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, p. 708–716, fev. 2014.

KARAKURT, I. et al. Stereolithography (SLA) 3D printing of ascorbic acid loaded hydrogels: A controlled release study. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 584, p. 119428, jun. 2020.

KAVOOSI, G. et al. Microencapsulation of zataria essential oil in agar, alginate and carrageenan. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 45, p. 418–425, fev. 2018.

KERŠIENĖ, M. et al. Development of a high-protein yoghurt-type product enriched with bioactive compounds for the elderly. **LWT**, v. 131, p. 109820, set. 2020.

KHAN, M. U. A. et al. Bioactive hydrogel (ZIF-8@CMC-PVA-SA) as dressing materials for wound healing applications. **Materials Today Communications**, v. 42, p. 111282, jan. 2025.

KOK, J.M.-L.; WONG, C.L. In vitro Properties of Methanol Extract and Sodium Alginate of Sargassum polycystum C. Agardh Brown Seaweed Collected from Malaysia. **Tropical Life Sciences Research**, v. 33, n. 1, p. 55–76, 31 mar. 2022.

KOU, F. et al. Preparation and characterization of metal-polyphenol networks encapsulated in sodium alginate microbead hydrogels for catechin and vitamin C delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 276, p. 133870, set. 2024.

KUO, C.-C. et al. An integrated manufacturing strategy to fabricate delivery system using gelatin/alginate hybrid hydrogels: 3D printing and freeze-drying. **Food Hydrocolloids**, v. 111, p. 106262, fev. 2021.

LAU, M. H.; TANG, J.; PAULSON, A. T. Texture profile and turbidity of gellan/gelatin mixed gels. **Food Research International**, v. 33, n. 8, p. 665–671, out. 2000.

LI, H.; LIU, S.; LI, L. Rheological study on 3D printability of alginate hydrogel and effect of graphene oxide. **International Journal of Bioprinting**, v. 2, n. 2, p. 54–66, 2016.

LI, J. et al. Flocculation behavior and gel properties of egg yolk/κ-carrageenan composite aqueous and emulsion systems: Effect of NaCl. **Food Research International**, v. 132, p. 108990, jun. 2020.

LI, Q. et al. Fabrication and characterization of Ca(II)-alginate-based beads combined with different polysaccharides as vehicles for delivery, release and storage of tea polyphenols. **Food Hydrocolloids,** v. 112, 1 mar. 2021**.**

LIEW C. et al. Evaluation of sodium alginate as drug release modifier in matrix tablets. **International Journal of Pharmaceutics,** Elsevier, v. 309, p. 25-37, 17 Feb. 2006.

LIU, Z. et al. Linking rheology and printability of a multicomponent gel system of carrageenan-xanthan-starch in extrusion based additive manufacturing. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 413–424, 1 fev. 2019.

MAHAT, M. M. et al. The Sensory Evaluation and Mechanical Properties of Functional Gummy in the Malaysian Market. , 12 out. 2020.

MALDONADO-ROSAS, R. et al. Evaluation of rheology and printability of 3D printing nutritious food with complex formulations. **Additive Manufacturing,** v. 58, 1 out. 2022.

MALLAKPOUR, S.; AZADI, E.; HUSSAIN, C. M. State-of-the-art of 3D printing technology of alginate-based hydrogels—An emerging technique for industrial applications. **Advances in Colloid and Interface Science** Elsevier B.V., , 1 jul. 2021.

MARTÍNEZ-SANZ, M. et al. Advanced structural characterisation of agar-based hydrogels: Rheological and small angle scattering studies. **Carbohydrate Polymers**, v. 236, 15 maio 2020.

MEKALA, S.; SILVA, E. K.; SALDAÑA, M. D. A. Ultrasound-assisted production of emulsion-filled pectin hydrogels to encapsulate vitamin complex: Impact of the addition of xylooligosaccharides, ascorbic acid and supercritical CO2 drying. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 76, p. 102907, mar. 2022.

