

Análise Reológica e Otimização de Parâmetros de Impressão 3D de Hidrogéis de Carragena Kappa e Iota para Aplicações em Biofabricação

Emily Cristiny Moraes da Silva¹, Juliana Kelmy Macario Barboza Daguano¹,
Larissa Mayra Silva Ribeiro¹

emily.silva@cti.gov.br, juliana.daguano@cti.gov.br,
lsribeiro@cti.gov.br

¹Divisão de Tecnologias para Produção e Saúde - DITPS
CTI/MCTI Renato Archer – Campinas/SP

Abstract. *This study investigated the rheological characterization and optimization of 3D bioprinting parameters for hydrogels formulated with κ - and ι -carrageenan. Seven formulations were evaluated, varying the carrageenan/gelatin ratio and glycerin concentration. After standardized preparation, the formulations were subjected to rheological assessment to determine their apparent viscosity and thixotropy. Sample printing was performed with controlled extrusion, temperature, and speed parameters, allowing the correlation of rheological properties with the dimensional fidelity of the printed structures. Formulation F6 demonstrated superior performance by combining a high degree of thixotropic recovery with good geometric stability. The results highlight the potential of carrageenans as a base for bioinks applicable in tissue engineering, controlled release systems, and the food industry.*

Resumo. *Este estudo investigou a caracterização reológica e a otimização dos parâmetros de bioimpressão 3D de hidrogéis formulados com κ - e ι -carragena. Foram avaliadas sete formulações variando a proporção carragena/gelatina e a concentração de glicerina. Após preparo padronizado, as formulações passaram por avaliação reológica para determinar sua viscosidade aparente e tixotropia. A impressão das amostras foi realizada com parâmetros controlados de extrusão, temperatura e velocidade, permitindo correlacionar as propriedades reológicas com a fidelidade dimensional das estruturas impressas. A formulação F6 demonstrou desempenho superior, combinando alto grau de recuperação tixotrópica com boa estabilidade geométrica. Os resultados destacam o potencial das carragenas como base para biotintas aplicáveis em engenharia tecidual, sistemas de liberação controlada e indústria alimentícia.*

1. Introdução

As carragenas kappa (κ) e iota (ι) são polissacarídeos lineares sulfatados de alto peso molecular derivadas de algas vermelhas, e constituem o segundo maior grupo de

polissacarídeos na indústria alimentícia (Brenner et al., 2014). Devido à sua capacidade de formar redes tridimensionais de gel através do controle da temperatura, são rotineiramente utilizadas em diversas indústrias, como a de higiene pessoal, biomédica, biotecnológica e farmacêutica, onde atuam como agentes gelificantes, intensificadores de viscosidade e estabilizadores (Bhattacharyya et al., 2024).

A distinção fundamental entre as carragenas kappa e iota reside na localização e no número de grupos sulfato nas suas unidades dissacarídicas repetidas (Brenner et al., 2014; Bhattacharyya et al., 2024). Idealmente, a κ -carragena é sulfatada no O-4 da unidade de D-galactopiranoose, enquanto a ι -carragena possui um grupo sulfato adicional no O-2 da unidade de 3,6-anidro-D-galactopiranoose. Estas diferenças estruturais resultam em comportamentos de gelificação muito distintos entre as duas: A κ -carragena forma géis rígidos e quebradiços com forte irreversibilidade térmica (Bui et al., 2019a; Brenner et al., 2014); a ι -carragena, por sua vez, forma géis consideravelmente mais fracos e macios, que fraturam a maiores deformações e exibem termorreversibilidade (Geonzon et al., 2023). A sua temperatura de transição hélice-espiral apresenta uma fraca dependência da identidade do cátion alcalino, e as suas hélices são fracamente estabilizadas por agregação (Piculell, 1995). A estrutura química de cada uma das carragenas está representada pela Fig. 1.

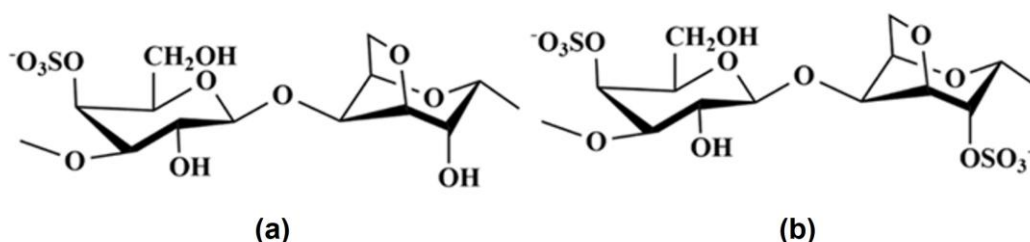


Figura 1: (a) estrutura química da κ -carragena e (b) ι -carragena. Adaptado de Bhattacharyya et. al, 2024.

