

# USO DE BLENDA POLIMÉRICAS DE PULULANA E POLI (ÁLCOOL VINÍLICO) NO DESENVOLVIMENTO DE ARCABOUÇOS FIBROSOS POR ROTOFIAÇÃO PARA ENGENHARIA DE TECIDOS DE PELE

Leonardo de Souza<sup>1</sup>, Marco Aurélio Vinchi de Oliveira<sup>1</sup>, Alex Alavarse de Carvalho<sup>1</sup>, Jean Jacques Bonvent<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Ciências Naturais e Humana, Universidade Federal do ABC, Santo André (SP), Brasil  
E-mail:leosouzaengbio@outlook.com

**Resumo.** No intuito de desenvolver novos materiais para obtenção de arcabouços para a engenharia de tecidos, o uso de blendas poliméricas se mostra bastante atraente por oferecer uma variabilidade de propriedades físico-químicas, menor tempo de preparo e menor custo, quando comparado ao desenvolvimento de novos polímeros. Recentemente, mantas formadas de nanofibras poliméricas têm sido utilizadas como arcabouços devido a características como elevada área superficial e alta interconectividade dos poros. Dentre as técnicas utilizadas para produzir mantas fibrosas, a rotofiação apresenta maior eficiência. Neste trabalho, foram utilizadas blendas poliméricas a base de Poli (Álcool Vinílico) (PVA) e Pululana para produção de arcabouços fibrosos, sendo ambos os polímeros solubilizados em misturas de água e DMSO. A morfologia das nanofibras e as propriedades térmicas foram analisadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Termogravimetria Diferencial (DTGA), respectivamente. Mantas fibrosas foram obtidas, com o diâmetro das fibras variando de 316 nm a 946 nm, dependendo estreitamente das propriedades reológicas das soluções poliméricas.

**Palavras-chave:** Rotofiação, Nanofibras, Pululana, Arcabouço, Engenharia de Tecidos.

## 1. INTRODUÇÃO

A perda de pele é um dos problemas mais antigos do campo cirúrgico, e os procedimentos utilizados com maior frequência para a regeneração de lesões na pele envolvem principalmente o uso de xenoenxertos, aloenxertos e autoenxertos (Halim, Khoo, & Yussof, 2010; Leon-Villapalos, Eldardiri, & Dziewulski, 2010). Contudo, existem algumas limitações para o uso destes procedimentos como falta de doadores, antigenicidade e a extensão das áreas lesionadas (Rabbani, Yang, Park, Oh, & Yeum, 2016). No intuito de superar estas limitações é proposto o uso dos chamados Equivalentes de Pele Humana (EPH).

Os EPHs são obtidos cultivando queratinócitos e fibroblastos sobre estruturas organizadas chamadas de arcabouços (Castellano et al., 2018; Joseph et al., 2019; Strassburg et al., 2019). Os arcabouços desempenham uma importante função na mimetização da matriz extracelular, apresentando características como biocompatibilidade, elevada porosidade, biodegradabilidade e propriedades mecânicas adequadas (Rabbani et al., 2016; Rnjak-Kovacina & Weiss, 2011).

Arcabouços constituídos de nano/microfibras têm sido utilizados como curativos e para cultivo de células epiteliais (Castellano et al., 2018; Joseph et al., 2019; Strassburg et al., 2019). Uma variedade de técnicas são descritas para a obtenção de nanofibras como separação de fases, auto-montagem, eletrofiação e rotofiação (Dhandayuthapani, Krishnan, & Sethuraman, 2010). A rotofiação representa uma opção para produzir fibras em larga escala. Essa técnica baseia-se na formação de fibras em escalas nanométricas/micrométricas utilizando da força centrífuga, não necessitando de campos elétricos ou soluções eletricamente condutivas (Badrossamay, McIlwee, Goss, & Parker, 2010).

O Poli (Álcool Vinílico) (PVA) é um polímero sintético utilizado na área biomédica para obtenção de membranas anfifílicas para imobilização de enzimas e como excipiente para formulação de medicamentos e cosméticos (em pó ou comprimidos), por sua estabilidade física, química, microbiológica e biodegradabilidade (Wheatley et al., 2000). Sua característica semicristalina propicia uma resistência mecânica adequada para arcabouços e não apresenta toxicidade a tecidos biológicos (Cheng, Cai, & Wang, 2003).

