

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALINE GREIN IANKOVSKI

RELAÇÃO ENTRE AS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E FÍSICO-QUÍMICAS DA
GOMA DE *Acacia mearnsii* (ACÁCIA-NEGRA) CULTIVADA NO BRASIL EM
COMPARAÇÃO À GOMA DE ACÁCIA COMERCIAL

CURITIBA

2016

ALINE GREIN IANKOVSKI

RELAÇÃO ENTRE AS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E FÍSICO-QUÍMICAS DA
GOMA DE *Acacia mearnsii* (ACÁCIA-NEGRA) CULTIVADA NO BRASIL EM
COMPARAÇÃO À GOMA DE ACÁCIA COMERCIAL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Química da Universidade Federal do Paraná
como requisito parcial à obtenção do título de Doutora
em Química.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Izabel C. Riegel Vidotti
Coorientadora: Dr.^a Fernanda F. Simas Tosin

CURITIBA

2016

Iankovski, Aline Grein

Relação entre as propriedades estruturais e físico-químicas da goma de *Acacia mearnsii* (Acácia-negra) cultivada no Brasil em comparação à goma de acácia comercial / Aline Grein Iankovski. – Curitiba, 2016.
124 f. : il., tabs.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química.

Orientador: Izabel C. Riegel Vidotti

Coorientadora: Fernanda F. Simas Tosin

Bibliografia: p. 108-123

1. Acácia. 2. Físico-química. 3. Reologia. I. Vidotti, Izabel C. Riegel. II. Tosin, Fernanda F. Simas. III. Título.

CDD 546

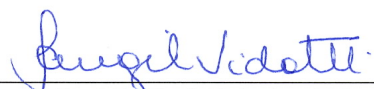
TERMO DE APROVAÇÃO

**RELAÇÃO ENTRE AS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E FÍSICO-
QUÍMICAS DA GOMA DE ACACIA MEARNsii (ACÁCIA-NEGRA)
CULTIVADA NO BRASIL EM COMPARAÇÃO À GOMA DE ACÁCIA
COMERCIAL**

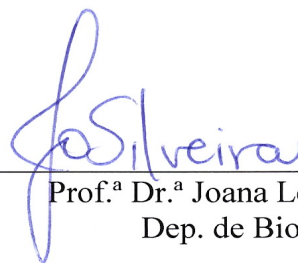
por

ALINE GREIN IANKOVSKI

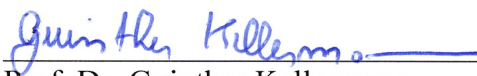
Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Química, pela Comissão Examinadora composta por:



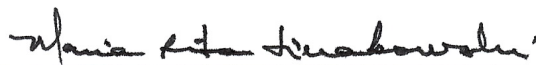
Prof.^a Dr.^a Izabel Cristina Riegel Vidotti
Orientador
Dep. de Química – UFPR



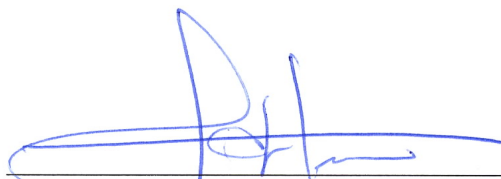
Prof.^a Dr.^a Joana Lea Meira Silveira
Dep. de Bioquímica – UFPR



Prof. Dr. Guinther Kellermann
Dep. de Física – UFPR



Prof.^a Dr.^a Maria Rita Sierakowski
Dep. de Química – UFPR



Prof. Dr. Marcio Eduardo Vidotti Miyata
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 30 de março de 2016.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e por iluminar os caminhos que me permitiram chegar até aqui.

A Prof.^a Izabel C. Riegel Vidotti pela orientação, pelos conselhos, pelo exemplo de profissionalismo e por todos os ensinamentos e oportunidades durante esses seis anos de convivência.

A Prof.^a Fernanda F. Simas Tosin pela orientação, pelos ensinamentos, pela sua dedicação e colaboração nos experimentos, pelos seus questionamentos instigadores e pelas recorrentes palavras de motivação.

Ao Prof. Mateus Borba Cardoso pela imensa colaboração em vários momentos da minha formação, pelo seu exemplo de pesquisador, pelas oportunidades proporcionadas e pelas medidas de potencial zeta.

A Prof.^a Elisa Souza Orth pela colaboração e discussões a respeito dos experimentos de titulação potenciométrica e ao aluno José Guilherme Lopes Ferreira pela disponibilidade e dedicação na realização dos experimentos.

A Prof.^a Maria Rita Sierakowski por toda a ajuda desde o mestrado e pela colaboração em disponibilizar a infraestrutura do Biopol para o desenvolvimento do trabalho.

Aos professores que compuseram a banca do exame de qualificação, Marcello Iacomini, Elisa Souza Orth e Mateus Borba Cardoso, pela disponibilidade em avaliar o trabalho e pelas relevantes contribuições.

Aos professores Edvani Curti Muniz, Guinther Kellermann, Joana Léa Meira Silveira, Maria Rita Sierakowski e Marcio Eduardo Vidotti por aceitarem participar da banca de defesa e pela disponibilidade em avaliar o trabalho.

Aos colegas do grupo de pesquisa pela colaboração nos experimentos, pelas discussões de grupo e por todo o aprendizado compartilhado.

Ao meu esposo Hector R. Iankovski por todo amor, carinho e paciência. Obrigada pelo seu apoio e, mais do que isso, por embarcar comigo nessa jornada e por estar sempre presente compartilhando todos os momentos.

A toda a minha família pelo apoio, pelo carinho, por compreenderem as ausências e por torcerem e vibrarem comigo a cada conquista.

A todos os meus amigos de coração que, direta ou indiretamente, estiveram presentes nessa etapa da minha formação, pelo apoio, pelas conversas, pelos momentos compartilhados, enfim, pela amizade sincera e essencial.

Aos colegas de laboratório pela convivência, parceria e por todos os momentos de descontração.

A empresa SETA® pelo fornecimento da goma de acácia-negra.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Paraná e aos professores que contribuíram para a minha formação.

A CAPES pelo auxílio financeiro através do programa REUNI e do programa PDSE.

I would like to express my sincere gratitude to Dr. Alec R. Sandy for providing me the opportunity to work with him at the Advanced Photon Source, for the continuous support, guidance, for his patience teaching me about the XPCS principles and for the insightful discussions.

My sincere thanks also goes to Dr. Robert L. Leheny for his valuable contribution to this work, for the insightful discussions and suggestions and for sharing his immense knowledge with me.

Many thanks to all Time-Resolved Research group members, especially of Sector 8, for their kindness welcome and support. Very special thanks to Dr. Suresh Narayanan for his continuous support and assistance at the beamline and for introducing me to the XPCS operational procedures. I would also like to thank Dr. Jonghun Lee for his generous collaboration during my whole time at APS, for the immense support, for our discussions and exchanges of knowledge and for his friendship.

I wish to thank the Advanced Photon Source and the Center for Nanoscale Materials operated for the DOE Office of Science by Argonne National Laboratory for the resources and facilities.

Enfim, a todos que de uma maneira ou de outra contribuíram para a realização desse trabalho e para a minha formação profissional o meu MUITO OBRIGADO!

“There is no such thing as a 'self-made' man. We are made up of thousands of others. Everyone who has ever done a kind deed for us, or spoken one word of encouragement to us, has entered into the make-up of our character and of our thoughts, as well as our success.”

George Matthew Adams

RESUMO

Neste trabalho é apresentado um estudo estrutural e físico-químico da goma de *Acacia mearnsii* (GN) coletada no Brasil em comparação à goma de acácia comercial (GA). GA e GN são compostas por unidades de ramnose, arabinose, galactose e ácido glucurônico em proporções molares distintas e contém aproximadamente 3 e 7% de proteína, respectivamente. A GN apresenta uma maior dispersão e menor massa molar ponderal média (M_w) do que a GA, mas ocupa um maior volume hidrodinâmico (maior viscosidade intrínseca - $[\eta]$) e apresenta um maior raio de giro (R_g), indicando uma maior rigidez na cadeia. Essa rigidez é resultante da sua estrutura mais ramificada associada à presença de ácidos urônicos. Pela amostra GN carboxi-reduzida (GN-CR) evidenciou-se a contribuição dos grupos ácidos para essa característica. A amostra GN-CR apresentou uma redução no valor da $[\eta]$ e um menor R_g com relação à amostra original (GN). A GN, apresenta uma menor variação no pK_a com a concentração, cujos valores são menores do que os da GA em toda a faixa analisada. A maior acidez dos grupos carboxílicos da GN é favorecida pela interação com a fração proteica, mais abundante nessa amostra. O teor proteico influencia também no grau de associação das gomas de acácia. A GN apresenta a formação de microdomínios mais hidrofóbicos do que a GA, a qual é favorecida pelo aumento da força iônica da solução. Os perfis de SAXS (espalhamento de raios X a baixo ângulo) mostraram que a estrutura da GA e GN é formada por diferentes níveis, condizentes com a morfologia de um elipsoide oblato. Com o aumento da concentração observa-se, principalmente para a GA, a formação de uma organização estrutural. A dinâmica em escala microscópica analisada por XPCS (espectroscopia de fotocorrelação de raios X), utilizando nanopartículas de ouro (AuNPs) como sonda, mostraram que a GA e GN em regime semidiluído apresentam um comportamento não difusivo característico da relaxação de pontos de tensão formados na estrutura desses materiais. A GN, entretanto, apresentou um decaimento exponencial em duas etapas, que corresponde a um movimento rápido e difusivo, mas restrito espacialmente. A dimensão desses interstícios foi estimada pelo deslocamento quadrático médio ($\langle \bar{r}^2 \rangle$) das AuNPs, cujos valores são próximos aos calculados pelo módulo elástico (G') obtido por reologia. Ao que se tem conhecimento, esse é o primeiro relato da conexão direta entre a dinâmica observada em escala microscópica por XPCS com o comportamento reológico macroscópico por reologia para um biopolímero com essa complexidade estrutural. As análises reológicas mostraram que a GN se apresenta como um gel nas concentrações de 15 a 30%, cuja força é aumentada quando permanece em repouso. Também apresentam um comportamento pseudoplástico que, com o repouso, mostra a presença de dois eventos dilatantes dentro do perfil pseudoplástico, típico de polímeros associativos. Os resultados apresentados demonstram a grande variabilidade existente entre gomas de acácia de diferentes espécies e colaboram para evidenciar as características de uma goma cultivada no Brasil.

Palavras-chave: goma de acácia, acácia-negra, propriedades físico-químicas, SAXS, XPCS, reologia

ABSTRACT

We report a study on the structural and physicochemical properties of a Brazilian *Acacia mearnsii* gum (GN) comparatively to a commercially available gum acacia (GA). GA and GN were composed by rhamnose, arabinose, galactose and glucuronic acid units in different molar ratios and contain around 3 and 7% of protein, respectively. GN has a lower M_w with a broader distribution than GA, although, it presents a less compact macromolecule with a larger hydrodynamic volume ($[\eta]$) and R_g , suggesting a stiffer structure. This rigidity is related to the GN branched structure along with its charged feature from the glucuronic acid units. The contribution of the acid units to this feature was evidenced by the carboxy-reduced GN (GN-CR), which presented half of the $[\eta]$ value of the primitive GN sample and a smaller R_g . The stiffer GN structure also reflects in a narrow variation of pK_a (acid groups) with concentration and its lower values are associated with the higher protein content in GN sample compared to GA. The higher protein content of GN also favors its association degree, which is enhanced as the environmental ionic strength increases. GA and GN SAXS profiles revealed different structural levels consistent with an oblate ellipsoid morphology. At higher concentrations a structure peak evolves (remarkably for GA). The microscopic dynamics of GA and GN at semi-diluted regime was characterized by X-ray photon correlation spectroscopy (XPCS) using gold nanoparticles as probes. Both samples showed non-diffusive compressed exponentials associated with relaxation of a heterogeneous local stress. The GN, however, showed a missing amplitude implying a partial decay at inaccessibly short times due to rapid and localized motion of the nanoparticles. The characteristic range of this localized motion was estimated through the calculated mean square displacement values ($\langle \bar{r}^2 \rangle$). We found a good relationship between the $\langle \bar{r}^2 \rangle$ obtained from XPCS and the $\langle \bar{r}^2 \rangle$ values calculated based on the elastic modulus (G') of the material analyzed by rheology that, to the best of our knowledge, for the first time demonstrates the simple connection between the XPCS microscopic scale dynamics with the macroscopic mechanical properties of such a complex biopolymer. The 15% to 30% GN solutions have a gel-like linear rheology and exhibit an evident pseudoplastic behavior. In the course of time it was noted a strengthening of the gels and also the emergence of a shear thickening behavior followed by shear thinning, characteristic of associative polymers. The results thus demonstrates the large variability found between different *Acacia* species and contributes to highlight the distinctive features of a Brazilian gum.

Keywords: acacia gum, black-wattle, physicochemical properties, SAXS, XPCS, rheology.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	MODELO ESTRUTURAL PROPOSTO PARA A FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DA GOMA DE <i>A. senegal</i> (GA).....	20
FIGURA 2 -	REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO MODELO <i>WATTLE-BLOSSOM</i> PROPOSTO PARA A ESTRUTURA DA FRAÇÃO AGP.....	22
FIGURA 3 -	ESTRUTURA PROPOSTA PARA A FRAÇÃO AGP DA GOMA DE <i>A. senegal</i> : (A) SUBSUNIDADES QUE COMPÕE A ESTRUTURA AGP. (B) MODELO PROPOSTO PARA A ESTRUTURA DA AGP CONSIDERANDO UMA ASSOCIAÇÃO MACROMOLECULAR.....	24
FIGURA 4 -	REFLORESTAMENTO DE ACÁCIA NEGRA (<i>A. mearnsii</i>) NO BRASIL. EM DESTAQUE O EXSUDATO GOMOSO OBTIDO DESSAS ÁRVORES.....	27
FIGURA 5 -	REPRESENTAÇÃO DA GEOMETRIA DE UM EXPERIMENTO DE SAXS.....	29
FIGURA 6 -	REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS TIPOS DE INTERFACE CORRESPONDENTES A CADA FAIXA DE EXPOENTE DE DECAIMENTO P OBSERVADO POR SAXS.....	31
FIGURA 7 -	REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UM EXPERIMENTO DE XPCS.....	33
FIGURA 8 -	FLUXOGRAMA DAS ETAPAS DO PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO DA GOMA DE <i>A. mearnsii</i>	38
FIGURA 9 -	REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA REAÇÃO DE CARBOXI-REDUÇÃO PARA A GOMA DE ACÁCIA ATRAVÉS DA FORMAÇÃO DE UM INTERMEDIÁRIO O-ACILISOURÉIA....	39
FIGURA 10 -	MECANISMO PROPOSTO PARA A REAÇÃO DE CARBOXI-REDUÇÃO DA GOMA DE ACÁCIA NAS CONDIÇÕES REALIZADAS.....	40
FIGURA 11 -	PORTA-AMOSTRAS UTILIZADO NAS ANÁLISES DE XPCS. A FLECHA APONTA PARA O ORIFÍCIO EM QUE O FEIXE DE RAIOS X É INCIDIDO SOBRE A AMOSTRA QUANDO POSICIONADA NA LINHA DE LUZ.....	51
FIGURA 12 -	CROMATOGRAMAS DAS AMOSTRAS GA, GN E GN-CR OBTIDOS POR SEC. AS LINHAS PONTILHADAS REPRESENTAM A DECONVOLUÇÃO DO SINAL DE RI DAS AMOSTRAS GN E GN-CR.....	56