As propriedades reológicas das carragenas são cruciais para a formulação de hidrogéis em diversos sistemas de entrega de medicamentos, particularmente em aplicações tópicas orais e na impressão 3D (Herrada-Manchón et al., 2023; Burhan et al., 2023). A impressão 3D baseada em extrusão de hidrogéis tem ganhado destaque devido ao seu potencial em engenharia de tecidos, entrega de medicamentos e medicina regenerativa, permitindo a criação de estruturas personalizadas com alta resolução (Kaliaraj et al., 2023).

A κ -carragena é particularmente visada como um polímero para biotintas devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, comportamento pseudoplástico e gelificação iônica (Kamlow, 2021). Contudo, sua alta viscosidade intrínseca à temperatura ambiente pode exigir pressões elevadas durante o processo de extrusão, o que pode comprometer a viabilidade celular. Além disso, sua gelificação iônica é sensível a variações ambientais, como pH e concentração de íons, o que pode afetar a estabilidade das estruturas impressas (Lim et al., 2020). Por outro lado, os hidrogéis à base de ι -carragena também apresentam comportamento pseudoplástico, uma característica reológica fundamental para facilitar o fluxo do gel através de bicos ou seringas durante a impressão e garantir a retenção da forma após a deposição (Burhan et al., 2023). Além

disso, a presença de ι -carragena em sistemas gelificados também aumenta sua capacidade de retenção de água. Essa propriedade é importante para manter a hidratação das células encapsuladas e para a difusão controlada de nutrientes ou fármacos dentro das estruturas impressas (Wang et al., 2021).

Para a impressão 3D, as propriedades reológicas do hidrogel são avaliadas em três etapas críticas. A primeira ocorre durante a extrusão, momento em que é essencial que o material apresente uma rápida diminuição da viscosidade sob forças de cisalhamento, permitindo o fluxo através do bico, mas também que consiga recuperar essa viscosidade imediatamente após a remoção da força aplicada. Além disso, é necessário que o hidrogel possua uma tensão de escoamento mínima, suficiente para evitar que o material escorra ou goteje de forma indesejada. A segunda etapa é logo após a saída do bico, quando o material precisa manter sua forma original. Essa estabilidade dimensional é determinada por propriedades como a viscoelasticidade e uma resposta tixotrópica rápida, que garantem que o gel não se deforme antes de solidificar. Por fim, na construção camada a camada, o hidrogel deve apresentar capacidade de auto-sustentação, ou seja, ser capaz de suportar o peso das camadas subsequentes. Para isso, são desejáveis uma gelificação rápida e um equilíbrio adequado entre comportamento elástico e viscoso, o que pode ser avaliado por meio do parâmetro $\tan(\delta)$, refletindo a proporção entre perda e armazenamento de energia mecânica (Schwab et al., 2020).

Pesquisas envolvendo a (bio)impressão 3D com carragenas têm evidenciado diferenças marcantes no comportamento reológico das formulações baseadas nas isoformas ι -carragena e κ -carragena. A combinação dessas duas variantes é uma estratégia amplamente utilizada para desenvolver géis com rigidez intermediária e maior versatilidade no design estrutural. As cadeias de κ - e ι -carragena coexistem naturalmente, podendo estar dispostas como sequências curtas ou longas, entrelaçadas uma na outra (Bui et al., 2019). Estudos demonstram que a combinação de gelatina com carragena afeta significativamente o desempenho reológico e a extrusão: misturas de gelatina suína com ι -carragena e de gelatina bovina com κ -carragena requerem forças de extrusão mais elevadas em comparação àquelas formuladas com metilcelulose, além de apresentarem um comportamento predominantemente elástico (Matas et al., 2022; Matas et al., 2023). Além disso, sistemas híbridos contendo ambas as isoformas apresentam temperaturas críticas de transição sol-gel mais elevadas do que formulações puras, sendo a κ -carragena fundamental para promover a agregação das cadeias de ι -carragena e estabilizar a estrutura do gel (Bhattacharyya et al., 2023).

Diante desse contexto, a avaliação sistemática das propriedades reológicas das isoformas κ - e ι -carragena torna-se essencial para compreender seu desempenho como biotintas e hidrogéis na impressão 3D. A caracterização desses polímeros permite não apenas correlacionar suas diferenças estruturais com o comportamento de gelificação e extrusão, mas também direcionar estratégias de formulação capazes de otimizar sua aplicabilidade em biofabricação.