A pululana têm apresentado bons resultados na sua utilização na obtenção de suportes para cultivo celular (Philippini, Martiniano, Marcelino, Santos, & Da Silva, 2018), *Teloschistes flavicans* (Reis, Tischer, Gorin, & Iacomini, 2002), *Rhodotorula bacarum* (Chi & Zhao, 2003), *Cytaria darwinii* (Oliva, Cirelli, & de Lederkremer, 1986). Trata-se de um exopolissacarídeo, excretado principalmente pelo fungo *Aureobasidium pullulan*, que recentemente tem sido aplicado em hidrogéis e filmes obtidos por eletrofição. Além de possuir um bom potencial antioxidante, não é tóxico, imunogênico e mutagênico (Silva et al., 2006; Sueiro, Faria-Tischer, Lonni, & Mali, 2016; TaboadaI, CARVALHO, & Sobral, 2008). Estas propriedades indicam que a pululana é um biopolímero com bom potencial para uso em substitutos da pele. Diversos estudos já vêm aplicando a mesma na engenharia de tecidos ósseos (Arora, Sharma, & Katti, 2015), musculares (Autissier, Letourneur, & Le Visage, 2007), cartilaginosa (Chen et al., 2016), epitelial (Wong et al., 2010) e endotelial vascular (Na, Shin, Yun, Park, & Lee, 2003).

Diante do exposto, o presente trabalho pretende estudar a produção de nanofibras poliméricas de PUL/PVA pelo método de rotofiação, avaliando como os parâmetros de composição da blenda polimérica e a volatilidade do solvente influenciam na morfologia das fibras obtidas.

## 2. OBJETIVO

Avaliar a influência dos parâmetros de composição da blenda polimérica e a volatilidade do solvente na morfologia das fibras obtidas por Rotofiação.

## 3. MATERIAIS E MÉTODOS

### Materiais

Neste trabalho, foram utilizados os polímeros Poli(Álcool Vinílico) (PVA), de peso molecular  $130.000 \text{ gmol}^{-1}$  (87% hidrolisado) adquirido da Sigma Aldrich e Pululana (PUL), de peso molecular  $200.000 \text{ gmol}^{-1}$ , gentilmente cedido pela empresa Hayashibara Biochemical Laboratories, Inc. (Okayama, Japão). Também foram utilizados os solventes Dimetilsulfóxido (DMSO) da Labsynth e água deionizada. Todos os materiais são utilizados como recebidos.

### Preparo das Blendas

As soluções dos polímeros Pululana 15% (m/v) e PVA 10% (m/v) foram preparadas separadamente, solubilizando os polímeros em uma mistura de água destilada e DMSO. O percentual de DMSO na mistura de solvente variou de 0% a 100%. Posteriormente, os polímeros foram misturados nas proporções volumétricas apropriadas para se obter blendas de

PUL:PVA, com as seguintes composições 100:0 (v/v), 80:20 (v/v), 50:50 (v/v), 20:80 (v/v) e 0:100 (v/v).

### **Análise Reológica das Blendas**

O módulo de elasticidade ( $G'$ ), o módulo viscoso ( $G''$ ) e a viscosidade complexa ( $\eta^*$ ) foram obtidos utilizando ensaios realizados com um reômetro rotativo Kinexus Lab (Malvern Instruments Ltd., UK) com geometria cone-placa. A temperatura foi fixada a  $60^\circ\text{C}$  e a frequência utilizada foi de 0,1 Hz a 10 Hz.

### **Rotofiação**

O equipamento de rotofiação utilizado foi desenvolvido por um dos integrantes do grupo de pesquisa. Durante todos os ensaios, as seguintes variáveis foram mantidas constantes: velocidade de rotação a 12.5000 rpm, taxa de alimentação da solução polimérica de 0,5 mL/min e temperatura utilizada durante o processo de rotofiação a  $60^\circ\text{C}$ . Os ensaios foram realizados em duplicatas denominadas de bateladas I e II. O processo de rotofiação foi realizado durante o tempo necessário para se obter elevada quantidade de fibras, ainda assim cada batelada não ultrapassou 30 min.

### **Análise da Morfologia dos Arcabouços**

Após o processo de rotofiação, as fibras foram recobertas com uma camada de 30 nm de ouro, utilizando o equipamento Sputtering Leica EM ACE 200 em modo difuso. Posteriormente, as imagens das mantas fibrosas foram obtidas utilizando um Microscópio Eletrônico de Varredura Compacto (JSM-6010L JEOL), operado a 15 kV e utilizando ampliações de 200x, 500x e 1000x. A medição do diâmetro das fibras foi realizada utilizando um tamanho amostral de 100 fibras, e o software utilizado para as medições foi o Image J Fiji.