FIGURA 13 -	POTENCIAL ZETA DAS SOLUÇÕES DE GA E GN (10,0 mg mL ⁻¹) EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NaCl.....	59
FIGURA 14 -	CURVA DE DISTRIBUIÇÃO DO POTENCIAL ZETA DAS AMOSTRAS DE GN E GN-CR (10,0 mg mL ⁻¹) EM AGUA.....	60
FIGURA 15 -	VISCOSIDADE REDUZIDA (η_{red}) EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE GA E GN SOLUBILIZADAS EM ÁGUA.....	61
FIGURA 16 -	INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE NaCl NA VISCOSIDADE RELATIVA DAS SOLUÇÕES DAS GOMAS GA E GN (10,0 mg mL ⁻¹).....	62
FIGURA 17 -	GRÁFICO DE HUGGINS PARA A GA E GN EM NaCl 1,0 mol L ⁻¹ E GN-CR EM H ₂ O.....	63
FIGURA 18 -	ESPECTROS DE EMISSÃO DE FLUORESCÊNCIA DO PIRENO NA PRESENÇA DE SOLUÇÕES DE GA (10 mg mL ⁻¹) CONTENDO CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE NaCl: DE ZERO À 2,5 mol L ⁻¹ .	66
FIGURA 19 -	RELAÇÃO ENTRE AS BANDAS I E III DE EMISSÃO DO PIRENO EM ÁGUA E EM SOLUÇÕES DE GA E GN (10 mg mL ⁻¹) EM CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE NaCl.....	66
FIGURA 20 -	CURVAS DE TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA DAS GOMAS GA E GN (10 mg mL ⁻¹ , 25 °C) COM KOH 0,1 mol L ⁻¹ . AS LINHAS CORRESPONDEM AO AJUSTE OBTIDO PELO PROGRAMA BEST7.....	69
FIGURA 21 -	REPRESENTAÇÃO DAS ESPÉCIES ENVOLVIDAS NO EQUILÍBRIO DE IONIZAÇÃO (pK_a^1 E pK_a^2) DAS GOMAS DE ACÁCIA.....	71
FIGURA 22 -	VARIAÇÃO DO VALOR pK_a^1 EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE GA E GN EM ÁGUA.....	72
FIGURA 23 -	VARIAÇÃO NOS VALORES DE pK_a DOS GRUPOS ÁCIDOS (pK_a^1) E DOS GRUPOS DA FRAÇÃO PROTEICA (pK_a^2) EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NaCl NO MEIO PARA A GA E GN (10 mg mL ⁻¹).....	75
FIGURA 24 -	PERFIS DE SAXS DAS AMOSTRAS GA E GN (0,1% m/m EM NaCl 0,1 mol L ⁻¹ , 20°C) E OS RESPECTIVOS AJUSTES PELO MODELO UNIFICADO.....	76
FIGURA 25 -	PERFIS DE SAXS DAS AMOSTRAS GN E GN-CR (0,1% m/m, 20°C) E OS RESPECTIVOS AJUSTES PELO MODELO UNIFICADO.....	78
FIGURA 26 -	PERFIS DE SAXS PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GA (0,1 A 40,0% m/m) E GN (0,1 A 30,0% m/m). AS FLECHAS INDICAM O AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO.....	80

FIGURA 27 -	FATOR INTERFERÊNCIA CALCULADO PARA AS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GA E GN.....	81
FIGURA 28 -	ASPECTO MACROSCÓPICO DAS AMOSTRAS GN 20% E GA 40% EVIDENCIANDO A DIFERENÇA NA VISCOSIDADE DAS SOLUÇÕES.....	83
FIGURA 29 -	FUNÇÕES DE AUTOCORRELAÇÃO g_2 ($q= 0.03 \text{ nm}^{-1}$) PARA AS AMOSTRAS GA 40% (m/m) E GN 25% (m/m) COM E SEM A PRESENÇA DE NANOPARTÍCULAS DE OURO.....	84
FIGURA 30 -	ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV-VIS DA FORMAÇÃO DAS AuNPs NA PRESENÇA DE GA PELA ADIÇÃO PERIÓDICA DE NaBH_4 (INDICADO PELA SETA) INSERÇÃO: ASPECTO VISUAL DA SOLUÇÃO NO INÍCIO E NO FINAL DA SÍNTESE.....	85
FIGURA 31 -	IMAGEM OBTIDA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO DAS AuNPs SINTETIZADAS NA PRESENÇA DE GA.....	86
FIGURA 32 -	PERFIL DE SAXS DAS AuNPs E O RESPECTIVO AJUSTE MATEMÁTICO (LINHA VERMELHA).....	87
FIGURA 33 -	CURVA DE DISTRIBUIÇÃO DO RAIOS HIDRODINÂMICO (R_h) DAS AuNPs.....	87
FIGURA 34 -	COMPARAÇÃO ENTRE OS PERFIS DE SAXS DAS AuNPs, DAS SOLUÇÕES DE GA (40%) E GN (25%) E DAS DISPERSÕES FINAIS FORMADAS PELA COMBINAÇÃO DAS AuNPs + GA 40% OU GN 25%.....	88
FIGURA 35 -	ASPECTO VISUAL DOS CAPILARES CONTENDO AS AMOSTRAS AuNPs, AuNPs + GA 40% e AuNPs + GN 25% (DA ESQUERDA PARA A DIREITA).....	89
FIGURA 36 -	COMPARAÇÃO ENTRE OS PERFIS DE SAXS DAS DISPERSÕES DE AuNPs CONTENDO CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE GA (ESQUERDA) E GN (DIREITA).....	89
FIGURA 37 -	FUNÇÕES DE AUTOCORRELAÇÃO DE INTENSIDADE (g_2) EM $q = 0,059 \text{ nm}^{-1}$ PARA AS AuNPs EM CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE GA (ESQUERDA) E GN (DIREITA). A LINHA PONTILHADA REPRESENTA O VALOR DO CONTRASTE MEDIDO COM UMA AMOSTRA ESTÁTICA (AEROGEL) E OS SÍMBOLOS X REPRESENTAM A MEDIDA DAS AuNPs EM ÁGUA (LINHA DE BASE).....	90

FIGURA 38 -	TEMPO DE RELAXAÇÃO CARACTERÍSTICO (τ) EM FUNÇÃO DO MÓDULO DO VETOR DE ESPALHAMENTO q PARA AS AuNPs EM CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE GA (ESQUERDA) E GN (DIREITA). AS LINHAS REPRESENTAM O AJUSTE LINEAR COM COEFICIENTE ANGULAR ENTRE 0,9 – 1,1.....	92
FIGURA 39 -	RELAÇÃO ENTRE O LOGARITMO NATURAL DA AMPLITUDE DE $g_2(q,t)$ E q^2 PARA AS DISPERSÕES DE AuNPs EM GN. AS LINHAS REPRESENTAM O AJUSTE OBTIDO PELA EQUAÇÃO 15.....	93
FIGURA 40 -	MÓDULO ELÁSTICO G' (SÍMBOLOS PREENCHIDOS) E MÓDULO VISCOSO G'' (SÍMBOLOS ABERTOS) PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GN EM FUNÇÃO DO TEMPO DE RECUPERAÇÃO APÓS O PRÉ-CISALHAMENTO ATÉ 1000 s^{-1} ($\sigma = 0,01 \text{ Pa}$, $\omega = 1 \text{ rad/s}$, $T = 25^\circ\text{C}$).....	95
FIGURA 41 -	RAZÃO ENTRE O MÓDULO VISCOSO (G'') E O MÓDULO ELÁSTICO (G') PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GN EM FUNÇÃO DO TEMPO DE RECUPERAÇÃO APÓS O PRÉ-CISALHAMENTO ATÉ 1000 s^{-1} ($\sigma = 0,01 \text{ Pa}$, $\omega = 1 \text{ rad/s}$, $T = 25^\circ\text{C}$).....	96
FIGURA 42 -	CURVAS DE VISCOSIDADE DAS SOLUÇÕES DE GN (15, 20, 25 E 30%) EM FUNÇÃO DO AUMENTO (SÍMBOLOS) E DECRÉSCIMO (LINHAS) DA TAXA DE CISALHAMENTO ($\dot{\gamma}$) NO (A) ESTADO INICIAL E (B) APÓS PRÉ-CISALHAMENTO (ATÉ 1000 s^{-1}) SEGUIDO DE 20 HORAS DE RECUPERAÇÃO.....	98
FIGURA 43 -	VARREDURAS DE FREQUÊNCIA PARA AS SOLUÇÕES DE GN (15, 20, 25 E 30%) NO ESTADO INICIAL (AZUL) E APÓS PRÉ-CISALHAMENTO (ATÉ 1000 s^{-1}) SEGUIDO DE 20h DE RECUPERAÇÃO (VERMELHO). G' = SÍMBOLOS PREENCHIDOS, G'' SÍMBOLOS ABERTOS. AS BARRAS REPRESENTAM O DESVIO PADRÃO ENTRE DOIS EXPERIMENTOS INDEPENDENTES.....	100
FIGURA 44 -	DESLOCAMENTO QUADRÁTICO MÉDIO ($\langle \bar{r}^2 \rangle^{1/2}$) DAS AuNPs EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE GN CALCULADO POR XPCS E POR REOLOGIA. INSERÇÃO: RAZÃO $\langle \bar{r}^2 \rangle^{1/2}_{Reologia} / \langle \bar{r}^2 \rangle^{1/2}_{XPCS}$ EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE GN.....	102
FIGURA 45 -	PERFIS DE SAXS PARA AS AuNPs FUNCIONALIZADAS COM PEO ($M_n = 800$ e 2000 g mol^{-1}) E DAS DISPERSÕES FORMADAS COM GN 25% (m/m).....	103

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA E TEOR PROTEICO DAS GOMAS DE <i>A. senegal</i> E <i>A. seyal</i>	19
TABELA 2 -	COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS DAS GOMAS DE <i>A. senegal</i> E <i>A. seyal</i>	21
TABELA 3 -	COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA REPORTADA NA LITERATURA PARA A GOMA DE <i>A. mearnsii</i>	28
TABELA 4 -	COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA E TEOR PROTEICO DAS AMOSTRAS GA, GN E GN- CR.....	54
TABELA 5 -	DADOS OBTIDOS POR SEC PARA AS AMOSTRAS GA, GN E GN-CR.....	58
TABELA 6 -	PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DAS AMOSTRAS GA E GN OBTIDOS POR VISCOSIMETRIA CAPILAR.....	63
TABELA 7 -	RAIO DE GIRO (R_g) E EXPOENTE DA LEI DE POTÊNCIA (P) DAS AMOSTRAS GA E GN ($1,0 \text{ mg ml}^{-1}$) CALCULADOS PELO AJUSTE DO MODELO UNIFICADO ÀS CURVAS DE SAXS.....	79
TABELA 8 -	VALORES DO DESLOCAMENTO QUADRÁTICO MÉDIO ($\langle \bar{r}^2 \rangle^{1/2}$) DAS AuNPs EM CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE GN CALCULADOS PELO FATOR DE DEBYE-WALLER.....	94

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

$\dot{\gamma}$ – taxa de cisalhamento

β – expoente do decaimento exponencial

Φ – constante de Flory

λ – comprimento de onda

η_0 – viscosidade do solvente puro

η_r – viscosidade relativa

η_{red} – viscosidade reduzida

η_{sp} – viscosidade específica

$[\eta]$ – viscosidade intrínseca

$\langle \bar{r}^2 \rangle$ – deslocamento quadrático médio

τ – tempo de relaxação

θ – ângulo de espalhamento

ζ – potencial zeta

A – fator de não-ergodicidade

AG – arabinogalactana

AGP – arabinogalactana-proteína

Ara – arabinose

AuNP – nanopartícula de ouro

b – fator de Siegert

c^* – concentração crítica

cac – concentração de agregação crítica

d – distância entre duas partículas

D – dispersão

DLS – espalhamento de luz dinâmico

dn/dc – incremento do índice de refração com a concentração

f – frequência

f – furanosídico

$g_2(q, t)$ – função de autocorrelação de intensidade

G' – módulo elástico
G'' – módulo viscoso
G_{el} – módulo do platô
GA – goma arábica comercial
Gal – galactose
GC-MS – cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa
Glc – glucose
4-Me-Glc – 4-metil-glucose
GlcA – ácido glucurônico
GN – goma de acácia-negra (*Acacia mearnsii*)
GN-CR – goma de acácia-negra carboxi-reduzida
GP – glicoproteína
Hyp – hidroxiprolina
I(q) – Intensidade de espalhamento
 k_B – constante de Boltzman
K_H – constante de Huggins
m/m – relação entre massa e massa
M_w – massa molar ponderal média
M_n – massa molar numérica média
MET – microscopia eletrônica de transmissão
 pK_a – logaritmo negativo da constante de acidez
 pK_w – logaritmo negativo da constante de dissociação da água
P(q) – fator de forma
PEO – poli(óxido) etileno
 ρ – piranosídico
q – módulo do vetor de espalhamento
R - raio das partículas
RALS – espalhamento de luz a 90°
R_g – raio de giro
R_h – raio hidrodinâmico
Rha – ramnose

RI – índice de refração

RMN – ressonância magnética nuclear

rpm – rotações por minuto

S(q) – fator interferência

SAXS – espalhamento de raios X a baixo ângulo (do inglês *small angle X-ray scattering*)

SANS – espalhamento de nêutrons a baixo ângulo (do inglês *small angle neutron scattering*)

Ser – serina

SEC – cromatografia de exclusão por tamanho (do inglês *size exclusion chromatography*)

SPR - banda de ressonância plasmônica

T – temperatura

Thr – treonina

UV – ultravioleta

v/v – relação entre volume e volume

XPCS – Espectroscopia de fotocorrelação de raios X (do inglês *X-ray photo correlation spectroscopy*)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 GOMA DE ACÁCIA.....	18
2.2 <i>Acacia mearnsii</i> DE WILD.....	26
2.3 TÉCNICAS DE ESPALHAMENTO DE RAIOS X APLICADAS AO ESTUDO DE SISTEMAS POLIMÉRICOS.....	28
2.3.1 Espalhamento de raios X a baixo ângulo – SAXS.....	29
2.3.2 Espectroscopia de fotocorrelação de raios X – XPCS.....	32
3 OBJETIVOS	36
3.1 OBJETIVO GERAL	36
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
4 MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1 GOMA ARÁBICA COMERCIAL.....	37
4.2 GOMA DE ACÁCIA-NEGRA.....	37
4.3 GOMA DE ACÁCIA-NEGRA CARBOXI-REDUZIDA.....	38
4.4 CARACTERIZAÇÕES QUÍMICAS	41
4.4.1 Análise da composição monossacarídica.....	41
4.4.2 Dosagem do teor proteico.....	42
4.5 CARACTERIZAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS.....	43
4.5.1 Cromatografia de exclusão por tamanho (SEC).....	43
4.5.2 Potencial zeta.....	44
4.5.3 Viscosimetria capilar	45
4.5.4 Espectroscopia de Fluorescência.....	47
4.5.5 Titulação potenciométrica	48
4.5.6 Análise estrutural por espalhamento de raios X a baixo ângulo – SAXS.....	48
4.5.7 Síntese e caracterização das nanopartículas de ouro.....	49
4.5.8 Análises dinâmicas por espectroscopia de fotocorrelação de raios X – XPCS.....	50
4.5.9 Análises reológicas.....	52

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA E TEOR PROTEICO	53
5.2 CARACTERIZAÇÃO POR CROMATOGRAFIA DE EXCLUSÃO POR TAMANHO – SEC.....	55
5.3 DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ZETA	59
5.4 DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE INTRÍNSECA POR VISCOSIMETRIA CAPILAR	60
5.5 ANÁLISE DA CAPACIDADE DE ASSOCIAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA	65
5.6 DETERMINAÇÃO DAS CONSTANTES DE DISSOCIAÇÃO POR TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA.....	68
5.7 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL POR ESPALHAMENTO DE RAIOS X A BAIXO ÂNGULO – SAXS.....	76
5.8 CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES DINÂMICAS POR ESPECTROSCOPIA DE FOTOCORRELAÇÃO DE RAIOS X - XPCS.....	82
5.9 CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DA AMOSTRA GN.....	94
6 CONCLUSÕES	105
REFERÊNCIAS	108
ANEXO	124

1 INTRODUÇÃO

As gomas de exsudatos vegetais são hidrocolóides há muito tempo conhecidos, estudados e utilizados para as mais diversas aplicações. A sua produção é resultado de um processo natural de defesa da planta em condições de estresse, que podem incluir injúria física, ataque de microrganismos ou fatores ambientais como períodos de estiagem. As gomas de exsudatos compreendem um grupo diversificado de heteropolissacarídeos com diferentes composições químicas e propriedades físico-químicas que possibilitam a sua utilização em diversas aplicações industriais. Dentre as gomas de exsudatos mais utilizadas industrialmente estão as gomas arábica, tragacanta, karaya e ghatti (VERBEKEN; DIERCKX; DEWETTINCK, 2003; WHISTLER, 1993). O Grupo de Química de Carboidratos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Paraná tem trabalhado há muitos anos na caracterização química e estrutural de gomas de exsudatos vegetais de espécies nativas ou cultivadas no Brasil, em busca de novas fontes com potencial aplicação industrial. Foram isoladas e caracterizadas arabinogalactanas ácidas em goma de cajueiro (MENESTRINA et al., 1998; PEREIRA-NETTO et al., 2007), de pessegueiro (SIMAS et al., 2008; SIMAS-TOSIN et al., 2010, 2009) e de angico branco (*Anadenanthera colubrina*) (DELGOBO et al., 1998, 1999), glucuronoarabinosilanas em gomas de palmeiras (MAURER-MENESTRINA et al., 2003; SIMAS et al., 2004, 2006) e goma exsudada na casca do abacaxi (SIMAS-TOSIN et al., 2013) e glucuronomananas em gomas de espécies de *Vochysia*, nativas do cerrado brasileiro (WAGNER et al., 2007, 2008, 2004).