2. Materiais e Métodos

2.1. Preparo das formulações

A primeira etapa do projeto foi dedicada ao preparo das formulações. Inicialmente, a gelatina tipo A (Êxodo Científica, Brasil) foi hidratada por 10 minutos. Em paralelo, soluções de κ -carragena e ι -carragena (Sigma-Aldrich, Brasil) foram previamente

aquecidas a 60 °C sob homogeneização contínua, utilizando uma placa aquecedora magnética modelo C-MAG HS-7 (IKA®-Werke GmbH, Alemanha). A gelatina hidratada foi então incorporada às soluções de carragena sob agitação constante, até a obtenção de uma mistura homogênea. Na sequência, adicionou-se glicerina (Dinâmica Química Contemporânea, Brasil), mantendo-se a agitação até completa homogeneização da formulação.

A solução final foi transferida para seringas BD Luer-Lock de 20 mL (Becton Dickinson, Estados Unidos) e armazenada sob refrigeração por 24 horas, com o objetivo de estabilização e posterior uso nos ensaios de impressão. A Tabela 1 apresenta as concentrações de cada componente utilizado nas formulações, enquanto o esquema metodológico da preparação está ilustrado na Fig. 2. Foram inicialmente preparadas sete formulações, variando-se as concentrações de carragenas e gelatina, com o intuito de investigar diferentes perfis reológicos e de impressão.

Tabela 1: Representação da composição de cada formulação

Composição das Formulações					
	i-carragen (g)	Gelatina (g)	k-carragen (g)	Água (ml)	Glicerina (g)
F1	0,0	0,4	0,3	10	2,0
F2	0,3	0,4	0,0	10	2,0
F3	0,4	0,4	0,0	10	2,0
F4	0,0	0,4	0,4	10	2,0
F5	0,0	0,3	0,5	10	3,0
F6	0,5	0,3	0,0	10	3,0
F7	0,2	0,4	0,2	10	2,0

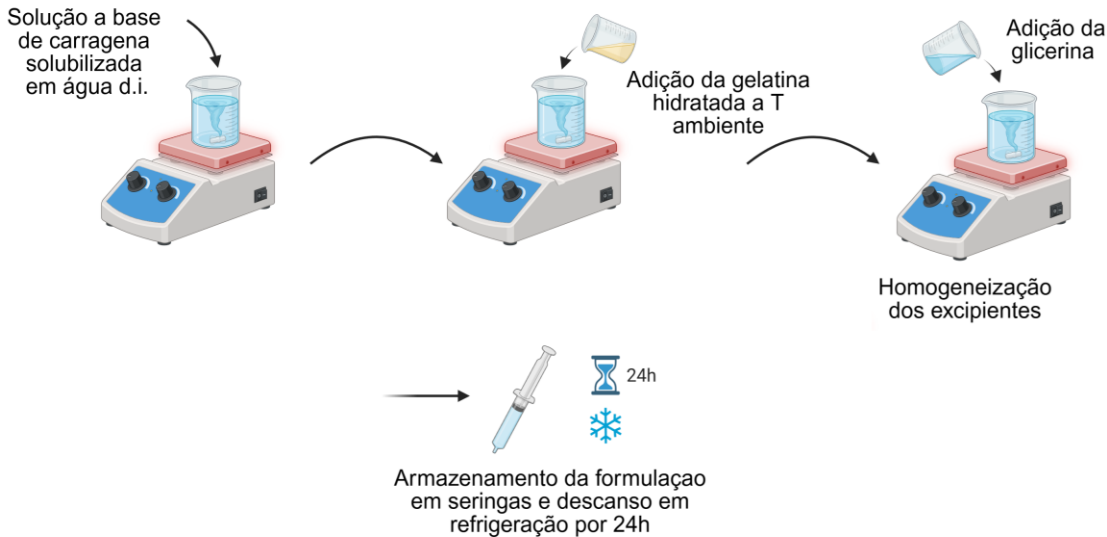


Figura 2: Diagrama do processo de síntese das formulações dos hidrogéis utilizado para impressão das amostras

2.2. Caracterização das formulações

A etapa seguinte consistiu na caracterização reológica das formulações. Para a realização dos ensaios, utilizou-se um reômetro modular MCR 102 (Anton Paar, Áustria), equipado com sistema de placas paralelas de 10 mm de diâmetro (PP10) e espaçamento (gap) fixo de 0,5 mm. Para minimizar a evaporação da água presente nas amostras ao longo das análises, aplicou-se uma fina camada de silicone ao redor da amostra.