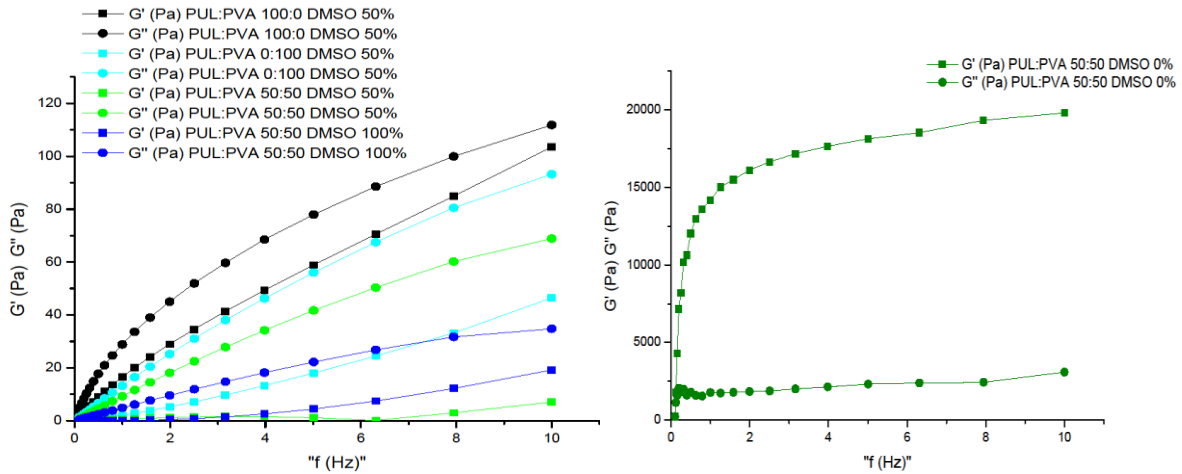
### **Análises térmicas dos arcabouços**

As propriedades térmicas foram analisadas usando uma série termográfica Q500 (TA Instruments). Foram utilizados aproximadamente 10 mg de cada amostra e a variação de temperatura utilizada foi da temperatura ambiente até  $600^\circ\text{C}$ , taxa de aquecimento  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  em atmosfera de  $\text{N}_2$ . Os valores de perda de massa foram calculados usando o software de análise TA (TA Instruments).

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### **Análise Reológica**

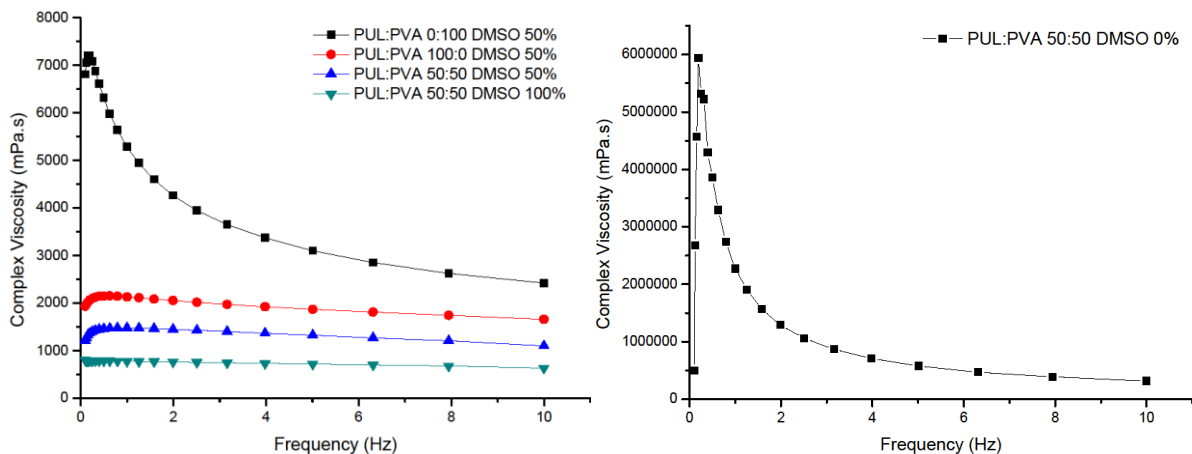
Para se avaliar o comportamento reológico das soluções poliméricas, foi analisado o comportamento do módulo elástico  $G'$ , do módulo viscoso  $G''$  e da viscosidade complexa  $\eta^*$ , como apresentado nas figuras 1 e 2.



**Figura 1** – (a) Avaliação do módulo elástico  $G'$  e (b) módulo viscoso  $G''$  em função da frequência.

Destaca-se na figura 1(a) que as formulações utilizadas apresentaram valores de  $G''$  superiores ao  $G'$ , significando que nestas blends o caráter viscoso sobressai sobre o caráter de sólido gel. Apesar de todas as soluções apresentarem comportamento semelhante (figura 1(a)), a blenda composta de PUL:PVA 50:50, utilizando somente água como solvente, apresentou um comportamento diferente, em que os valores de  $G'$  foram muito elevados e maiores que o  $G''$ , o que significa que estas blends se comportam proeminentemente como um gel.