A goma arábica, como é comercialmente chamada a goma de acácia proveniente das espécies *Acacia senegal* e *A. seyal*, é uma das mais antigas gomas utilizadas. Os primeiros relatos da sua utilização são dos antigos egípcios há aproximadamente quatro mil anos, que a utilizavam em processos de mumificação e como espessante para pigmentos (VERBEKEN; DIERCKX; DEWETTINCK, 2003; WHISTLER, 1993). Desde então, ela vem sendo amplamente explorada e utilizada, principalmente nas indústrias alimentícia, farmacêutica, cosmética e de pigmentos devido a sua fácil obtenção, baixa toxicidade, alta solubilidade em água, baixa viscosidade em comparação à outras gomas

e propriedades tensoativas que conferem a ela a capacidade de atuar como agente emulsificante e estabilizante coloidal (DAVIDSON, 1980; PHILLIPS; WILLIAMS, 2000; WHISTLER, 1993).

Além das aplicações industriais, pesquisas científicas também apontam a possibilidade de diversas outras aplicações para a goma arábica, como por exemplo em sistemas adsorventes para remoção de espécies metálicas em efluentes (BANERJEE; CHEN, 2007), como estabilizante na síntese de diversos tipos de nanopartículas (DE BARROS et al., 2016; DEVI et al., 2011; GILS; RAY; SAHOO, 2010; KONG et al., 2014; WILLIAMS et al., 2006), de nanotubos de carbono (BANDYOPADHYAYA et al., 2002), de grafeno (CHABOT et al., 2013; FAN et al., 2012), em nanocompósitos de polianilina (AMARNATH et al., 2008; CORNELSEN et al., 2015; QUINTANILHA et al., 2014), na obtenção de sistemas coacervados para encapsulação (BUTSTRAEN; SALAÜN, 2014; DA SILVA et al., 2015; LIU; LOW; NICKERSON, 2010), como substrato para biocatalisador (FERREIRA et al., 2015) e em suportes não aderentes e não citotóxicos para cultivo celular (SARIKA et al., 2014), entre outros.

Em paralelo às investigações de novas aplicações para a goma arábica, tem-se buscado caracterizar e analisar as potenciais aplicações de gomas provenientes de outras espécies. O gênero *Acacia* compreende mais de 1000 espécies espalhadas pelo mundo e, entre as gomas de acácia já estudadas, observam-se variações quanto à composição química, estrutural e conseqüentemente com propriedades distintas que podem ser exploradas (AL-ASSAF; PHILLIPS; WILLIAMS, 2005a; ANDERSON; DEA, 1969; ISLAM et al., 1997; MARTÍNEZ et al., 2015; VERBEKEN; DIERCKX; DEWETTINCK, 2003).

Apesar dos estudos de caracterização estrutural e descobertas de novas potenciais aplicações para as gomas de acácia em geral, muitos aspectos com relação às propriedades, às relações estrutura-propriedade e como estas se alteram por influências de parâmetros externos, ainda não estão totalmente elucidados. Este panorama pode ser justificado pela grande complexidade estrutural das gomas, aliado à sua variabilidade inerente devido aos fatores naturais e variações entre espécies que reconhecidamente afetam as suas propriedades.

Com base nos aspectos citados acima, o presente trabalho justifica-se pela necessidade de um melhor entendimento das relações estrutura-propriedade de gomas de acácia para contribuir para a elucidação dos mecanismos de ação destes polissacarídeos nas mais diversas aplicações. Em conjunto, este trabalho buscou a caracterização das propriedades de uma goma de Acacia proveniente de uma espécie cultivada no sul do Brasil (*Acacia mearnsii*). Apesar dessa espécie já ser explorada comercialmente, a goma por ela exsudada ainda não tem valor agregado e, por isso, constitui um produto a ser explorado, visando evidenciar as potencialidades de gomas nacionais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. GOMA DE ACÁCIA

A goma de acácia (goma arábica) é um exsudato obtido do tronco e dos galhos de árvores do gênero *Acacia*. Sua produção comercial provém principalmente das espécies *Acacia senegal* e *Acacia seyal*, cultivadas em larga escala em países africanos (DAVIDSON, 1980; WHISTLER, 1993). Sudão, Chade e Nigéria lideram a produção comercial de goma arábica dos últimos anos (ITC, 2016).

Em termos gerais, a goma de acácia apresenta uma estrutura química complexa constituída majoritariamente por polissacarídeos ramificados e de caráter ácido, conjugados com uma menor fração polipeptídica (PHILLIPS; WILLIAMS, 2000; WHISTLER, 1993). A fração polissacarídica é composta principalmente por galactose e arabinose, caracterizando-a como uma arabinogalactana do tipo II (ASPINALL, 1973). Sua cadeia principal é formada por unidades de galactopiranosose β -(1 \rightarrow 3)-ligadas, substituídas em O-6 por cadeias altamente ramificadas contendo unidades de arabinose, galactose, ramnose, ácido glucurônico e ácido-4-O-metil-glucurônico. Os dois últimos substituintes encontram-se localizados principalmente nas extremidades não-redutoras

da cadeia, sendo responsáveis pelo caráter polieletrólítico da goma (ANDERSON; STODDART, 1966; NIE et al., 2013a, 2013b; STREET; ANDERSON, 1983). Como já mencionado, espécies diferentes apresentam variações na composição química. A Tabela 1 mostra um comparativo entre as proporções médias dos monossacarídeos encontrados nas duas espécies comercialmente exploradas (*A. senegal* e *A. seyal*). Pode-se observar que ambas são compostas majoritariamente por arabinose e galactose e que as proporções relativas dos monossacarídeos constituintes diferem entre as gomas das duas espécies. Alguns trabalhos têm mostrado que essas diferenças também se estendem na questão estrutural, evidenciando uma estrutura mais ramificada para a *A. senegal* em comparação à *A. seyal* (NIE et al., 2013a, 2013b; STREET; ANDERSON, 1983). Um modelo geral proposto para a estrutura dos polissacarídeos presentes na goma de *A. senegal* (GA) está representado na Figura 1.

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA E TEOR PROTEICO DAS GOMAS DE *A. senegal* E *A. seyal*

Componente (%)	<i>A. senegal</i>	<i>A. seyal</i>
Galactose	35 – 44	37 – 38
Arabinose	27 -30	46 – 48
Ramnose	11 – 15	3 – 4
Ácido glucurônico	14 – 17	6,5 – 6,7
Ácido-4-O-metil-glucurônico	1 – 1,5	5,5 – 5,8
Proteína	2 - 3	1

FONTE: Islam et al. (1997); Renard et al. (2006); Lopez-Torrez et al. (2015)

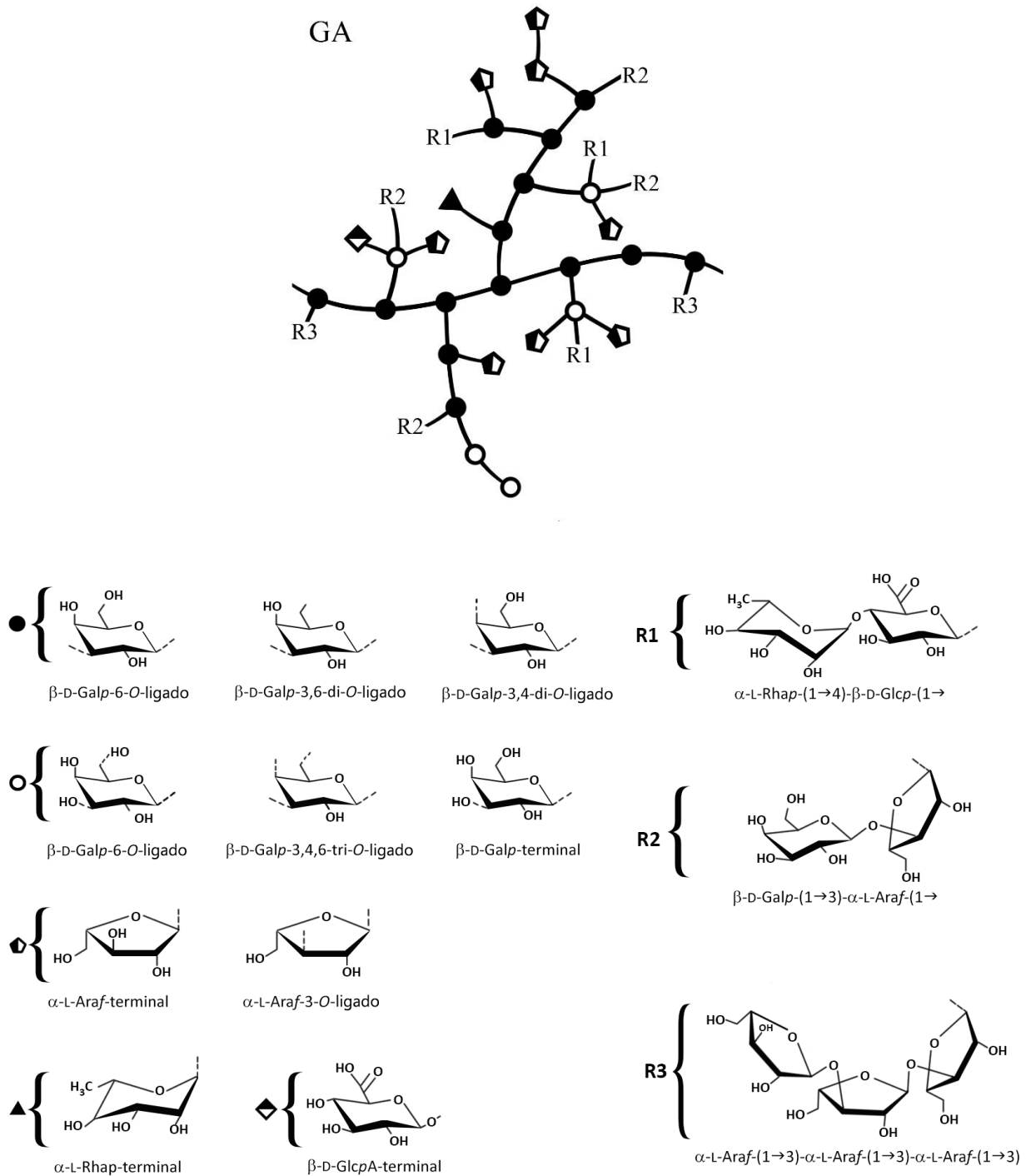


FIGURA 1 - MODELO ESTRUTURAL PROPOSTO PARA A FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DA GOMA DE *A. senegal* (GA)
 FONTE: Adaptado de Cornelsen et al. (2015)

As cadeias polissacarídicas nas gomas de acácia estão ligadas covalentemente à proteína através de unidades de serina e hidroxiprolina que, em geral, são os

aminoácidos mais abundantes na sua estrutura (AKIYAMA; EDA; KATO, 1984; MAHENDRAN et al., 2008). Na Tabela 2 está apresentada a composição de aminoácidos média observada em amostras de *A. senegal* e *A. seyal*.

TABELA 2 - COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS DAS GOMAS DE *A. senegal* E *A. seyal*

Aminoácido (%)	<i>A. senegal</i>	<i>A. seyal</i>
Hidroxi prolina	22,9 – 29,1	24,0 – 30,0
Ácido aspártico	4,8 - 5,8	6,5 – 6,9
Treonina	6,6 - 7,9	4,8 – 6,2
Serina	10,8 - 14,4	13,4 – 17,0
Ácido glutâmico	3,6 - 4,7	3,8 – 5,3
Prolina	6,4 - 7,8	7,3 – 7,9
Glicina	3,7 - 5,5	3,5 – 5,1
Alanina	2,3 – 4,4	3,1 – 3,8
Valina	3,3 - 4,6	4,2 – 4,4
Isoleucina	1,1 – 3,3	1,6 – 1,8
Leucina	6,8 – 8,0	8,4 – 8,5
Tirosina	1,1 - 1,4	1,3 – 2,0
Fenilalanina	3,0 – 4,0	2,3 – 2,4
Histidina	5,2 - 6,4	3,8 – 5,1
Lisina	2,5 - 3,4	1,7 – 1,8
Arginina	1,1 – 3,0	1,1 – 1,7

FONTE: Islam et al. (1997); Renard et al. (2006); Mahendran et al. (2008); Lopez-Torrez et al. (2015)

As gomas de acácia são descritas como biopolímeros heterogêneos e polidispersos em tamanho. Essa propriedade é decorrente da presença de carboidratos com diferentes massas molares e conteúdos proteicos distintos. Em geral, três frações principais compõem a estrutura das gomas de acácia. A fração majoritária, que representa ~88% da massa total da goma, é constituída por uma arabinogalactana (AG) com $M_w \sim 3,8 \times 10^5$ g.mol⁻¹ e um baixo teor proteico (~0,3%). A segunda fração é composta por um complexo arabinogalactana-proteína (AGP), que corresponde a ~10% da massa total, com $M_w \sim 1,45 \times 10^6$ g.mol⁻¹ e contém um teor proteico de ~12%. A fração minoritária, ~1% da massa total da goma, é formada por glicoproteínas (GP) com $M_w \sim$

$2,5 \times 10^5 \text{ g.mol}^{-1}$ e o maior teor proteico (~47%) (RANDALL; PHILLIPS; WILLIAMS, 1989; RENARD et al., 2006).

Vários esforços têm sido feitos nos últimos anos buscando elucidar essa complexa estrutura e as características de cada uma dessas frações. Sanchez et al. (2008) demonstraram que a conformação da fração majoritária (AG) possui um formato elipsoide oblato com aproximadamente 20 nm de diâmetro e 1,5 nm de espessura, formado internamente por uma rede com cadeias intercaladas. A fração GP, após o fracionamento, mostra-se bastante polidispersa. Renard et al. (2014) observaram que essa fração é formada por partículas esferoidais que tendem a se associar e formar uma mistura de estruturas mais alongadas e outras em forma de anel com aproximadamente 9 nm de diâmetro. A conformação estrutural da fração de maior M_w (AGP) foi inicialmente descrita como um modelo chamado *wattle-blossom*, no qual aproximadamente 5 blocos de cadeias polissacarídicas ($M_w \sim 2 \times 10^5 \text{ g mol}^{-1}$) encontram-se ligados a uma cadeia polipeptídica comum, como representado esquematicamente na Figura 2 (FINCHER; STONE; CLARKE, 1983). Anos mais tarde, Mahendran et al. (2008) identificaram blocos de carboidratos menores ($M_w \sim 4,5 \times 10^4 \text{ g mol}^{-1}$) e estimaram o tamanho da cadeia polipeptídica a que estão ligados em aproximadamente 250 unidades de aminoácidos, organizando-se na forma de um elipsoide oblato, condizente com a estrutura *wattle-blossom* anteriormente proposta (FINCHER; STONE; CLARKE, 1983) e com a conformação da fração AG observada por Sanchez et al. (2008). Além disso, identificaram também a presença de cadeias polipeptídicas menores, com aproximadamente 45 unidades de aminoácidos, que foram atribuídas à fração AG.