Antes da análise, as formulações foram aquecidas em banho-maria a 40 °C por 30 minutos, com o objetivo de promover a fluidez do material, facilitando seu manuseio sem comprometer a integridade estrutural e reduzindo a formação de bolhas de ar.

Complementarmente, as formulações foram analisadas por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), com o objetivo de identificar e caracterizar os principais grupos funcionais presentes nos hidrogéis. Essa técnica permitiu avaliar possíveis interações químicas entre os constituintes (carragena, gelatina e glicerina), a partir do registro dos espectros de absorção na região do infravermelho.

2.3. Impressão 3D das amostras

Na terceira etapa do projeto, os hidrogéis foram empregados na impressão das amostras por meio da impressora 3D de extrusão semissólida 593 iCAN (593iCAN, Brasil), equipada com cabeçote aquecido. Para garantir a homogeneidade da matriz e a consistência adequada para extrusão, as seringas contendo as formulações foram aquecidas em banho-maria a 40 °C por 30 minutos antes do início do processo (Fig. 3).

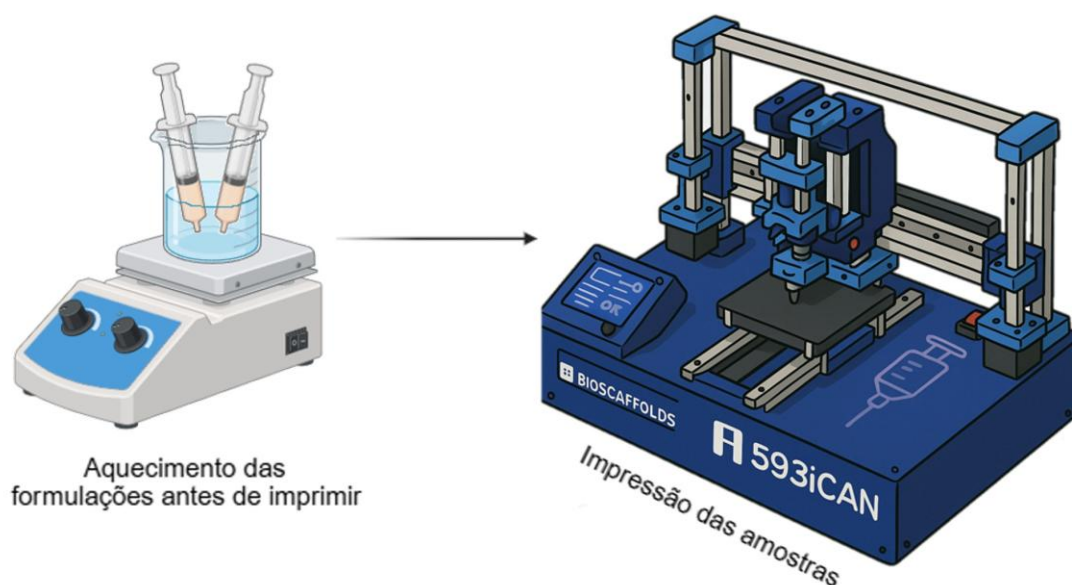


Figura 3: Preparo e impressão das amostras.

A impressão foi conduzida em ambiente com temperatura controlada (22 °C), utilizando bicos de aço inoxidável com diâmetro interno de 0,4 mm, 0,5 mm e 0,6 mm,

selecionados conforme a viscosidade de cada formulação. O fator de extrusão foi ajustado entre 150% e 180% e a temperatura, a qual variou entre 30 °C, 35 °C e 40 °C, foram definidas de acordo com as características reológicas das amostras. As velocidades de impressão testadas foram de 8 mm/s e 10 mm/s, buscando o equilíbrio entre precisão geométrica e tempo de impressão.

As amostras foram confeccionadas em diferentes geometrias (cilíndrica e quadrada), empregando o software Bioscaffolds® (593iCAN, Brasil). Após a impressão, os exemplares foram mantidos em repouso à temperatura ambiente por 30 minutos e, em seguida, armazenados sob refrigeração (4–8 °C) por no mínimo 12 horas, assegurando a completa solidificação e estabilização da matriz polimérica. As unidades obtidas foram avaliadas por meio de análises qualitativas, incluindo verificação da uniformidade de massa, integridade estrutural e aceitabilidade visual.