A figura 2 apresenta o comportamento da viscosidade complexa das soluções em função da frequência. Nota-se na figura 2 que as soluções apresentam comportamento semelhante, não indicando influência da frequência na viscosidade complexa. Este comportamento já foi reportado na literatura para as soluções tanto de Pululana (Xiao, Tong et al., 2012; Xiao, Tong et al., 2015) quanto de PVA (Sousa, Souza et al., 2015), em baixas concentrações. No entanto, este comportamento não foi observado nas formulações PUL:PVA 0:100 e DMSO 50% e PUL:PVA 50:50 e DMSO 0% que apresentaram aumento da viscosidade complexa em função da redução da frequência.



**Figura 2** – Comportamento da viscosidade complexa ( $\eta^*$ ) em função da frequência.

Os resultados apresentados nas figuras 1 e 2 mostram que as diferentes composições das misturas poliméricas levaram a alterações no comportamento reológico das soluções, o que pode influenciar a formação das fibras no processo de rotofiação.

### Análise Morfologia das Fibras

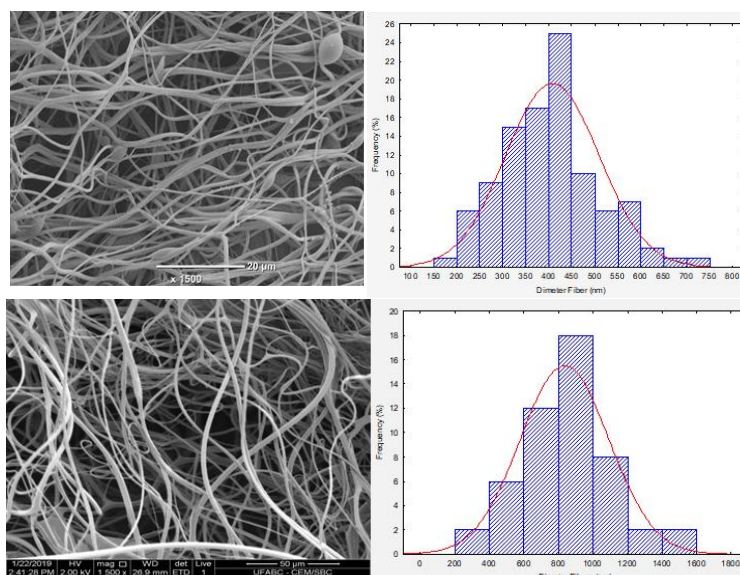
Para avaliação da influência da composição das blendas no diâmetro médio das fibras, foram avaliadas diversas proporções dos polímeros PVA e Pululana, assim como diferentes proporções da mistura DMSO na mistura do solvente utilizado.

A tabela 1 apresenta as composições de blendas estudadas o diâmetro médio das fibras obtidas em cada uma.

Composição da Blenda Pululana:PVA (v/v)	Percentual de DMSO na mistura do solvente. (%)	Diametro Médio das Fibras (nm)
0:100	0	403 ± 35
0:100	50	316 ± 57
50:50	0	706 ± 26
50:50	50	567 ± 15
50:50	100	416 ± 70
100:0	0	831 ± 84
100:0	50	946 ± 30

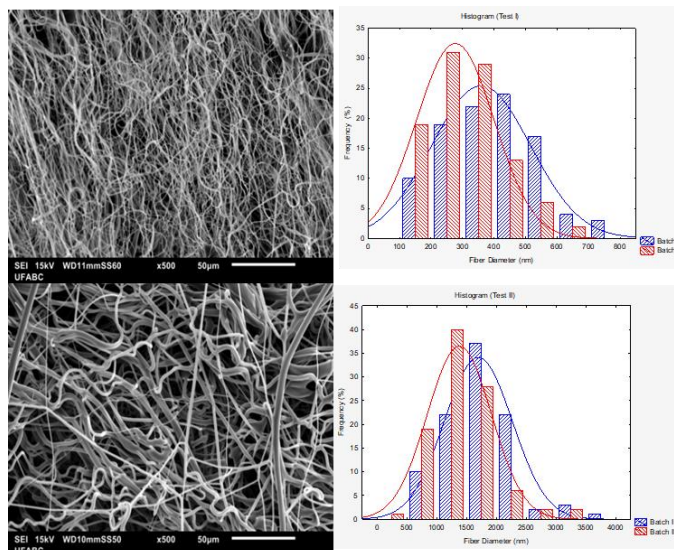
**Tabela 1** – Composição das soluções utilizadas na rotofiação e os diâmetros médios obtidos.

As figuras 3 a 5 apresentam a morfologia e a distribuição dos diâmetros médios das fibras de PVA e Pululana utilizando como solvente uma mistura de DMSO e água, com diferentes porcentagens de DMSO.



**Figura 3** – Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura das fibras, com as respectivas distribuições de tamanho, de PVA (a) e Pululana (b), utilizando água como solvente (0% de DMSO).