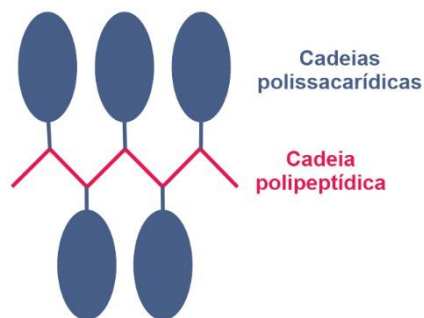


FIGURA 2 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO MODELO *WATTLE-BLOSSOM* PROPOSTO PARA A ESTRUTURA DA FRAÇÃO AGP
 FONTE: Adaptado de Fincher et al. (1983)

Em paralelo, uma nova abordagem começou a ser discutida baseada na tendência natural desses polissacarídeos à associação. Foi proposto que a fração AGP é formada pela associação de várias unidades da fração AG, em que a força motriz para essa associação ocorrer é via interações hidrofóbicas promovidas pela porção proteica presente e reforçada por ligações de hidrogênio entre as cadeias polissacarídicas, além disso, que as cadeias de menor M_w e ricas em proteína (GP) devem ter um papel fundamental na estabilização dos agregados AGPs formados (AL-ASSAF et al., 2009; AOKI et al., 2007). Renard et al. (2012, 2013) observaram por microscopia eletrônica de transmissão que a fração AGP isolada de *A. senegal* é formada pela associação de uma série de cadeias ramificadas formando uma estrutura porosa, corroborando essa nova proposta. Mais recentemente, unindo a ideia da presença de uma associação macromolecular entre as frações da goma de acácia e considerando as evidências estruturais apontadas na literatura por diversos autores nos últimos anos, Renard et al. (2014) propuseram um novo modelo para a estrutura da AGP com uma conformação elipsoidal, mostrado na Figura 3.

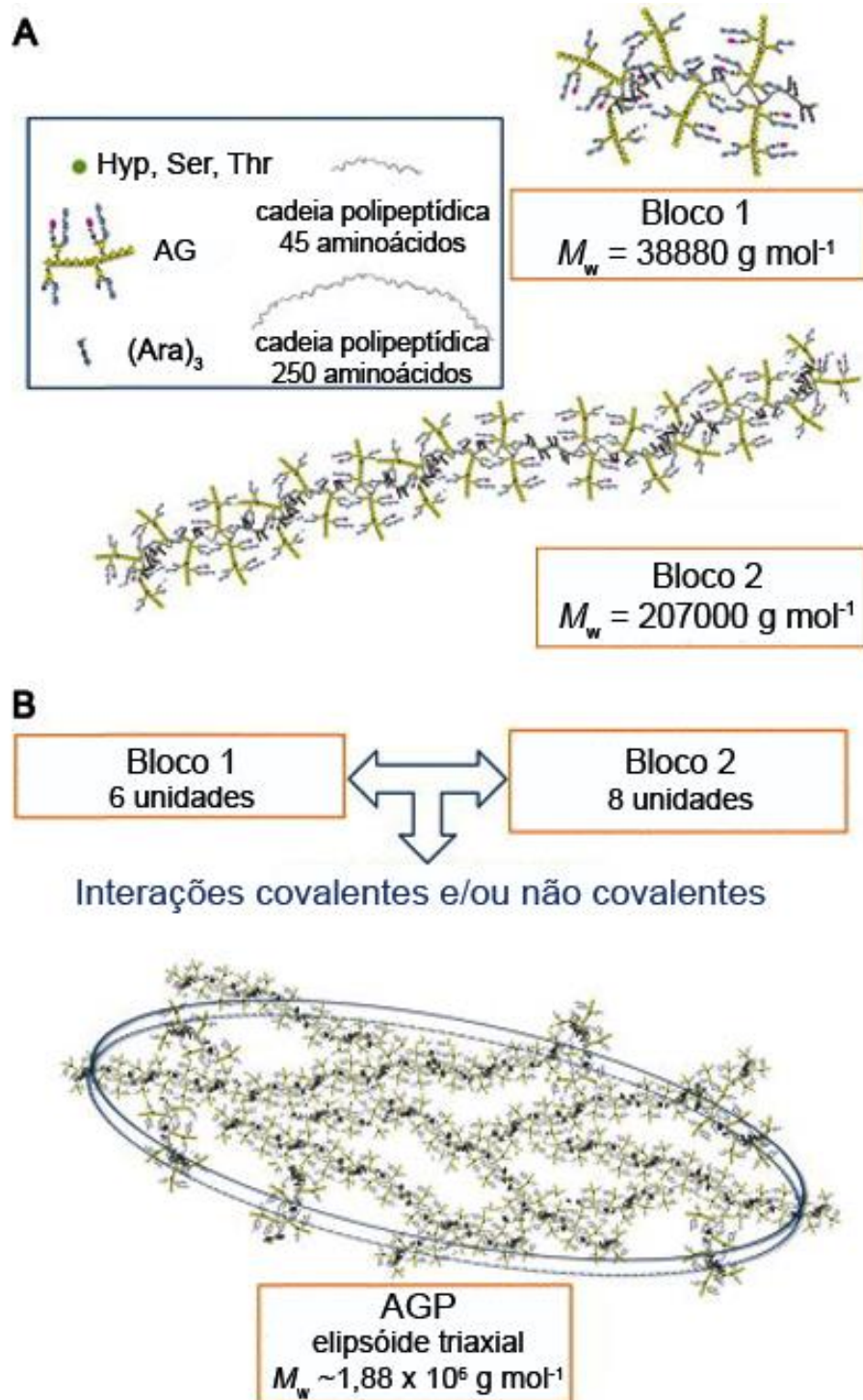


FIGURA 3 - ESTRUTURA PROPOSTA PARA A FRAÇÃO AGP DA GOMA DE *A. senegal*: (A) SUBUNIDADES QUE COMPÕE A ESTRUTURA AGP. (B) MODELO PROPOSTO PARA A ESTRUTURA DA AGP CONSIDERANDO UMA ASSOCIAÇÃO MACROMOLECULAR
FONTE: Adaptado de Renard et al. (2014b)

A fração AGP tem sido considerada como a principal responsável pela atividade interfacial e propriedade emulsificante observada nas gomas de acácia (DICKINSON; GALAZKA; ANDERSON, 1991; ISLAM et al., 1997; JAYME; DUNSTAN; GEE, 1999; LI et al., 2009). Por possuir um caráter anfifílico, ela é capaz de atuar em interfaces, com a porção polissacarídica (hidrofílica) voltada para a solução aquosa e a parte proteica (hidrofóbica) para a fase apolar. É observada, porém, uma grande variabilidade na estabilidade das emulsões formadas com diferentes amostras de gomas de acácia. Aparentemente, não há uma relação simples e direta entre o teor proteico e a capacidade de interação com a interface e estabilização (BUFFO; REINECCIUS; OEHLERT, 2001; DICKINSON; GALAZKA; ANDERSON, 1991). Al-Assaf et al. (2007) demonstraram que submetendo a amostra a condições controladas de umidade e pressão é possível simular o processo de maturação que ocorre naturalmente no ambiente. Com a maturação, observa-se o aumento do teor de AGP na amostra e promove-se também uma melhora significativa na capacidade emulsificante, sugerindo que a distribuição da proteína entre as frações e a quantidade de AGP presente influenciam diretamente na atividade interfacial da amostra (CASTELLANI et al., 2010). Entretanto, já foi demonstrado em estudos da autora do presente trabalho e também por outros autores que essa relação não é direta em determinadas espécies de gomas de acácia, sugerindo que possivelmente outros fatores também contribuem significativamente para as propriedades interfaciais (GREIN et al., 2013; SIBAJA-HERNÁNDEZ et al., 2015).

O processo de adsorção na interface envolve, em geral, quatro etapas: difusão do composto até a interface, interação e adsorção, reorganização conformacional e a efetiva formação de um filme. Dessa forma, várias características estruturais estão envolvidas nessa propriedade, desde a massa molar do complexo AGP, que vai interferir na sua velocidade de difusão, a quantidade e acessibilidade de grupos proteicos à interface, até a flexibilidade da cadeia para se reorganizar e expor a porção hidrofóbica à fase apolar para efetivar a adsorção (DICKINSON, 2011). Assim, ressalta-se a importância e a necessidade de uma melhor compreensão dos aspectos estruturais das gomas de acácia para contribuir na elucidação dos mecanismos de ação desses compostos nas suas diversas aplicações, visto que a maior parte delas se fundamenta nas propriedades interfaciais das gomas de acácia.

2.2. *Acacia mearnsii* DE WILD

A *Acacia mearnsii* De Wild (acácia-negra) é uma espécie originária do sudeste da Austrália (BOLAND et al., 2006) e foi introduzida no Brasil em 1928. Os primeiros plantios comerciais foram realizados no município de Estrela – RS e, em seguida, difundiu-se por vários municípios, tornando-se uma importante atividade econômica para o estado do Rio Grande do Sul, chamada de acacicultura (SCHNEIDER; TONINI, 2003). É a terceira espécie mais plantada no Brasil, cuja área estimada de plantio é superior a 160 mil hectares, sendo que, aproximadamente 60% das plantações pertencem aos pequenos proprietários (MÜLLER, 2006; TONIETTO; STEIN, 1997).

É uma árvore de crescimento rápido e aproveitamento múltiplo. Seu plantio comercial visa a extração de taninos a partir da casca, utilizado na indústria do couro e farmacêutica, e aproveitamento da madeira como matéria-prima para produção de celulose, madeira aglomerada e energia. Além disso tem sido usada em recuperação de ambientes degradados e para fixação de nitrogênio (GRIGOLETTI et al., 2003; MÜLLER, 2006; SANTOS et al., 2001; SCHNEIDER; TONINI, 2003). A goma exsudada do tronco e dos galhos das árvores de acácia-negra ainda não é explorada e aproveitada comercialmente, sendo considerada como um resíduo da acacicultura (Figura 4).

Pouco se conhece sobre a goma de *A. mearnsii*. Na literatura, são encontrados apenas alguns trabalhos da década de 50-60 sobre a caracterização estrutural de amostras coletadas na África (ASPINALL; CARLYLE; YOUNG, 1968; CARLYLE, 1966; KAPLAN; STEPHEN, 1967; STEPHEN, 1951) e mais recentemente o Grupo de Pesquisa em Macromoléculas e Interfaces (GPMIn) do Departamento de Química da UFPR, ao qual a autora da presente tese é integrante, iniciou estudos de caracterização estrutural e propriedades físico-químicas da goma de *A. mearnsii* coletada no Brasil (DA SILVA et al., 2015; GREIN et al., 2013; GREIN, 2012).



FIGURA 4 - REFLORESTAMENTO DE ACÁCIA NEGRA (*A. mearnsii*) NO BRASIL. EM DESTAQUE O EXSUDATO GOMOSO OBTIDO DESSAS ÁRVORES
 FONTE: Seta®

A composição monossacarídica da goma de *A. mearnsii* é similar às gomas de acácia comerciais, com algumas variações, como comumente observado para gomas de acácia de diferentes espécies. Na Tabela 3 está apresentado um comparativo entre a composição monossacarídica para a goma de *A. mearnsii* coletada na Índia e no Brasil. Em geral, sua estrutura é formada por unidades de galactopiranosose β -(1 \rightarrow 3)-ligadas, substituídas em O-6 por cadeias laterais contendo unidades de arabinose, ramnose e ácido glucurônico (e seu derivado 4-O-metilado), com algumas diferenças quanto ao padrão de substituição nas ramificações com relação à goma de acácia comercial (ASPINALL; CARLYLE; YOUNG, 1968; GREIN et al., 2013). Foi demonstrado também pela autora da presente tese, por ressonância magnética nuclear (RMN- ^{13}C) e análises de metilação, que as unidades de arabinose (α -L-Araf) presentes na goma de *A. mearnsii*, encontram-se em ambientes químicos mais diversos do que na goma comercial, sugerindo que ela apresenta uma estrutura mais ramificada do que a comercial (GREIN et al., 2013).

TABELA 3 - COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA REPORTADA NA LITERATURA PARA A GOMA DE *A. mearnsii*

Componente (%)	<i>A. mearnsii</i>	
	Carlyle (1966) ^a	Grein et al. (2013) ^b
Galactose	37	46
Arabinose	43	43
Ramnose	8	7
Ácido glucurônico	12	4

^a coletada na Índia

^b coletada no Brasil

A goma de *A. mearnsii* também apresenta propriedades interfaciais. Em processos de formação de emulsão água-óleo, observou-se a formação de emulsões mais estáveis quando realizadas utilizando a goma de acácia-negra como agente emulsificante em comparação à goma comercial (DA SILVA, 2014; GREIN et al., 2013). Outro estudo demonstrou também a sua eficácia de atuação em processos de microencapsulação pelo método de coacervação complexa. Foi verificado que as condições ótimas para a formação de coacervados são diferentes para cada amostra, mas a morfologia das cápsulas obtidas se equivale às obtidas a partir da goma comercial (DA SILVA et al., 2015).

Esses estudos evidenciam algumas das potencialidades de aplicação para a goma de *A. mearnsii* cultivada no Brasil e ressaltam a influência das características estruturais nas propriedades observadas e, conseqüentemente, nas aplicações finais.

2.3. TÉCNICAS DE ESPALHAMENTO DE RAIOS X APLICADAS AO ESTUDO DE SISTEMAS POLIMÉRICOS

As técnicas de espalhamento de raios X são muito úteis no estudo de sistemas poliméricos em solução pois permitem investigar detalhes estruturais da amostra na escala nanométrica. O princípio geral das técnicas de espalhamento fundamenta-se na interação da radiação eletromagnética incidente com a amostra. No caso dos raios X

essa interação acontece com os elétrons do material e o espalhamento resultante é reflexo das diferenças de densidade eletrônica na amostra (GLATTER; KRATKY, 1982; STRIBECK, 2007).

2.3.1. Espalhamento de raios X a baixo ângulo – SAXS

Na técnica de SAXS um feixe de raios X colimado e monocromático é incidido sobre a amostra e o espalhamento em função do ângulo de espalhamento (θ) é medido por um detector bidimensional. A Figura 5 mostra uma representação da geometria de um experimento de SAXS.

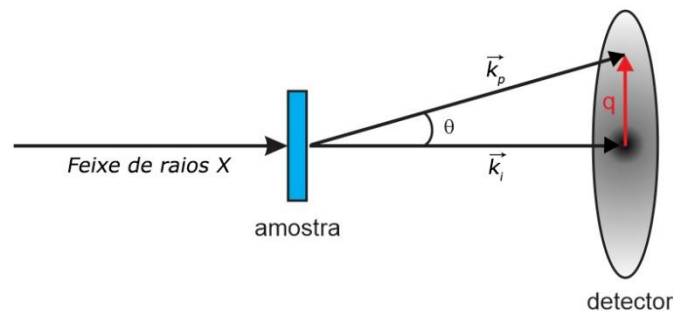


FIGURA 5 - REPRESENTAÇÃO DA GEOMETRIA DE UM EXPERIMENTO DE SAXS

O espalhamento gerado em ângulos baixos é elástico e é caracterizado por uma relação inversa entre o tamanho da partícula e o ângulo de espalhamento. O módulo do vetor de espalhamento (q) está relacionado com o ângulo de espalhamento segundo a relação:

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (1)$$

onde λ é o comprimento de onda dos raios X utilizados no experimento (GLATTER; KRATKY, 1982; NARAYANAN, 2008).