3. Resultados

3.1. Análise reológica das formulações

A análise dos dados reológicos, obtidos a partir das curvas de viscosidade e tixotropia, em conjunto com a composição das formulações F1 a F7 (Fig. 4a e Fig. 4b, respectivamente), evidenciou diferenças significativas na capacidade de recuperação estrutural após o cisalhamento. Essas variações estão fortemente associadas aos tipos e proporções dos biopolímeros empregados. As formulações com maiores concentrações de κ -carragena e ι -carragena (F4 e F5) apresentaram, de modo geral, viscosidades iniciais mais elevadas — comportamento esperado, considerando a reconhecida capacidade desses polissacarídeos de formar géis robustos na presença de sais ou proteínas, como a gelatina. A recuperação da viscosidade após 30 segundos de repouso variou consideravelmente entre as amostras, conforme detalhado na Tabela 2, refletindo o impacto direto da composição na resposta tixotrópica das formulações.

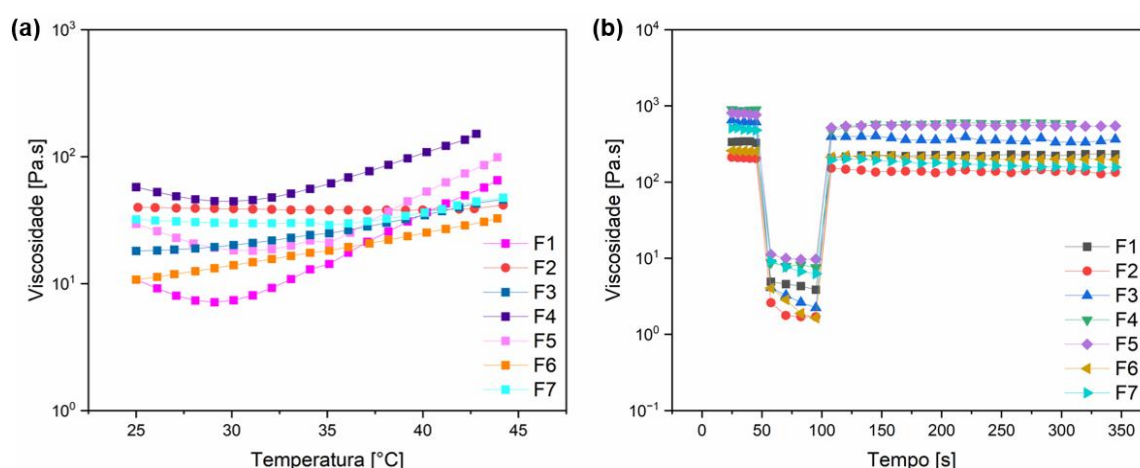


Figura 4: (a) viscosidade e (b) recuperação tixotrópica das formulações.

Tabela 2: Porcentagem de recuperação tixotrópica de cada formulação

Amostra	Viscosidade Inicial (Pa.s)	Viscosidade Final (Pa.s)	Recuperação (%)
F1	326	213	65,34%
F2	204	152	74,51%
F3	763	394	51,64%
F4	892	515	57,74%
F5	763	515	67,48%
F6	253	213	84,19%
F7	480	195	40,63%

A formulação F6, com alta concentração de ι-carragena (0,5 g) e glicerina (3 g), mostrou a maior capacidade de recuperação (84%), indicando um bom equilíbrio entre estrutura e flexibilidade, possivelmente favorecido pela glicerina como plastificante. Isso sugere que F6 pode ser promissora para aplicações que exigem recuperação rápida da forma, como na impressão 3D por exemplo. A gelatina, presente em todas as formulações, contribui para a coesão e formação de gel, mas em concentrações constantes, seu impacto diferencial é limitado. A presença da glicerina, por outro lado, parece ter efeito plastificante positivo, onde as formulações com 3g (F5 e F6) apresentam viscosidades mais moderadas e melhores recuperações em comparação com outras de mesmo teor de carragena.

A análise combinada dos perfis reológicos e das composições mostra que a ι-carragena, quando utilizada isoladamente e com glicerina em maior proporção, proporciona o melhor desempenho em termos de viscosidade controlada e alta recuperação tixotrópica. Já combinações específicas de carragenas, como a F7, podem apresentar efeitos contrários do esperado. No entanto, apesar da formulação F7 ter apresentado a menor recuperação tixotrópica (40%), seu desempenho na impressão foi satisfatório. Isso indica que, além da recuperação estrutural, outros fatores como viscosidade inicial, sinergia entre polímeros e teor de plastificante têm papel importante na estabilidade e qualidade da impressão.