As imagens mostradas na figura 3 mostram que as fibras de Pululana 15% (w/v) e PVA 10% (w/v) apresentaram distintas características morfológicas. As fibras de Pululana apresentam um diâmetro médio de  $(831 \pm 84)$  nm e sem presença de contas, consideradas como imperfeições. Enquanto, as fibras de PVA têm um diâmetro médio de  $(403 \pm 35)$  nm, ou seja, duas vezes menor do da pululana, e com formação de algumas contas.



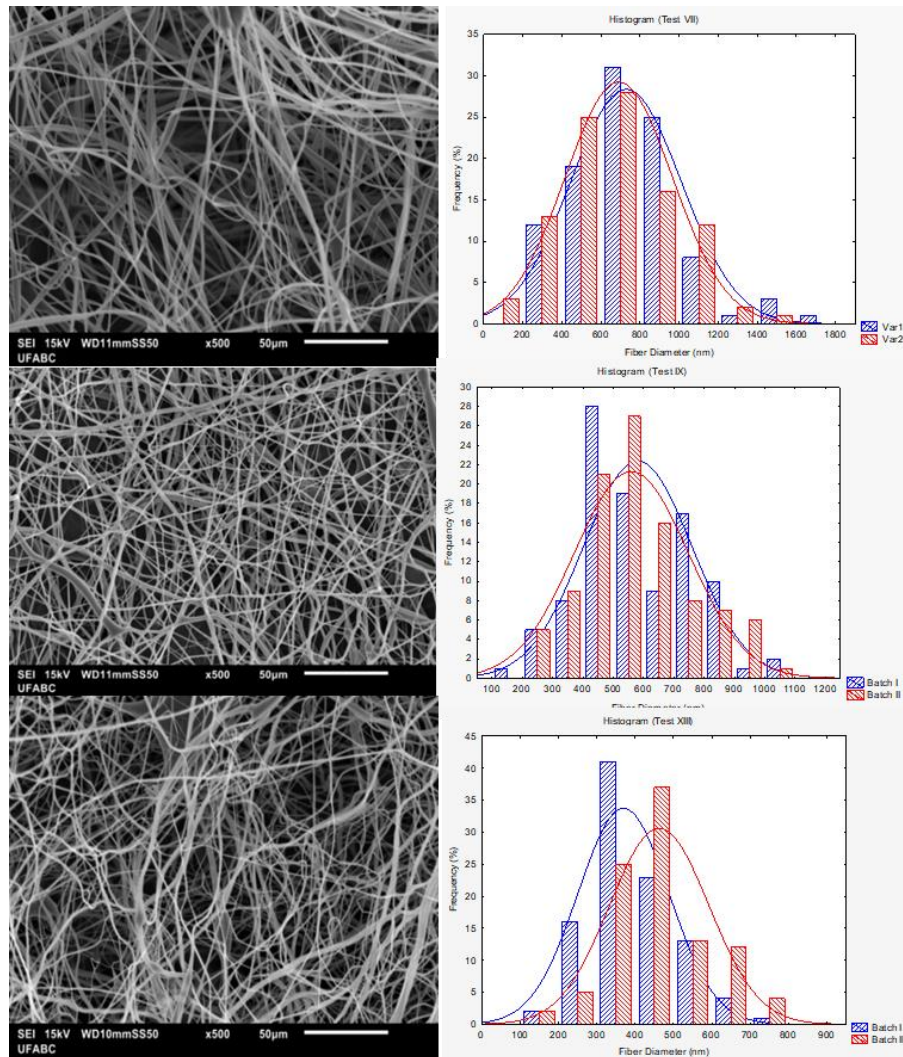
**Figura 4** – Imagens de Microscopia Eletronica de Varredura das fibras, com as respectivas distribuições de tamanho, de PVA (a) e Pululana (b), utilizando como solvente a mistura DMSO:água na proporção 50:50 (v/v).

As imagens apresentadas na figura 4 são referentes às fibras de PVA e Pululana obtidas quando o percentual de DMSO utilizado no solvente foi de 50% (v/v). As fibras de Pululana apresentam um diâmetro médio de  $(946 \pm 30)$  nm, com uma distribuição dos diâmetros bastante larga, numa faixa de 940 a 3500 nm. No caso das fibras de PVA, um diâmetro médio de  $316 \pm 57$  nm e uma distribuição de 543 nm a 1100 nm foram obtidos.

Pode se destacar que a adição de DMSO, na proporção de 50%, provoca uma pequena diminuição do diâmetro das fibras de PVA. Este comportamento é esperado, pois o DMSO promove uma redução da volatilidade da mistura de solvente, permitindo que a o jato polimérico se alongue por mais tempo, antes da evaporação completa do solvente, gerando fibras mais delgadas. Contudo, as fibras de Pululana apresentam um comportamento oposto do esperado, o que pode ser explicado por alguma alteração reológica da solução provocada pela adição de DMSO.