Para um determinado sistema monodisperso a intensidade de raios X espalhada $I(q)$ é resultado da multiplicação dos fatores de forma $P(q)$ e estrutura (ou interferência) $S(q)$ de acordo com a equação:

$$I(q) = N P(q) S(q) \quad (2)$$

onde N é o número de partículas por unidade de volume. $P(q)$ refere-se ao tamanho e forma da partícula e está relacionado ao espalhamento de uma partícula isolada e $S(q)$ está relacionado com a interferência da onda espalhada pelas diversas partículas (NARAYANAN, 2008).

Quando em regime diluído, em um sistema onde não ocorrem interações entre as partículas, o espalhamento resultante é obtido pela soma da contribuição de espalhamento das partículas individuais. Nessa situação considera-se $S(q) \sim 1$ e podem-se obter informações a respeito da forma e tamanho das partículas espalhantes.

Na região de baixos valores de q é possível obter o raio de giro (R_g) das partículas de acordo com a Lei de Guinier, válida para valores de $qR_g < 1,5$

$$I(q) = N V^2 \Delta\rho^2 \exp\left(-\frac{q^2 R_g^2}{3}\right) \quad (3)$$

onde V é o volume de cada partícula e $\Delta\rho$ é o contraste de densidade eletrônica.

No limite de altos valores de q , o espalhamento fornece informações sobre a interface das partículas. No caso de partículas homogêneas, com uma área superficial total S , dispersas num meio também homogêneo, a intensidade de espalhamento segue a Lei de Porod, representada na equação 4.

$$I(q) = 2\pi N \Delta\rho^2 S q^{-4} \quad (4)$$

Essa lei é válida para partículas que apresentam uma superfície regular e uma interface bem definida entre as partículas espalhadoras e o meio. No caso de partículas

com superfícies irregulares, como é o caso de polímeros, outras leis de potência ($I(q) \propto q^{-P}$) são observadas nessa região, com valores de coeficiente P menores do que 4. Partículas que apresentam um decaimento na intensidade de espalhamento com $3 < P < 4$ são chamadas de fractais de superfície enquanto que estruturas com $1 < P < 3$ são denominadas fractais de massa (NARAYANAN, 2008; STRIBECK, 2007). Uma representação esquemática dos tipos de morfologia com os respectivos coeficientes de decaimento da lei de potência P pode ser observada na Figura 6.

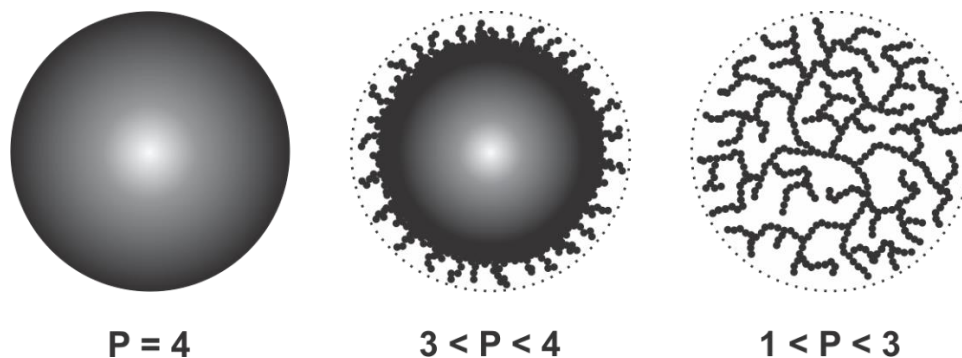


FIGURA 6 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS TIPOS DE INTERFACE CORRESPONDENTES A CADA FAIXA DE EXPONENTE DE DECAIMENTO P OBSERVADO POR SAXS
 FONTE: Baseado em Stribeck (2007)

À medida que se aumenta a concentração do sistema e as partículas começam a se correlacionar entre si, o fator $S(q)$ passa a contribuir significativamente para a intensidade de espalhamento resultante. Esse fator de interferência é uma função complexa e se relaciona com a disposição e organização das partículas em relação às outras. Em geral, quando há um padrão de organização na amostra, o fator $S(q)$ se desenvolve como um pico e através da posição do seu ponto máximo ($q_{máx}$) pode-se determinar a distância (d) entre duas partículas espalhadoras através da lei de Bragg ($d = 2\pi/q_{máx}$) (NARAYANAN, 2008).

2.3.2. Espectroscopia de fotocorrelação de raios X - XPCS

A técnica de Espectroscopia de fotocorrelação de raios X (do inglês *X-ray photon correlation spectroscopy*) é relativamente recente, os primeiros trabalhos envolvendo XPCS são datados da década de 1990, quando houve a evolução para os síncrotrons de terceira geração (GRÜBEL; MADSEN; ROBERT, 2008). As primeiras linhas de luz dedicadas à técnica foram construídas no *European Synchrotron Radiation Facility* (ESRF - Grenoble, França) e no *Advanced Photon Source* (APS – Lemont, Estados Unidos), sendo, em seguida, implementada em outras fontes de luz. No Brasil a técnica de XPCS estará disponível em breve com a construção do novo síncrotron Sirius, com previsão de inauguração para o ano de 2018 (CNPEM, 2014).

XPCS é uma técnica análoga ao espalhamento de luz dinâmico (DLS) (BERNE; PECORA, 1976), ambas analisam a flutuação na intensidade de luz espalhada pela amostra em função do tempo para o estudo de processos dinâmicos. Entretanto, devido ao comprimento de onda do feixe de raios X ser muito menor do que o da luz visível, pela técnica de XPCS é possível investigar processos dinâmicos em uma escala de tamanho menor, até poucos nanômetros, além de possibilitar a análise de materiais opacos (SHPYRKO, 2014).

A análise é feita incidindo-se um feixe de raios X coerente sobre a amostra e o padrão de espalhamento característico é monitorado por um detector bidimensional de alta resolução em função do tempo. Quando um feixe coerente é incidido sobre um material, o padrão de espalhamento apresenta um aspecto “salpicado” (*speckles*) e reflete a exata distribuição espacial das partículas espalhantes na amostra. Se a organização espacial dessas partículas se altera com o tempo, o padrão de espalhamento correspondente também é alterado, fornecendo informações sobre os aspectos dinâmicos do material (GRÜBEL; MADSEN; ROBERT, 2008; VAN DER VEEN; PFEIFFER, 2004). A Figura 7 mostra uma representação típica de um experimento de XPCS.

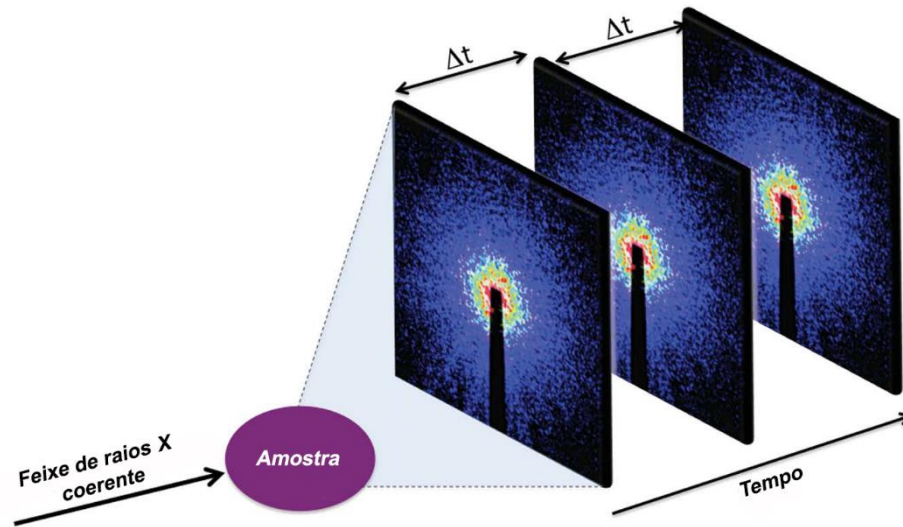


FIGURA 7 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UM EXPERIMENTO DE XPCS
 FONTE: Shpyrko (2014)

Em seguida é calculada a função de autocorrelação de intensidade ($g_2(q,t)$), medida em função do tempo (t) e em função do módulo do vetor de espalhamento (q) para cada pixel do detector de acordo com a relação:

$$g_2(q, t) = \frac{\langle I(q, t) I(q, t + \tau) \rangle}{\langle I(q) \rangle^2} \quad (5)$$

onde $I(q,t)$ e $I(q, t + \tau)$ são as intensidades em um determinado pixel medidas em um tempo t e $t + \tau$, respectivamente, e os colchetes indicam uma média no tempo e sobre os pixels referentes ao mesmo módulo do vetor de espalhamento q . O intervalo τ é definido pela taxa de atualização do detector (GRÜBEL; MADSEN; ROBERT, 2008; LEHENY, 2012).

A função de auto correlação de intensidade ($g_2(q,t)$) está relacionada com a função de correlação do campo elétrico ($g_1(q,t)$) através da relação de Siegert:

$$g_2(q, t) = 1 + b |g_1(q, t)|^2 \quad (6)$$

onde b é chamado de fator de Siegert e representa um parâmetro instrumental referente ao contraste óptico. O decaimento da função de correlação $g_1(q,t)$ fornece informações

relacionadas ao movimento das partículas em solução e tipicamente exibe uma função exponencial com um tempo de relaxação característico (τ). Assim, a função de autocorrelação de intensidade ($g_2(q,t)$) obtida no experimento pode ser ajustada de acordo com a relação:

$$g_2(q, t) = 1 + b[A \exp(-(t/\tau)^\beta)]^2 \quad (7)$$

onde β é o expoente que define o formato do decaimento exponencial, sendo que $\beta = 1$ indica um decaimento exponencial simples, $\beta < 1$ indica um decaimento alongado e $\beta > 1$ um decaimento achatado e A é uma medida da ergodicidade do sistema, ou seja, um valor de $A = 1$ indica que o processo de relaxação é representativo do todo e valores de $A < 1$ indicam o nível de não-ergodicidade do sistema, reflexo de um decaimento parcial de $g_2(q,t)$. Cada um desses parâmetros traz informações a respeito do comportamento dinâmico da amostra na escala correspondente à faixa de q analisada (LEHENY, 2012; SHPYRKO, 2014).

Nos últimos anos a técnica de XPCS tem recebido atenção especial para o estudo de fluídos complexos como sistemas coloidais, géis e materiais poliméricos em geral. Esses materiais normalmente apresentam uma estrutura interna complexa que se organiza de uma maneira hierárquica com heterogeneidades em diferentes escalas. A capacidade da técnica em acessar a dinâmica estrutural na escala nanométrica trouxe a possibilidade de se investigar e obter informações a respeito dos processos de relaxação da microestrutura desses materiais para correlacionar com as suas propriedades e características macroscópicas (LEHENY et al., 2015; LEHENY, 2012).

No caso de materiais poliméricos, a técnica de XPCS tem sido empregada para a investigação da dinâmica de processos de gelificação e envelhecimento (CZAKKEL; MADSEN, 2011; DUDUKOVIC; ZUKOSKI, 2014; RUTA et al., 2014), em polímeros fundidos em temperatura próxima à região de transição vítrea (GUO et al., 2009), em processos de transição ordem-desordem (PATEL et al., 2006) e para analisar as características viscoelásticas locais do material através do movimento de nanopartículas por entre o entrelaçamento formado pelas cadeias poliméricas (GUO et al., 2012;

PAPAGIANNOPOULOS et al., 2005). Esses são apenas alguns exemplos já investigados por XPCS, mas que demonstram grandes potencialidades de aplicação para a técnica.

3 OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo geral caracterizar as propriedades físico-químicas da goma de *Acacia mearnsii* cultivada no Brasil em comparação com uma goma de acácia comercial e correlaciona-las com as suas respectivas características estruturais.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair os polissacarídeos da goma de *A. mearnsii* coletada no Brasil.
- Promover a redução dos ácidos urônicos presentes em uma fração da goma de *A. mearnsii* através do procedimento de carboxi-redução para avaliar a influência desses grupos nas propriedades da goma.
- Caracterizar a estrutura das gomas de acácia quanto à composição monossacarídica, teor proteico e massa molar ponderal média.
- Avaliar as propriedades físico-químicas das gomas de acácia em regime diluído através das técnicas de viscosimetria capilar, potencial zeta, espectroscopia de fluorescência, titulação potenciométrica e espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS).
- Avaliar a organização estrutural das gomas de acácia em regime semidiluído pela técnica de SAXS e as propriedades dinâmicas na escala nanométrica pela técnica de espectroscopia de fotocorrelação de raios X (XPCS).
- Avaliar as propriedades reológicas da goma de *A. mearnsii* nas mesmas condições analisadas pela técnica de XPCS para correlacionar as características macroscópicas com as observadas em uma escala nanométrica.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. GOMA ARÁBICA COMERCIAL

A goma arábica comercial (GA) utilizada no trabalho foi obtida da empresa Sigma-Aldrich (G9752), sendo descrita como proveniente das espécies *Acacia seyal* ou *Acacia senegal* ou uma mistura destas. Antes de ser utilizada a GA foi dialisada (membrana 12-14 kDa) contra água Milli-Q por 24 horas e liofilizada.

4.2. GOMA DE ACÁCIA NEGRA

A goma de acácia-negra (GN) (*Acacia mearnsii* De Wild) foi fornecida pela empresa SETA® (www.setaonline.com.br), especializada em produtos à base de tanino e cavacos de madeira localizada em Estância Velha – RS. Os polissacarídeos foram obtidos por meio de extração aquosa à temperatura ambiente (T~20°C), cuja metodologia foi previamente definida no trabalho de mestrado da autora e está resumido no fluxograma da Figura 8 (GREIN et al., 2013).

Aproximadamente 50 g da goma de acácia negra foram solubilizadas em 1,5 L de água destilada à temperatura ambiente (~20 °C), sob agitação por 12 horas. Após filtração em tecido sintético a dispersão foi centrifugada (7000 rpm / 20 °C / 15 min) e o resíduo insolúvel foi novamente submetido ao procedimento descrito acima. Os extratos foram reunidos e submetidos à diálise (membrana 12-14 kDa) contra água corrente por 12 horas e contra água Milli-Q (2x, 12 horas) em sistema fechado e em seguida liofilizado, resultando na amostra denominada GN com 25% (m/m) de rendimento em relação à massa inicial de goma bruta.