3.2. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR dos excipientes individuais e das formulações completas estão apresentados nas Fig. 5a e 5b, respectivamente. As formulações revelaram bandas características tanto da carragena quanto da gelatina, confirmando a presença e a integridade estrutural de ambos os polímeros nos hidrogéis. Observou-se uma banda larga em torno de 3300 cm^{-1} , correspondente ao estiramento das ligações O–H, indicando a presença de grupos hidroxila. Na região entre 1600 e 1650 cm^{-1} , foi identificado o pico atribuído às ligações C=O (carbonila) da gelatina. Já as bandas localizadas entre 1200 e 1000 cm^{-1} foram associadas ao estiramento assimétrico do grupo sulfato (SO_3^-), característico da carragena (Bhattacharyya et al., 2023).

A comparação entre os espectros das formulações e dos polímeros isolados demonstrou a preservação dos picos típicos, sem o surgimento de novas bandas ou deslocamentos relevantes. Essa evidência sugere que não houve formação de novas ligações covalentes entre os componentes, indicando a ausência de interações químicas significativas entre os polímeros na matriz do hidrogel.

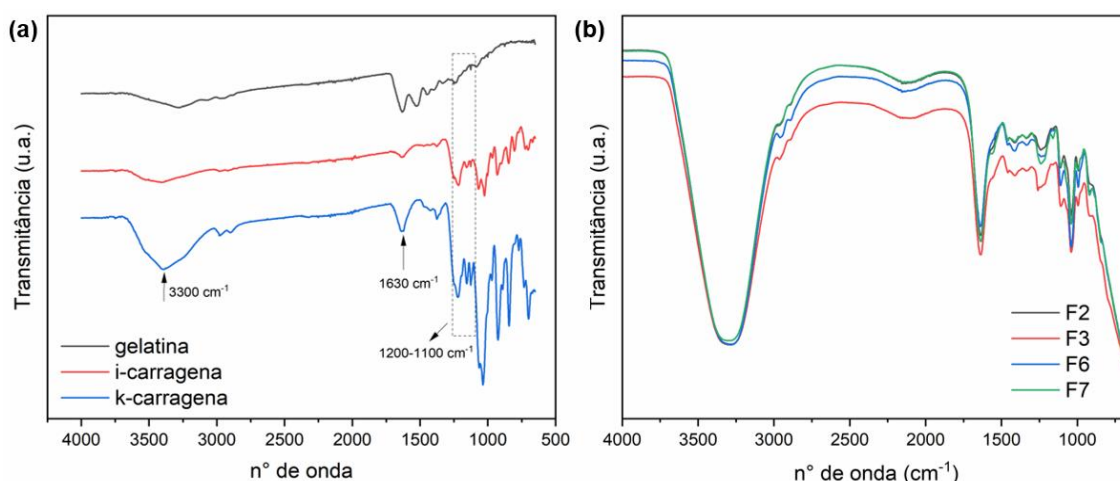


Figura 5: Espectro de FTIR dos (a) polímeros excipientes e (b) das formulações sintetizadas.

Essa constatação corrobora com o comportamento reológico observado, onde a ausência de interações químicas fortes favorece a reversibilidade da rede polimérica, permitindo que formulações como F6 e F2 apresentem alto grau de recuperação após cisalhamento. Por outro lado, a combinação de polímeros com afinidade limitada, como na F7, pode formar redes fisicamente estáveis, mas menos propensas à reestruturação, justificando a baixa recuperação e ainda assim bom desempenho funcional.

As amostras impressas (Fig. 6a e Fig. 6b) foram avaliadas qualitativa e quantitativamente com base na uniformidade visual, estabilidade da forma e manutenção das dimensões após a extrusão. A análise dos diâmetros das amostras (Fig. 5b) revelou boa correlação com os dados reológicos e espectroscópicos previamente obtidos. A formulação F6 (Fig. 5d) apresentou o maior diâmetro ($\Phi = 10,05$ mm), compatível com sua elevada recuperação tixotrópica ($\approx 84\%$) e maior teor de glicerina, que favoreceram a reorganização estrutural do gel e a preservação da forma extrudada. A formulação F3 (Fig. 5c), apesar de apresentar alta viscosidade inicial, exibiu diâmetro ligeiramente menor ($\Phi = 9,20$ mm), possivelmente em razão de sua menor capacidade de recuperação ($\approx 52\%$) e da predominância de interações físicas entre os componentes, como demonstrado pelos espectros de FTIR. Já a formulação F7 (Fig. 5e), embora tenha apresentado a menor recuperação tixotrópica ($\approx 40\%$), manteve desempenho satisfatório de impressão, com diâmetro próximo ao das demais formulações ($\Phi = 9,14$ mm). Esse comportamento pode ser atribuído à sinergia entre ι - e κ -carragena, que contribuiu para a formação de uma rede polimérica mecanicamente estável, mesmo na ausência de reestruturação significativa da viscosidade. É importante destacar que a formulação F1 não foi incluída na análise por não apresentar printabilidade adequada, impossibilitando sua extrusão com parâmetros constantes de impressão. Esses achados indicam que a printabilidade dos hidrogéis não depende exclusivamente da recuperação tixotrópica, mas de uma combinação de fatores, incluindo a viscosidade inicial, a plasticidade conferida por aditivos como a glicerina e a natureza das interações físico-químicas entre os polímeros.