As fibras produzidas utilizando misturas de solvente contendo DMSO ou misturas de polímeros foram realizadas em duplicatas que denominamos Batch I e II, proximidade entre as duas curvas indica o grau de reprodutibilidade do ensaio.

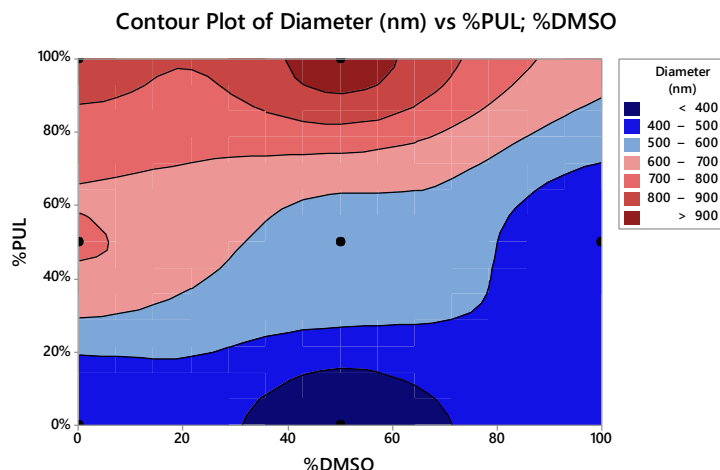
A figura 5 apresenta as imagens de MEV e histogramas das fibras com composição polimérica PUL:PVA 50:50 e com diferentes proporções de DMSO na mistura de solventes.



**Figura 5** – Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura das fibras, com as respectivas distribuições de tamanho, obtidas com as blendas PUL:PVA 50:50 (v/v) utilizando como solvente a mistura DMSO:água nas proporções de 0:100 (v/v) (a), 50:50 (v/v) (b) e 100:0 (v/v) (c).

Conforme esperado, as fibras obtidas com as blendas PUL:PVA 50:50 (figuras 5a e 5b) têm um diâmetro médio intermediário ao das fibras formadas com PVA puro (PUL:PVA 0:100, figura 3a) e pululana pura (PUL:PVA 100:0, figura 3b). Nota-se também que o acréscimo de DMSO na mistura de solvente de 0% para 100% promoveu a redução de cerca de 300 nm no diâmetro médio das fibras de PVA:PUL 50:50 (v/v).

Na figura 6, é mostrado um gráfico de contorno de interpolação como tentativa de representar a variação do diâmetro das fibras em função das variáveis avaliadas, a composição da blenda polimérica (% de pululana) e a proporção volumétrica de DMSO no solvente (% DMSO).

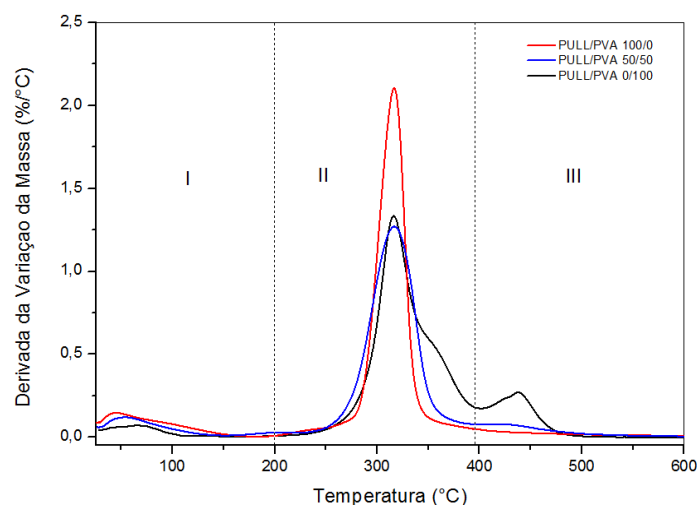


**Figura 6** – Gráfico de contorno para representar o comportamento do diâmetro médio das fibras

Nota-se que há uma tendência das fibras produzidas por rotofiação a se tornarem mais espessas quando se aumenta o percentual de Pululana na blenda. Além disso, à medida que aumenta a porcentagem de DMSO no solvente, ocorre uma redução do diâmetro das fibras, em decorrência da redução da volatilidade do solvente, que faz com que o jato polimérico seja esticado por um intervalo de tempo maior antes da evaporação completa do solvente; portanto, as fibras formadas resultam mais finas em comparação ao uso de somente água como solvente. Contudo, este comportamento nem sempre ocorre de forma monotônica, dado que as alterações na composição do solvente não afetam apenas a volatilidade da solução polimérica, mas também as suas propriedades reológicas.

### Análise Térmica

A estabilidade térmica das fibras obtidas por rotofiação foi analisada por termogravimetria diferencial (DTGA) utilizando o equipamento termográfico Q500 (TA Instruments). A figura 7 apresenta as curvas de análise térmica diferencial das diferentes composições poliméricas utilizadas neste trabalho.