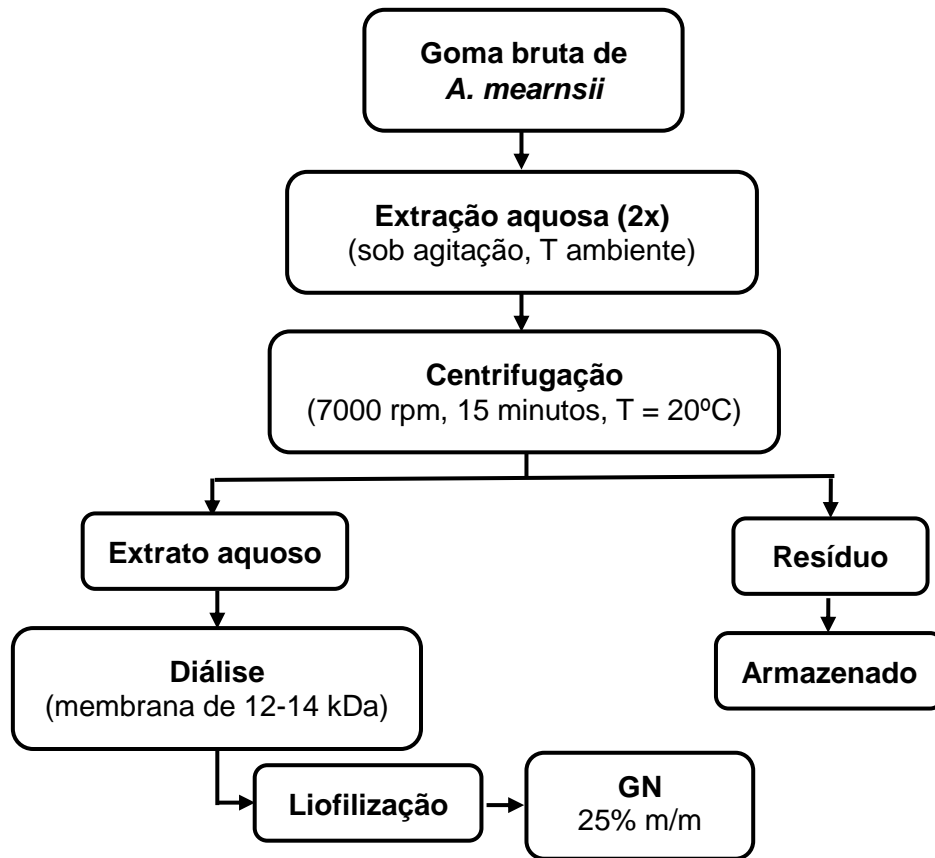


FIGURA 8 - FLUXOGRAMA DAS ETAPAS DO PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO DA GOMA DE *A. mearnsii*

4.3. GOMA DE ACÁCIA-NEGRA CARBOXI-REDUZIDA

O procedimento de carboxi-redução foi realizado com o objetivo de converter as unidades monossacarídicas ácidas presentes na estrutura da GN nos seus monossacarídeos neutros correspondentes, conforme representado no esquema da Figura 9.

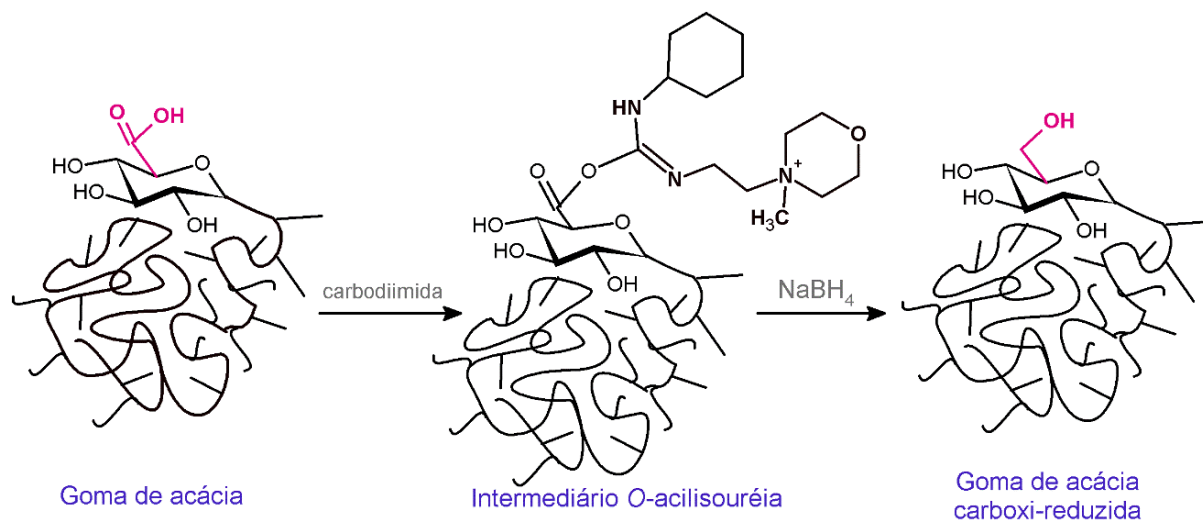


FIGURA 9 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA REAÇÃO DE CARBOXI-REDUÇÃO PARA A GOMA DE ACÁCIA ATRAVÉS DA FORMAÇÃO DE UM INTERMEDIÁRIO O-ACILISOURÉIA

A metodologia utilizada foi descrita por Taylor e Conrad (1972). Neste procedimento, a GN (3,000 g) foi solubilizada em 75 mL de tampão MES (ácido 2- morfolino etanosulfônico) $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,75) sob agitação por 12 horas. Em seguida, adicionou-se, em pequenas alíquotas e sob agitação, 7,305 g de carbodiimida (N- ciclohexil- N'- (2- morfolinoetil)carbodiimida meto-*p*-toluenosulfonato). Após manter sob agitação mecânica durante 1 hora, o pH foi ajustado para 7,0 com a adição de tampão N-*tris*(hidroximetil)aminometano / ácido clorídrico (TRIS / HCl, 2 mols L^{-1} , pH 7,0) (107 mL). Em seguida, adicionou-se boroidreto de sódio (NaBH_4) de modo a perfazer uma concentração de 2 mol L^{-1} e mantendo-se o pH 7,0 com adição de HCl 50 % (v/v). Deixou-se a amostra reduzindo por 12 horas à temperatura ambiente e em seguida foi realizada uma diálise exaustiva contra água Milli-Q (membrana 12-14 kDa) seguida de liofilização, obtendo-se 2,568 g (rendimento de 85,6% m/m) do polissacarídeo carboxi-reduzido. Como após este primeiro ciclo de carboxi-redução o polissacarídeo residual ainda apresentava 5,5% de ácidos urônicos, o procedimento de carboxi-redução foi realizado novamente, resultando no polissacarídeo carboxi-reduzido, denominado GN-CR (1,81 g – rendimento mássico de 60,3 % com relação à massa inicial).

Na Figura 10 está apresentado um mecanismo proposto para a reação seguindo as condições reacionais acima descritas, já estabelecidas na literatura. Inicialmente, ocorre a ativação dos grupos ácidos presentes na goma de acácia através do ataque

nucleofílico do ânion carboxilato ao carbono eletrofílico da carbodiimida, formando um intermediário reativo O-acilisouréia. Na segunda etapa, ocorre a redução, pela ação do boridreto de sódio, através do ataque nucleofílico de um íon hidreto ao carbono da carbonila, seguido da eliminação do produto derivado da carbodiimida, o qual é um bom grupo de saída. Na sequência, o grupo aldeído formado é reduzido novamente, pela ação do boridreto de sódio, ao seu álcool correspondente (NAKAJIMA; IKADA, 1995; SOLOMONS; FRYHLE, 2006; TAYLOR; CONRAD, 1972).

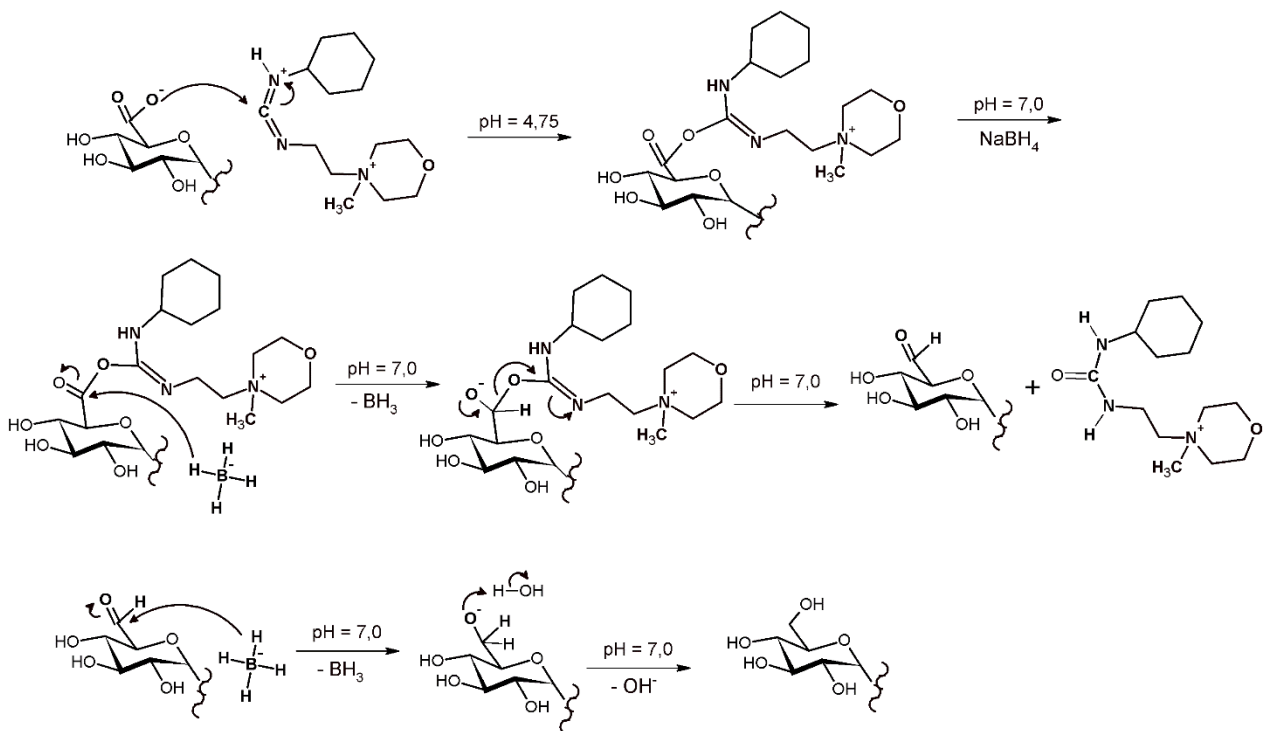


FIGURA 10 - MECANISMO PROPOSTO PARA A REAÇÃO DE CARBOXI-REDUÇÃO DA GOMA DE ACÁCIA NAS CONDIÇÕES REALIZADAS
 FONTE: Baseado em Hoare; Koshland (1967); Solomons, Fryhle, (2006); Taylor, Conrad, (1972).

4.4. CARACTERIZAÇÕES QUÍMICAS

4.4.1. Análise da composição monossacarídica

Para a análise da composição monossacarídica, 2 mg de amostra foram submetidos a hidrólise com ácido trifluoroacético (TFA) 1 mol L^{-1} durante 8 horas, a $100 \text{ }^\circ\text{C}$. Após a hidrólise o ácido foi evaporado e o material resultante foi solubilizado em pequeno volume de hidróxido de amônio (NH_4OH) $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, permanecendo em repouso por 10 minutos (SASSAKI et al., 2008). Posteriormente, a amostra foi submetida à redução com boroidreto de sódio (NaBH_4) por 12 horas, à temperatura ambiente (WOLFROM; THOMPSON, 1963a). Adicionou-se ácido acético concentrado (CH_3COOH) até atingir o pH ~ 5 , em seguida o material foi seco com jato de ar, lavado exaustivamente com metanol e seco novamente. Os derivados alditóis obtidos foram acetilados com uma mistura de anidrido acético:piridina (1:1, v/v) (WOLFROM; THOMPSON, 1963b) por 1 hora a $100 \text{ }^\circ\text{C}$. Logo após, colocou-se em banho de gelo e adicionou-se 1 mL de água para interromper a reação. Os acetatos de alditóis assim obtidos foram extraídos com clorofórmio e a fase clorofórmica foi lavada sucessivas vezes com uma solução aquosa de sulfato de cobre (CuSO_4) a 5% (m/v), para a remoção da piridina residual, finalizando-se com uma lavagem com água para a remoção do CuSO_4 residual. Adicionou-se sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) para a total remoção de água da fase clorofórmica, sendo posteriormente filtrada. Os acetatos de alditóis foram analisados em um cromatógrafo em fase gasosa Varian, modelo 3800, acoplado a um espectrômetro de massa Saturn 2000R (GC-MS), utilizando coluna DB-225. A temperatura durante a injeção da amostra foi de $50 \text{ }^\circ\text{C}$ sendo programada para aumentar $40 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ até atingir a temperatura constante de $220 \text{ }^\circ\text{C}$, tendo hélio como gás de arraste. Essas análises foram realizadas no Departamento de Bioquímica – UFPR.

A dosagem de ácidos urônicos foi realizada por método colorimétrico segundo a metodologia descrita por Filisetti-Cozzi e Carpita (1991). Em $400 \text{ } \mu\text{L}$ da amostra (GA e GN $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$ e GN-CR $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$) foram adicionados $40 \text{ } \mu\text{L}$ de uma solução de

ácido sulfâmico-sulfamato de potássio 4 mols L⁻¹ (pH 1,6) e 2,4 mL de uma solução de tetraborato de sódio em ácido sulfúrico a 75 mmol L⁻¹. A mistura foi aquecida em banho de água fervente por 20 minutos e em seguida resfriada em banho de gelo por 10 minutos. Posteriormente, foram adicionados 80 µL de m-hidroxibifenil (0,15% m/v em NaOH 0,5% m/v) e as leituras da absorvância em $\lambda = 525$ nm foram feitas em um espectrofotômetro UV-Vis da marca Agilent, modelo 8453. A sensibilidade do método é de 0,97 a 38,8 µg de ácido urônico. A curva padrão foi construída utilizando-se padrão de ácido glucurônico (Sigma-Aldrich).

4.4.2. Dosagem do teor proteico

A dosagem de proteínas foi realizada por método colorimétrico de acordo com a metodologia de Hartree (1972). Em 1 mL de amostra (1,0 mg mL⁻¹) foram adicionados 0,9 mL do reagente A (solução de 2,0 g de tartarato duplo de sódio e potássio e 100 g de Na₂CO₃ dissolvido em 500 mL de NaOH 1 mol L⁻¹ e completando-se o volume para 1,0 L com água destilada). A solução foi mantida a 50 °C por 10 minutos, sendo em seguida resfriada à temperatura ambiente. Adicionou-se 0,1 mL do reagente B (2,0 g de tartarato duplo de sódio e potássio e 1,0 g de CuSO₄.5H₂O dissolvidos em 90 mL de água destilada, sobre os quais adicionou-se 10 mL de NaOH 1 mol L⁻¹) e manteve-se por 10 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, adicionou-se 3 mL do reagente C (1 mL de reagente de Folin Ciocalteau 2 N, diluído em 15 mL de água destilada) e foi mantida a 50 °C por 10 minutos, sendo em seguida resfriada à temperatura ambiente. As leituras foram feitas em $\lambda = 650$ nm em um espectrofotômetro UV-Vis da marca Agilent, modelo 8453.

A sensibilidade do método é de 10 – 100 µg de proteína. A curva padrão foi construída utilizando albumina de soro bovino (Sigma-Aldrich).

4.5. CARACTERIZAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS

4.5.1. Cromatografia de exclusão por tamanho (SEC)

A determinação da massa molar ponderal média (M_w) e dispersão ($D = M_w/M_n$) das amostras foi realizada por cromatografia de exclusão por tamanho (do inglês SEC) em um equipamento da marca Viscotek, modelo 270 Triple Detector (detectores de índice de refração, viscosidade e espalhamento de luz), acoplado a um detector de UV e equipado com uma coluna Shodex OHPak SB-806M HQ (número de pratos teóricos ≥ 12000 , limite de exclusão: 20000 g mol^{-1}).

As soluções dos padrões e das amostras GA, GN e GN-CR a uma concentração de 2 mg mL^{-1} foram preparadas em solução de nitrato de sódio (NaNO_3) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, contendo 200 ppm de azida de sódio (NaN_3). As amostras foram filtradas em membranas de éster de celulose (MILLIPORE) de porosidade $0,22 \text{ }\mu\text{m}$ imediatamente antes da análise. Empregou-se um volume de injeção de $100 \text{ }\mu\text{L}$ (*loop*), tendo como fase móvel NaNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, contendo 200 ppm de NaN_3 , mantido a um fluxo de $0,4 \text{ mL min}^{-1}$ a uma temperatura de $40 \text{ }^\circ\text{C}$. As análises foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia e Materiais Baseados em Polissacarídeos (BioPol) do Departamento de Química da UFPR.