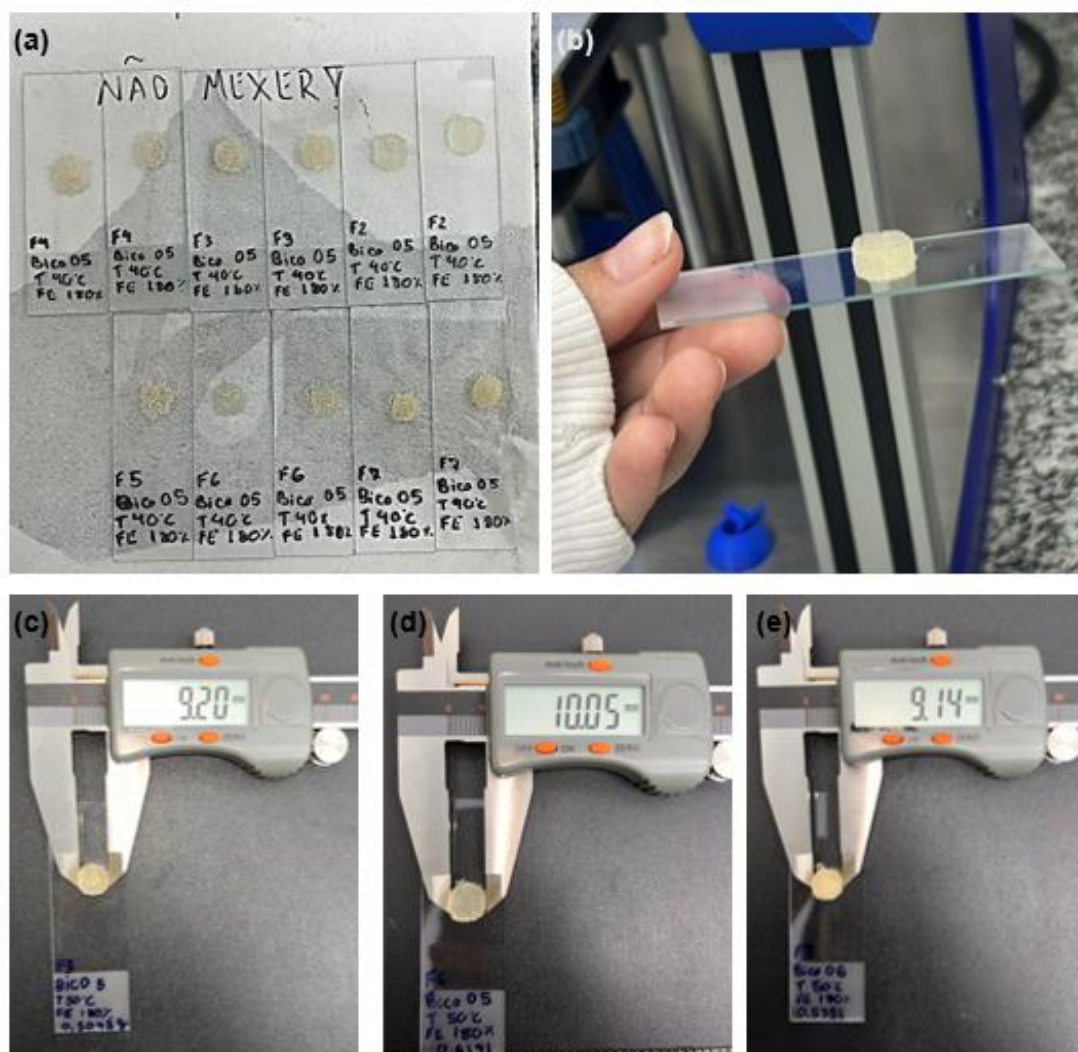


Figura 6: (a) Inspeção visual das amostras impressas; (b) Amostra obtida a partir da formulação F6; (c) amostras obtida a partir das formulações F3, (d) F6 e (e) F7, mostrando o diâmetro e a massa de cada uma.