**Figura 7** – Análise térmica diferencial das mantas fibrosas com composições PUL:PVA 0:100 (v/v) em vermelho, PUL:PVA 50:50 (v/v) em azul e PUL:PVA 100:0 (v/v) em preto.



A região I da figura 7 representa predominantemente a perda de solvente residual nas fibras. Comparando as fibras compostas apenas de PVA (PUL:PVA 0:100) ou Pululana (PUL:PVA 100:0), nota-se que as de Pululana apresentam maior perda de massa, associada à evaporação do solvente. Na faixa de temperatura entre 40° C e 150 ° C, cerca de 11% da massa das fibras de Pululana é perdida enquanto para as fibras de PVA puro a perda de massa foi de 4% indicando forte interação entre cadeias moleculares do PVA com solvente. A região II mostra que as fibras compostas de Pululana apresentam baixa estabilidade térmica acima de 300° C em relação às fibras compostas de PVA. Quando a temperatura alcança cerca de 220 °C a Pululana começa a ser degradada, um comportamento esperado devido à baixa estabilidade térmica dos polissacarídeos (Xu, Weng, Gilkerson, Materon, & Lozano, 2015), e quando a temperatura alcança 330°C cerca de 74% da massa das fibras de Pululana são degradadas, restando apenas um resíduo de massa na região III.

As fibras compostas de PVA (PUL:PVA 0:100) começam a degradar a 300 °C, conforme demonstrado na região II, a esta temperatura os grupos hidroxila são removidos e a perda de massa resultante da origem aos pico apresentado a 396 °C, posteriormente a aproximadamente 420 °C ocorre a para degradação das cadeias de carbono lineares (Lee et al., 2010), promovendo a perda de 91% de composição de massa das fibras até 458 ° C e restando apenas 5% de massa residual.

Para as fibras compostas pelas blendas de PUL:PVA 50:50 nota-se um comportamento misto, e que as propriedades de resistência térmica do PVA são acrescentadas à blendas[, como se pode observar que ocorre uma extensão na faixa de temperatura de degradação a medida que o PVA é acrescentado, como pode ser observado na região II à 350 a redução dos azul (PUL:PVA 100:0) para o verde (PUL:PVA 50:50). Estes resultados reforçam a compatibilidade das blendas dado que a mistura destes polímeros tem permitido não apenas produzir fibras livres de imperfeições e de diferentes diâmetros das fibras, mas também elevar as propriedades térmicas do material, tornando as fibras mais resistentes a altas temperaturas.

## CONCLUSÃO

Conclui-se neste trabalho que foi possível produzir fibras de PVA e Pululana por rotofiação, e que a alteração da proporção dos polímeros e solvente na blenda permitem a obtenção de fibras com diferentes distribuições de diâmetro médio.

Notou-se também que ao elevar o percentual de DMSO no solvente reduz-se o diâmetro médio das fibras, um resultado já esperado devido à sua menor volatilidade, e que o acréscimo de DMSO também altera as propriedades reológicas do sistema. Também foi evidenciado que a Pululana tende a formar fibras mais grossas enquanto o PVA tende a formar fibras mais finas.

## AGRADECIMENTOS

Centrais Experimentais Multiusuário (CEMs) da UFABC pela disponibilidade dos equipamentos Microscópio Eletrônico de Varredura Compacto (JSM-6010L JEOL) e Analisador termográfico Q500 (TA Instruments).

Professora Daniela Ribeiro por gentilmente nos disponibilizar a utilização do Reometro Kinexus Lab (Malvern Instruments Ltd., UK).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

Arora, A., Sharma, P., & Katti, D. S. (2015). Pullulan-based composite scaffolds for bone tissue engineering: improved osteoconductivity by pore wall mineralization. *Carbohydrate polymers*, 123, 180-189.