Os resultados foram analisados com o programa OmniSEC (Viscotek). Os valores de massa molar foram determinados a partir do detector de espalhamento de luz a 90° (RALS) baseado na equação de Rayleigh-Debye-Gans:

$$\frac{Kc}{R_\theta} = \frac{1}{M_w + P(\theta)} + 2A_2c$$

onde R_θ é a razão de Rayleigh em um determinado ângulo, c é a concentração, M_w é a massa molar ponderal média, A_2 é o segundo coeficiente de expansão virial, $P(\theta)$ é o fator de forma e K é a constante óptica determinada de acordo com a equação:

$$K = \frac{2\pi^2 n_0^2 (dn/dc)^2}{\lambda^4 N_A}$$

onde n_0 é o índice de refração do solvente, dn/dc é o incremento do índice de refração com a concentração da amostra, N_A é o número de Avogadro e λ o comprimento de onda do feixe de luz incidente (HIEMENZ, 1984; SUN, 2004).

A calibração foi realizada com padrão cromatográfico de PEO, poli(óxido de etileno) ($M_w = 51,5 \times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$) e conferido com um padrão de dextrana ($M_w = 70,7 \times 10^3 \text{ g.mol}^{-1}$), cujos parâmetros calculados foram $M_w = 79,9 \times 10^3 \text{ g.mol}^{-1}$, $D = 1,4$ e recuperação de 90,0%. Os valores de incremento do índice de refração com a concentração (dn/dc) das amostras GA e GN previamente determinados foram de 0,154 e 0,141 mL g^{-1} , respectivamente. Para a amostra GN-CR foi considerado o mesmo valor de dn/dc da amostra GN.

O cromatograma obtido para a amostra GN e GN-CR apresentaram picos sobrepostos e foram deconvoluídos com o programa Fityk utilizando o método *Nelder-Mead simplex* e modelo gaussiano (WOJDYR, 2010). Em seguida, os valores de M_w e D para cada pico foram calculados com o auxílio do programa Excel, calibrando-se pelo detector de RALS com o mesmo padrão de PEO e conferido com o padrão de dextrana de acordo com o procedimento descrito por Da Silva (2014).

4.5.2. Potencial zeta

O potencial zeta (ζ) das amostras de GA e GN (10 mg mL^{-1}) foi determinado em soluções aquosas com concentrações crescentes de NaCl ($0,0 - 2,5 \text{ mols L}^{-1}$) e da amostra GN-CR (10 mg mL^{-1}) somente em água. As medidas foram feitas em triplicata, a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ em um equipamento Malvern Zetasizer - Nano ZS90 no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS – Campinas – SP).

4.5.3. Viscosimetria capilar

A viscosimetria capilar é uma técnica muito utilizada na caracterização de polímeros em geral, pois sua análise em regime diluído pode fornecer informações a respeito da estrutura da macromolécula, conformação e interações polímero-solvente (YOUNG; LOVELL, 1991).

As medidas de viscosidade foram realizadas em um viscosímetro Cannon-Fenske (nº 75) em banho termostático a $25,0 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,3$. Os valores de tempo de escoamento foram considerados como uma média de 3 medidas apresentando desvio inferior a 0,1%. As amostras GA e GN foram solubilizadas em solução de NaCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, visando minimizar as interações eletrostáticas. A amostra GN-CR foi solubilizada em água Milli-Q ($18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$). A faixa de concentração utilizada foi de $1,0$ a $30,0 \text{ mg ml}^{-1}$.

As viscosidades das soluções poliméricas foram determinadas em relação à viscosidade do solvente puro (η_0), através da razão entre os respectivos tempos de escoamento, mantendo-se o volume do líquido constante. A viscosidade relativa (η_r) é definida como:

$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0} = \frac{t \rho}{t_0 \rho_0} \quad (8)$$

Por se tratar de soluções diluídas a densidade das soluções (ρ) foram consideradas iguais à do solvente puro (ρ_0). Em seguida, a partir da η_r determinou-se a viscosidade específica (η_{sp}), descontando-se o efeito do solvente através da equação:

$$\eta_{sp} = \eta_r - 1 = \frac{t - t_0}{t_0} \quad (9)$$

A razão entre viscosidade específica e concentração (η_{sp}/c) é chamada de viscosidade reduzida (η_{red}) e o seu limite extrapolado à concentração zero é denominada viscosidade intrínseca ($[\eta]$). A $[\eta]$ é uma medida da resistência ao fluxo de uma única molécula e pode ser determinada pela equação de Huggins (HUGGINS, 1942):

$$\eta_{red} = [\eta] + K_H [\eta]^2 c \quad (10)$$

onde K_H é o coeficiente de Huggins, relacionado com a estrutura do polímero e a sua interação com o solvente e c é a concentração de polímero. A $[\eta]$ foi determinada pelo coeficiente linear da relação da η_{red} em função da concentração e está relacionada com o volume hidrodinâmico da macromolécula em solução, sendo expressa em unidade de volume por unidade de massa (MAYS; HADJICHRISTIDIS, 1991).

A partir da $[\eta]$ pode-se estimar a concentração crítica (c^*) da solução, concentração a partir da qual ultrapassa-se o regime diluído e as cadeias de polímero passam a interagir entre si (TERAOKA, 2002):

$$c^* = 1/[\eta] \quad (11)$$

Utilizando-se a equação de Flory-Fox (FLORY; FOX, 1951), que relaciona a viscosidade intrínseca com a massa molar (M) do polímero estimou-se o raio de giro (R_g) da cadeia polimérica nas condições analisadas:

$$[\eta] = \frac{6^{3/2} \Phi R_g^3}{M} \quad (12)$$

onde Φ é a constante de Flory igual a $\sim 2,1 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$, para $[\eta]$ obtida em unidades ml g^{-1} (KENNEDY; KNILL, 1994). A massa molar utilizada para o cálculo foi a obtida através de cromatografia de exclusão por tamanho (M_w). Vale ressaltar que o valor de R_g obtido é uma aproximação a título de comparação entre as duas amostras (GA e GN), visto que a equação considera que a viscosidade seja obtida em condições teta e a constante de Flory é válida para cadeias poliméricas lineares e flexíveis, que não é o caso da goma de acácia.

4.5.4. Espectroscopia de Fluorescência

Para as análises de fluorescência foram preparados 3 mL de cada solução de GA e GN (10 mg mL^{-1}) em concentrações crescentes de NaCl ($0,0 - 2,5 \text{ mols L}^{-1}$). Em cada solução foram adicionados $5 \text{ }\mu\text{L}$ de uma solução etanólica da sonda pireno ($8,0 \times 10^{-4} \text{ mols L}^{-1}$), com um intervalo de 5 horas até o início da análise.

A espectroscopia de fluorescência usando sondas com elevada eficiência de emissão é uma estratégia que tem sido muito utilizada no estudo de processos de agregação/formação de micelas em surfactantes e sistemas poliméricos (CHAUDHURI; HALDAR; CHATTOPADHYAY, 2009; JÓ et al., 2010; LIU et al., 2013; VIEIRA et al., 2003).

O pireno é um exemplo de uma sonda bastante utilizada pois, por ser uma molécula poliaromática apolar, tende a interagir rapidamente com as regiões mais hidrofóbicas do meio. Ele apresenta um espectro de emissão de fluorescência característico com uma dependência linear entre as intensidades das bandas de emissão I ($\lambda = 373 \text{ nm}$) e III ($\lambda = 383 \text{ nm}$) com a micropolaridade do meio em que se encontra (KALYANASUNDARAM; THOMAS, 1977; NAKAJIMA, 1971). Assim, no caso de um sistema polimérico em solução aquosa, uma diminuição da razão entre as bandas I/III indica uma interação do pireno com um ambiente mais apolar, monitorando processos de agregação.

Os espectros foram obtidos à temperatura ambiente ($\sim 22^\circ\text{C}$) em um espectrofluorímetro HITACHI F-4500, em modo de emissão, com comprimento de onda de excitação de 343 nm , abertura de fendas de $2,5 \text{ mm}$ e varredura de 360 a 500 nm (AMIJI, 1995). As análises foram realizadas no Laboratório Multiusuários do Departamento de Química – UFPR.

4.5.5. Titulação potenciométrica

Foram realizadas medidas de titulação potenciométrica a fim de determinar as constantes de dissociação (pK_a s) das gomas de acácia e a variação destas em função do aumento da força iônica do meio.

As amostras de GA e GN foram preparadas em água Milli-Q e em soluções de NaCl em diferentes concentrações (0,1 e 1,0 mol L⁻¹). As soluções foram tituladas em uma cela de 150 mL termostatizada a 25 °C com pequenas adições de uma solução padrão de KOH, livre de CO₂ (0,1008 mol L⁻¹). Todas as precauções para eliminação carbonato e CO₂ durante a titulação foram feitas. A mudança de pH, variando de 2,0 a 8,0, foi acompanhada com um pHmetro digital PHTEK – PHS-3B combinado a um eletrodo de vidro.

Os cálculos das constantes de dissociação foram feitos com o programa BEST7, usando o valor de $pK_w = -13,78$ (MARTELL; HANCOCK, 1996). Os experimentos foram realizados pelo aluno de iniciação científica José Guilherme Lopes Ferreira, sob orientação da Prof.^a Dr.^a Elisa Souza Orth.

4.5.6. Análise estrutural por espalhamento de raios X a baixo ângulo - SAXS

A técnica de SAXS foi empregada para a caracterização estrutural das amostras GA, GN e GN-CR nos regimes diluído e concentrado e também para a caracterização das nanopartículas de ouro (AuNPs) sintetizadas (Capítulo 4.5.7).

As análises das gomas de acácia nas concentrações de 0,1 a 10,0 % (m/m) foram realizadas na linha D1B-SAXS1 do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron – LNLS (Campinas - SP). As medidas foram feitas a 25 °C em duas configurações experimentais, com distâncias amostra-detector de 942,7 e 3100,0 mm, calibradas com behenato de prata. Estas configurações correspondem a faixa de módulo dos vetores de espalhamento (q) de 0,04 a 4,0 nm⁻¹. O comprimento de onda do feixe de raio X utilizado

foi 1,55 Å.

As análises das gomas de acácia nas concentrações acima de 10,0% (m/m) e das AuNPs (0,03% v/v) foram realizadas no setor 12-ID-C do *Advanced Photon Source* – APS (Lemont – IL – EUA), operando com uma energia de 12 keV. As amostras foram introduzidas em capilares de vidro borossilicato com 2,0 mm de diâmetro e analisadas a 25°C, em uma faixa de q de 0,05 a 5,0 nm⁻¹.

Os perfis de espalhamento das amostras foram subtraídos do espalhamento do solvente puro e a $I(q)$ foi calibrada para a escala absoluta utilizando-se água purificada para as análises realizadas no LNLS (DREISS; JACK; PARKER, 2006) e carbono vítreo como padrão secundário para as análises realizadas no APS (ZHANG et al., 2010). A modelagem as curvas experimentais ($I(q)$ vs. q) de acordo com os modelos teóricos foi realizada utilizando o programa Irena implementado no programa Igor Pro (WaveMetrics) (ILAVSKY; JEMIAN, 2009).

4.5.7. Síntese e caracterização das nanopartículas de ouro

Nanopartículas de ouro (AuNPs) foram sintetizadas para serem usadas como sonda nas análises de XPCS. Esta etapa do trabalho foi realizada durante o estágio de doutorado sanduíche realizado no Setor 8-ID-I do *Advanced Photon Source* – APS, localizado no *Argonne National Laboratory* em Lemont – EUA, no período de Outubro/2014 a Setembro/2015, sob orientação do Dr. Alec Sandy.

A síntese foi realizada com base no trabalho publicado por De Barros et al. (2016), utilizando a goma de acácia (GA) como agente estabilizante para prevenir a agregação. Inicialmente, preparou-se 25 mL de uma solução de GA a 2,0 mg mL⁻¹, deixando-a hidratar por 12 horas (T = 4°C). Em seguida, adicionou-se à essa solução, sob agitação, 1,75 mL de uma solução de ácido tetracloroáurico (HAuCl₄) 25 mmol L⁻¹ a 25°C. Após alguns minutos, adicionou-se periodicamente 18 mL do agente redutor, uma solução de boroidreto de sódio (NaBH₄) 6 mmol L⁻¹, a uma taxa de 0,5 mL por minuto. A síntese foi monitorada por espectroscopia UV-Vis (Espectrofotômetro Perkin Elmer Lambda 35),

através do aparecimento da banda de ressonância plasmônica ($\lambda \sim 520 - 540$ nm), característica de nanopartículas de ouro. Após a síntese, as AuNPs obtidas foram concentradas por diálise em sistema fechado (membrana 3 kDa) contra uma solução de poli(óxido de etileno) (PEO) concentrada ($M_w = 1.000.000$ g mol⁻¹, $c = 7,5\%$ m/m) por 4 dias, resultando em uma solução coloidal com 0,03% (v/v). Não se observou alteração significativa no perfil do espectro UV-Vis das AuNPs após serem concentradas.

O tamanho e a forma das AuNPs sintetizadas foram caracterizados por microscopia eletrônica de transmissão (MET). Aproximadamente 10 μ L da solução coloidal de AuNPs (diluída 1:1000) foram depositados em grades de cobre recobertos com filme fino de carbono (200 *mesh*) e secas à temperatura ambiente. As imagens foram obtidas em um microscópio Philips/FEI CM 30 no *Center for Nanoscale Materials* (Argonne National Laboratory – Lemont, EUA). A dimensão das AuNPs foi calculada no programa ImageJ (SCHNEIDER; RASBAND; ELICEIRI, 2012) como uma média da observação de 200 objetos.

O raio hidrodinâmico (R_h) e a carga superficial das AuNPs foram determinados por análises de espalhamento de luz dinâmico (DLS) e potencial zeta (ζ), respectivamente em um equipamento Malvern Zetasizer Nano, que opera com um *laser* He-Ne (4 mV) com $\lambda = 633$ nm. As análises foram realizadas utilizando 3 mL da solução coloidal de AuNPs (diluída 1:100), a uma temperatura de 25°C. Os resultados representam a média de 3 medidas independentes. As análises foram realizadas no *Center for Nanoscale Materials* (Argonne National Laboratory – Lemont, EUA).

4.5.8. Análises dinâmicas por espectroscopia de fotocorrelação de raios X - XPCS

As análises de XPCS foram realizadas no Setor 8-ID-I do *Advanced Photon Source* – APS (Lemont, EUA), sob a supervisão do Dr. Alec Sandy e colaboração do Dr. Robert Leheny. O preparo das amostras foi realizado solubilizando em água os polissacarídeos GA (10, 20, 25, 30 e 40% m/m) e GN (15, 20, 25 e 30% m/m) na presença das AuNPs sintetizadas e deixando-os hidratar por 12 horas ($T = 4^\circ\text{C}$) visando garantir

uma maior homogeneidade das dispersões. As amostras foram introduzidas em capilares de vidro borossilicato com 0,7 mm de diâmetro e seladas, aguardando-se um tempo mínimo de 20 horas entre o preparo do capilar e a análise de XPCS. Esse tempo foi aguardado para permitir a recuperação da estrutura da amostra após o cisalhamento causado no momento em que a amostra é inserida no capilar. Em seguida, os capilares são fixados em um porta-amostra, conforme apresentado na Figura 11 e colocadas no interior da câmara à vácuo na linha de luz, mantida a uma temperatura de 25°C.

O experimento foi realizado incidindo-se um feixe de raio X parcialmente coerente ($20\ \mu\text{m} \times 40\ \mu\text{m}$) de 7,3 KeV de energia na amostra e o espalhamento característico (salpicos, do inglês *speckles*) foi capturado por um detector CCD (dispositivo de carga acoplada) 2D ($\sim 1000\ \text{pixels}^2$) na região de q entre 0,02 a 0,17 nm^{-1} . Os resultados foram considerados como uma média de 10 medidas independentes alterando-se a região da amostra, cada uma obtida por 10000 exposições sucessivas de 10 milissegundos. As funções de autocorrelação de intensidade ($g_2(q,t)$) obtidas foram ajustadas com o programa XPCSGUI (desenvolvido no APS) implementado no programa MATLAB (THE MATHWORKS, 2012).