MOSTAGHIMI, M. et al. Development and characterization of antimicrobial alginate hydrogel beads filled with cinnamon essential oil nanoemulsion. **Journal of Biomaterials Science**, Polymer Edition, v. 34, n. 15, p. 2144–2160, 13 out. 2023.

NAGHIEH, S.; CHEN, X. Printability–A key issue in extrusion-based bioprinting. **Journal of Pharmaceutical Analysis** Xi'an Jiaotong University, , 1 out. 2021.

NOGUEIRA, M. T.; CHICA, L. R.; YAMASHITA, C.; NUNES, N. S. S.; MORAES, I. C. F.; BRANCO, C. C. Z.; BRANCO, I. G. Optimal conditions for alkaline treatment of alginate extraction from the brown seaweed Sargassum cymosum C. Agardh by response surface methodology. **Applied Food Research,** 2, 2, 2022.

OLMOS-JUSTE, R. et al. 3D printed alginate-cellulose nanofibers based patches for local curcumin administration. **Carbohydrate Polymers**, v. 264, 15 jul. 2021.

OYINLOYE, T. M.; YOON, W. B. Stability of 3D printing using a mixture of pea protein and alginate: Precision and application of additive layer manufacturing simulation approach for stress distribution. **Journal of Food Engineering**, v. 288, p. 110127, jan. 2021.

PAN, H. et al. 3D printing properties of Flammulina velutipes polysaccharide-soy protein complex hydrogels. **Journal of Food Engineering**, v. 334, 1 dez. 2022.

SÁNCHEZ-CID, P. et al. Novel Trends in Hydrogel Development for Biomedical Applications: A Review. **Polymers**, v. 14, p. 3023, 2022.

SZCZESNIAK, A. S. Texture is a sensory property. **Food Quality and Preference**, v. 13, n. 4, p. 215–225, jun. 2002.

SINGH, J. et al. Development of agar-alginate marine polysaccharides-based hydrogels for agricultural applications to reduce environmental hazards. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 295, p. 139659, mar. 2025.

SMANIOTTO, F. et al. Freeze drying and rehydration of alginate fluid gels. **Food Hydrocolloids**, v. 99, p. 105352, fev. 2020.

SONG, J. et al. Synthesis and characterization of pH-responsive sodium alginate/humic acid composite hydrogels for sustained drug release of l-ascorbic acid. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 280, p. 135777, nov. 2024.

TOMAŠEVIĆ, I. et al. 3D printing as novel tool for fruit-based functional food production. **Current Opinion in Food Science** Elsevier Ltd, , 1 out. 2021.

VARAPRASAD, K. et al. The significance of biomacromolecule alginate for the 3D printing of hydrogels for biomedical applications. **International Journal of Biological Macromolecules** Elsevier B.V., , 1 jul. 2022.

VOLERY, P.; BESSON, R.; SCHAFFER-LEQUART, C. Characterization of Commercial Carrageenans by Fourier Transform Infrared Spectroscopy Using Single-Reflection Attenuated Total Reflection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 25, p. 7457–7463, 1 dez. 2004.

WANG, J. et al. 3D printed agar/ calcium alginate hydrogels with high shape fidelity and tailorable mechanical properties. **Polymer**, v. 214, 1 fev. 2021.

YAMASHITA, Camila. Multi-caracterização de alginato de sódio ozonizado extraído de algas pardas para utilização na impressão 3D. 2024. 113 f. Tese (Doutorado em Biociências) - Faculdade de Ciência e Letras, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Assis, 2024.

ZHANG, J. et al. pH-sensitive alginate hydrogel for synergistic anti-infection. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 222, p. 1723–1733, 1 dez. 2022.

ZHANG, R. et al. A comparative assessment of the activity and structure of phlorotannins from the brown seaweed Carpophyllum flexuosum. **Algal Research**, v. 29, p. 130–141, 1 jan. 2018.

ZHONG, Q. et al. Correlation between 3D printability and rheological properties of biopolymer fluid: A case study of alginate-based hydrogels. **Journal of Food Engineering**, v. 370, 1 jun. 2024.