- Autissier, A., Letourneur, D., & Le Visage, C. (2007). Pullulan-based hydrogel for smooth muscle cell culture. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 82(2), 336-342.
- Badrossamay, M. R., McIlwee, H. A., Goss, J. A., & Parker, K. K. (2010). Nanofiber Assembly by Rotary Jet-Spinning. *Nano letters*, 10(6), 2257-2261. doi: 10.1021/nl101355x
- Castellano, D., Sanchis, A., Blanes, M., Pérez del Caz, M. D., Ruiz-Saurí, A., Piquer-Gil, M., . . . Ontoria-Oviedo, I. (2018). Electrospun poly (hydroxybutyrate) scaffolds promote engraftment of human skin equivalents via macrophage M2 polarization and angiogenesis. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 12(2), e983-e994.
- Chen, F., Yu, S., Liu, B., Ni, Y., Yu, C., Su, Y., . . . Yan, D. (2016). An injectable enzymatically crosslinked carboxymethylated pullulan/chondroitin sulfate hydrogel for cartilage tissue engineering. *Scientific reports*, 6, 20014.
- Cheng, G., Cai, Z., & Wang, L. (2003). Biocompatibility and biodegradation of poly (hydroxybutyrate)/poly (ethylene glycol) blend films. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 14(12), 1073-1078.
- Chi, Z., & Zhao, S. (2003). Optimization of medium and cultivation conditions for pullulan production by a new pullulan-producing yeast strain. *Enzyme and Microbial Technology*, 33(2-3), 206-211.
- Dhandayuthapani, B., Krishnan, U. M., & Sethuraman, S. (2010). Fabrication and characterization of chitosan-gelatin blend nanofibers for skin tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 94B(1), 264-272. doi: 10.1002/jbm.b.31651
- Halim, A. S., Khoo, T. L., & Yussof, S. J. M. (2010). Biologic and synthetic skin substitutes: An overview. *Indian journal of plastic surgery: official publication of the Association of Plastic Surgeons of India*, 43(Suppl), S23.
- Joseph, B., Augustine, R., Kalarikkal, N., Thomas, S., Seantier, B., & Grohens, Y. (2019). Recent advances in electrospun polycaprolactone based scaffolds for wound healing and skin bioengineering applications. *Materials Today Communications*, 19, 319-335.
- Leon-Villapalos, J., Eldardiri, M., & Dziewulski, P. (2010). The use of human deceased donor skin allograft in burn care. *Cell and tissue banking*, 11(1), 99-104.
- Na, K., Shin, D., Yun, K., Park, K.-H., & Lee, K. C. (2003). Conjugation of heparin into carboxylated pullulan derivatives as an extracellular matrix for endothelial cell culture. *Biotechnology letters*, 25(5), 381-385.
- Oliva, E. M., Cirelli, A. F., & de Lederkremer, R. M. (1986). Characterization of a pullulan in *Cyttaria darwinii*. *Carbohydrate research*, 158, 262-267.
- Philippini, R., Martiniano, S., Marcelino, P., Santos, J., & Da Silva, S. (2018). Corn-bran hydrolysate as low-cost media for lasiodiplodan biopolymer by filamentous fungi *Lasiodiplodia theobromae*. *Exploring Microorganisms: Recent Advances in Applied Microbiology*, 134.
- Rabbani, M. M., Yang, S. B., Park, S.-J., Oh, W., & Yeum, J. H. (2016). Characterization of Pullulan/Chitosan Oligosaccharide/Montmorillonite Nanofibers Prepared by Electrospinning Technique. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 16(6), 6486-6493.
- Reis, R. A., Tischer, C. A., Gorin, P. A., & Iacomini, M. (2002). A new pullulan and a branched (1→3)-, (1→6)-linked β-glucan from the lichenised ascomycete *Teloschistes flavicans*. *FEMS microbiology letters*, 210(1), 1-5.
- Rnjak-Kovacina, J., & Weiss, A. S. (2011). Increasing the Pore Size of Electrospun Scaffolds. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 17(5), 365-372. doi: 10.1089/ten.teb.2011.0235
- Silva, M. d. L. C. d., Martinez, P. F., Izeli, N. L., Silva, I. R., Vasconcelos, A. F. D., Cardoso, M. d. S., . . . Barbosa, A. d. M. (2006). Caracterização química de glucanas fúngicas e suas aplicações biotecnológicas. *Química Nova*, 85-92.
- Strassburg, S., Caduc, M., Stark, G. B., Jedrusik, N., Tomakidi, P., Steinberg, T., . . . Finkenzeller, G. (2019). In vivo evaluation of an electrospun gelatin nonwoven mat for regeneration of epithelial tissues. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*.
- Sueiro, A. C., Faria-Tischer, P. C., Lonni, A. A., & Mali, S. (2016). FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO DE MANDIOCA, PULULANA E CELULOSE BACTERIANA. *Quim. Nova*, 39(9), 1059-1064.
- Taboada, O. M., CARVALHO, R. A. d., & Sobral, P. J. d. A. (2008). Análise dinâmico-mecânica: aplicações em filmes comestíveis. *Química Nova*, 31(2), 384-393.
- Wheatley, D., Raco, L., Bernacca, G., Sim, I., Belcher, P., & Boyd, J. (2000). Polyurethane: material for the next generation of heart valve prostheses? *European journal of cardio-thoracic surgery*, 17(4), 440-448.
- Wong, V. W., Rustad, K. C., Galvez, M. G., Neofytou, E., Glotzbach, J. P., Januszyk, M., . . . Rajadas, J. (2010). Engineered pullulan-collagen composite dermal hydrogels improve early cutaneous wound healing. *Tissue Engineering Part A*, 17(5-6), 631-644.