4. Conclusões

Embora tanto a carragena iota quanto a kappa apresentem propriedades reológicas favoráveis para aplicações em biofabricação, a iota demonstrou desempenho levemente superior, destacando-se pela maior elasticidade e resistência à deformação. Essas características a tornam particularmente adequada para impressões 3D, que exigem maior estabilidade estrutural. Ainda assim, a escolha entre as duas isoformas deve considerar sua aplicação específica, uma vez que a kappa também apresenta bons resultados, sobretudo quando submetida a modificações químicas ou utilizada em combinação com outros polímeros.

Referências

Bhattacharyya, T.; Palla, C. S.; Dethe, D. H.; Joshi, Y. M. (2024) “Rheological Investigation of the Network Structure in Mixed Gels of Kappa and Iota

- Carrageenan”, *Food Hydrocolloids*, Vol. 146, Part B, p. 109298, Elsevier, Netherlands.
- Brenner, T.; Tuvikene, R.; Parker, A.; Matsukawa, S.; Nishinari, K. (2014) “Rheology and Structure of Mixed Kappa-Carrageenan/Iota-Carrageenan Gels”, *Food Hydrocolloids*, Vol. 39, pp. 272-279, Elsevier, Netherlands.
- Bui, V. T. N. T.; Nguyen, B. T.; Nicolai, T.; Renou, F. (2019) “Mobility of Carrageenan Chains in Iota- and Kappa-Carrageenan Gels”, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Vol. 562, pp. 113-118, Elsevier, Netherlands.
- Burhan, N. N.; Mohamed Suffian, I. F.; Zakaria, S. F.; Hamzah, N. (2023) “Rheological Assessments on Alginate and Carrageenan as Nanoparticle Carriers for Topical Oral Cancer Drug”, *Journal of Tropical Life Science*, Vol. 13, No. 2.
- Herrada-Manchón, H.; Fernández, M. A.; Aguilar, E. (2023) “Essential Guide to Hydrogel Rheology in Extrusion 3D Printing: How to Measure It and Why It Matters?”, *Gels*, Vol. 9, p. 517, MDPI, Switzerland.
- Kamlow, M.-A.; Spyropoulos, F.; Mills, T. (2021) “3D Printing of Kappa-Carrageenan Emulsion Gels”, *Food Hydrocolloids for Health*, Vol. 1, p. 100044, Elsevier, Netherlands.
- Kaliaraj, G. S.; Shanmugam, D. K.; Dasan, A.; Mosas, K. K. A. (2023) “Hydrogels—A Promising Materials for 3D Printing Technology”, *Gels*, Vol. 9, p. 260, MDPI, Switzerland.
- Lim, W.; Kim, G. J.; Kim, H. W.; Lee, J.; Zhang, X.; Kang, M. G.; Seo, J. W.; Cha, J. M.; Park, H. J.; Lee, M.-Y.; et al. (2020) “Kappa-Carrageenan-Based Dual Crosslinkable Bioink for Extrusion Type Bioprinting”, *Polymers*, Vol. 12, p. 2377, MDPI, Switzerland.
- Matas, A.; Molina-Montero, M. C.; Igual, M.; García-Segovia, P.; Martínez-Monzó, J. (2022) “Printability Prediction of Three Gels for 3D Food Printing”, *Biology and Life Sciences Forum*, Vol. 18, p. 25, MDPI, Switzerland.
- Matas, A.; Molina-Montero, C.; Igual, M.; García-Segovia, P.; Martínez-Monzó, J. (2023) “Viability Study on the Use of Three Different Gels for 3D Food Printing”, *Gels*, Vol. 9, p. 736, MDPI, Switzerland.
- Picullell, L. (1995) “Gelling Carrageenans”, In: *Food Polysaccharides and Their Applications*, Edited by A. M. Stephen, pp. 205–244, Marcel Dekker, New York, USA.
- Schwab, A.; Levato, R.; D’Este, M.; Piluso, S.; Eglin, D.; Malda, J. (2020) “Printability and Shape Fidelity of Bioinks in 3D Bioprinting”, *Chemical Reviews*, Vol. 120, No. 19, pp. 11028-11055, ACS Publications, USA.
- Wang, Y.; Han, Y.; Yan, J.; Du, Y.; Jiang, X.; Wu, H. (2021) “Gel Properties and Network Structure of the Hydrogel Constructed by Iota-Carrageenan and Ala-Lys Dipeptide”, *International Journal of Biological Macromolecules*, Elsevier, Netherlands.