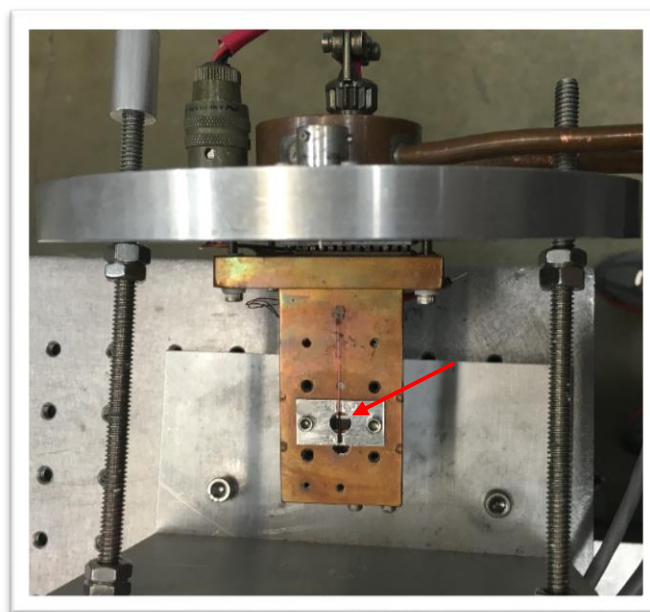


FIGURA 11 - PORTA-AMOSTRAS UTILIZADO NAS ANÁLISES DE XPCS. A FLECHA APONTA PARA O ORIFÍCIO EM QUE O FEIXE DE RAIOS X É INCIDIDO SOBRE A AMOSTRA QUANDO POSICIONADA NA LINHA DE LUZ

4.5.9. Análises reológicas

As análises reológicas foram realizadas para caracterizar o comportamento viscoelástico macroscópico das amostras e comparar com o comportamento dinâmico observado por XPCS. As curvas de viscosidade e os experimentos dinâmico-oscilatórios foram realizados no Setor 8-ID-I do *Advanced Photon Source* – APS (Lemont, EUA), em um reômetro Anton-Paar Physica MCR 301 utilizando um sensor cone-placa CP25-2/TG (diâmetro 24,912 mm, ângulo 2,008°). As análises reológicas foram realizadas somente para a amostra GN nas concentrações 15, 20, 25 e 30% (m/m). As amostras foram solubilizadas em água sob agitação e hidratadas por 12 horas em repouso ($T = 4^{\circ}\text{C}$).

Para comparar as amostras em condições similares, as análises reológicas foram feitas simulando as condições de cisalhamento (preenchimento do capilar) e tempo de repouso a que as amostras foram expostas durante o preparo para as medidas de XPCS. Desse modo, as amostras foram inicialmente pré-cisalhadas de $0,001$ a 1000 s^{-1} (600 s) e, em seguida, acompanhou-se a evolução dos módulos elástico (G') e módulo viscoso (G'') em função do tempo até 20 horas. Nessa análise, utilizou-se uma frequência angular ($1\text{ rad/s} \approx 0.159\text{ Hz}$) e tensão (0,01 Pa) fixas e com um valor mínimo suficiente para a detecção pelo equipamento sem uma perturbação significativa ao sistema. Imediatamente após as 20 horas de recuperação, foram realizadas varreduras de frequência (0,01 – 3,0 Hz) com uma deformação fixa (1%) correspondente à região viscoelástica linear, determinada previamente através de varredura de tensão (frequência = 1 Hz, deformação = 0,01 – 10%). Em seguida, foram realizadas curvas de viscosidade em função do aumento e da diminuição da taxa de cisalhamento de $0,001$ a 1000 s^{-1} , com duração de 600 s cada varredura. Curvas de viscosidade e varreduras de frequência, nas mesmas condições experimentais citadas acima, também foram realizadas para as amostras no estado inicial (sem pré-*shear* seguido de repouso). Todas as análises foram feitas a uma temperatura de 25°C , recobrando-se as bordas do sensor com óleo mineral para evitar a evaporação do solvente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA E TEOR PROTEICO

A composição monossacarídica e teor proteico das amostras GA, GN e GN-CR estão apresentados na Tabela 4. Em geral, as gomas de acácia são compostas pelos monossacarídeos ramnose (Rha), arabinose (Ara), galactose (Gal) e ácido urônico, mas apresentam proporções distintas entre eles dependendo da espécie de origem (ISLAM et al., 1997). As gomas GA e GN são formadas por esses monossacarídeos nas proporções relativas de 1,0:2,4:3,0:1,3 e 1,0:26,0:16,5:6,5, respectivamente. Galactose e arabinose são os monossacarídeos majoritários em ambas, caracterizando-as como arabinogalactanas. A composição monossacarídica obtida para a GA aproxima-se dos valores reportados na literatura para a espécie *A. senegal* (Tabela 1, p. 19) e a GN mostrou uma certa variação com relação aos valores reportados para a goma de *A. mearnsii* coletada na Índia e no Brasil (outra localização) (Tabela 3, p. 28), apresentando um menor teor de ramnose e galactose e maior teor de arabinose.

Comparativamente, ramnose e ácido urônico são mais abundantes na GA enquanto que a arabinose apresenta-se em maior número na GN. Verifica-se, porém, que na amostra GN carboxi-reduzida (GN-CR), além de se confirmar a eficácia da reação pela diminuição no teor de ácidos urônicos, observa-se um aumento no teor de galactose. Esse aumento sugere que as unidades de ácido urônico nessa amostra estejam ligadas preferencialmente às unidades de Gal, como já detectado em outros trabalhos para a goma arábica comercial (ANDERSON; STODDART, 1966; TISCHER, 2002). A ligação entre ácido urônico e monossacarídeos neutros é bastante resistente à hidrólise, fazendo com que as unidades de Gal possam estar subestimadas na amostra GN.

TABELA 4 - COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA E TEOR PROTEICO DAS AMOSTRAS GA, GN E GN- CR

Amostra	Composição monossacarídica (% m/m)						Proteína ^b (% m/m)
	Rha	Ara	4-Me-Glc	Gal	Glc	Ácido Urônico ^a	
GA ¹	13	31	-	39	-	17,0 ± 0,7	3,0 ± 0,1
GN	2	52	-	33	-	13,3 ± 0,4	6,8 ± 0,2
GN-CR	3	37	5	47	6	1,9 ± 0,3	8,5 ± 0,1

Legenda: Rha – ramnose, Ara – arabinose, 4-Me-Glc – 4-metil-glucose, Gal – galactose, Glc - glucose

¹ (GREIN et al., 2013);

^a Dosado pelo método colorimétrico de Filisetti-Cozzi & Carpita (1991);

^b Dosado pelo método colorimétrico de Hartree (1972);

A presença de unidades de ácido urônico na estrutura confere às gomas de acácia um caráter de polieletrólito. Trabalhos anteriores identificaram que o ácido glucurônico (GlcA) é o constituinte ácido principal das gomas de acácia e está localizado preferencialmente nas extremidades da cadeia (ANDERSON; STODDART, 1966; STREET; ANDERSON, 1983). Pela amostra GN carboxi-reduzida (GN-CR), confirmamos essa afirmação pelo aparecimento de glucose (derivado neutro do ácido glucurônico) em sua composição monossacarídica, bem como 4-O-metil-glucose, proveniente do derivado 4-O-metilado de ácido glucurônico. Estes dados estão de acordo com o que foi observado anteriormente para gomas desta espécie por Aspinall et al. (1968).

A dosagem de proteínas revelou que a GN possui aproximadamente o dobro do teor proteico da GA. Como já descrito na Introdução (Capítulo 2.1, p.18), na estrutura das gomas de acácia as cadeias polipeptídicas estão associadas covalentemente ao polissacarídeo e distribuídas, com diferentes proporções, entre as frações presentes (AG, AGP e GP), proporcionando um caráter anfílico à estrutura. Em um trabalho anterior do grupo de pesquisa GPMin - UFPR (DA SILVA et al., 2015) foi confirmada a presença de estruturas glicoconjugadas do tipo arabinogalactana-proteínas (AGPs) nas gomas de *A. senegal* e de *A. mearnsii* pelo método de Yariv (VAN HOLST; CLARKE, 1985).

5.2. CARACTERIZAÇÃO POR CROMATOGRAFIA DE EXCLUSÃO POR TAMANHO - SEC

As amostras GA, GN e GN-CR foram submetidas à análise por cromatografia de exclusão por tamanho (SEC) acoplada aos detectores de índice de refração (RI), espalhamento de luz a 90° (RALS) e ultravioleta (UV, $\lambda = 280$ nm). Os resultados estão apresentados na Figura 12, onde se observam perfis de eluição bastante distintos entre as amostras, revelando uma maior homogeneidade na GA. Os sinais do detector de RALS, mesmo após o alinhamento com relação ao *delay* instrumental, apresentaram um deslocamento para menores volumes de eluição (maior M_w) com relação ao detector de RI. Esse deslocamento é resultado das diferentes sensibilidades de resposta que os detectores apresentam entre si e é tipicamente observado em sistemas com certa dispersão (TARTSCH, 2005). O detector de RI é sensível à concentração do material, o detector de UV ($\lambda = 280$ nm) responde à presença de proteínas em cada fração da amostra e o detector de RALS é sensível à massa molar e à presença de agregados, respondendo, portanto, mais rapidamente em menores volumes de eluição (MAHENDRAN et al., 2008).

A variação no perfil de eluição para gomas de acácia de diferentes espécies tem sido relatada na literatura, porém, uma característica comum entre as diversas amostras é a identificação de mais de uma população pelo detector de UV, evidenciando diferenças na composição proteica das frações com diferentes massas molares (AG, AGP e GP) (AL-ASSAF; PHILLIPS; WILLIAMS, 2005b; LOPEZ-TORREZ et al., 2015; MAHENDRAN et al., 2008; RENARD et al., 2006; VANDEVELDE; FENYO, 1985).

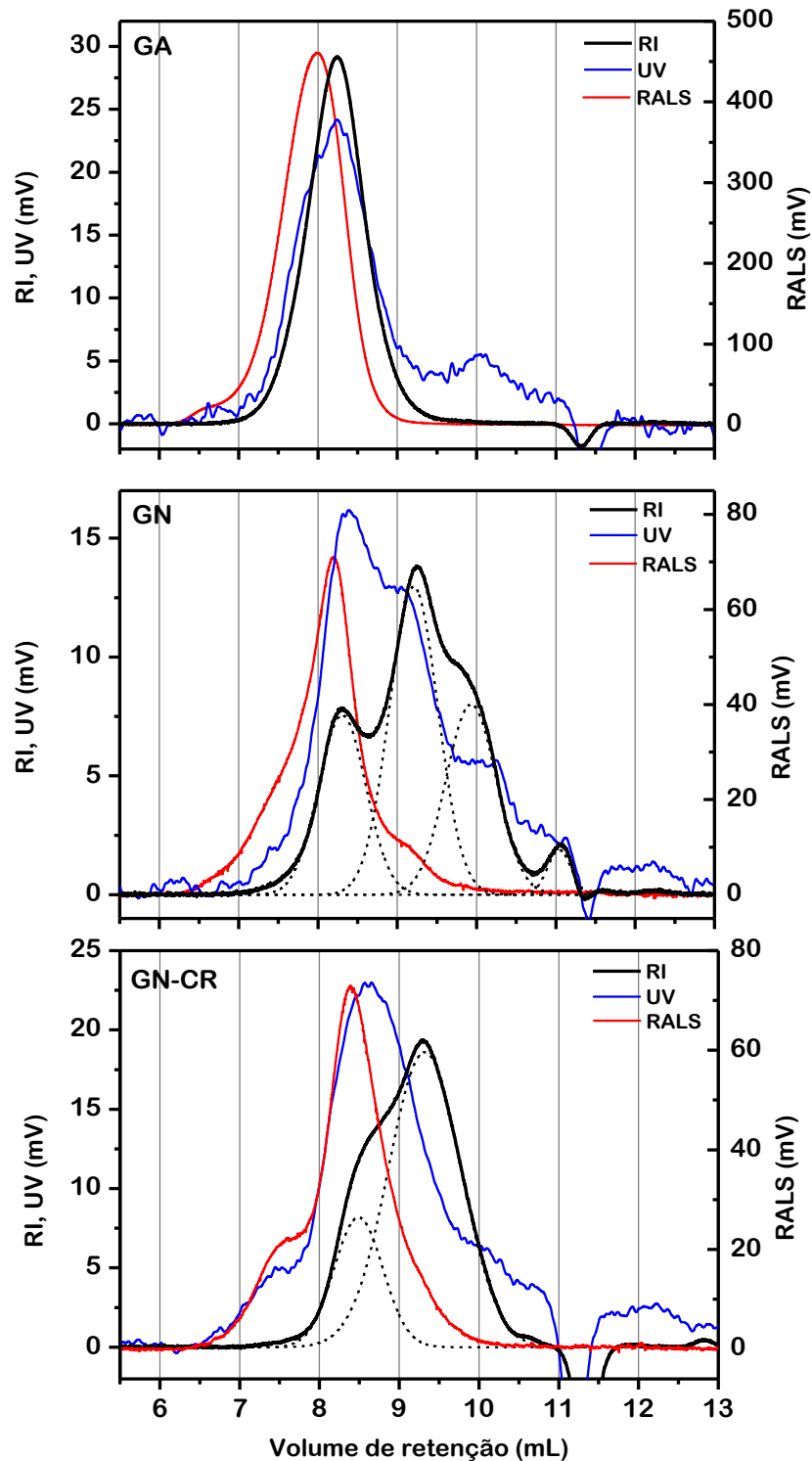


FIGURA 12 - CROMATOGRAMAS DAS AMOSTRAS GA, GN E GN-CR OBTIDOS POR SEC. AS LINHAS PONTILHADAS REPRESENTAM A DECONVOLUÇÃO DO SINAL DE RI DAS AMOSTRAS GN E GN-CR.

Detectors: RI = Índice de refração; RALS = Espalhamento de luz a 90°; UV = Ultravioleta ($\lambda = 280 \text{ nm}$)

Em referência ao sinal de UV (Figura 12), a fração 1 (eluída entre ~7,0 e 8,5 mL) corresponde às macromoléculas de alta massa molar e é composta principalmente pelo complexo arabinogalactana-proteína (AGP). Essa fração corresponde ao pico mais intenso, indicando que a maior parte do conteúdo proteico das amostras se encontra em moléculas de alta massa. A amostra GN-CR apresentou ainda um ombro que se estende para menores volumes de retenção, acompanhado pelo sinal de RALS, indicando a presença de agregados. A segunda população (eluída entre ~8,7 e 9,5 mL) é composta pela fração arabinogalactana (AG). Na amostra GN ela aparece como um ombro de intensidade um pouco menor do que o primeiro pico e na GN-CR e na GA está praticamente co-eluído com a fração 1. A terceira população (eluída entre ~9,5 e 11,0 mL) corresponde à fração glicoproteína (GP). Ela é composta por moléculas de baixa massa molar e ricas em proteína, presentes na amostra GA em baixa concentração (baixo sinal de RI) e com uma contribuição mais evidente nas amostras GN e GN-CR.

Em suma, as três frações (AGP, AG e GP) em conjunto compõem a estrutura das gomas de acácia, porém, apresentam-se em proporções e composições proteicas distintas dependendo da espécie de origem e do grau de associação entre elas (RENARD et al., 2014a).

Analisando o sinal de RI observa-se um perfil de eluição homogêneo para a amostra GA enquanto que a GN e GN-CR possuem uma distribuição mais alargada e heterogêneo. Os picos sobrepostos foram resolvidos por deconvolução, resultando em 4 picos para a GN e 2 picos para a GN-CR, representados pelas linhas pontilhadas na Figura 12. Os valores de M_w calculados para cada pico, bem como os respectivos volumes de eluição, dispersão e percentual relativo na amostra estão apresentados na Tabela 5.

TABELA 5 - DADOS OBTIDOS POR SEC PARA AS AMOSTRAS GA, GN E GN-CR

Amostra	Pico	% relativo (detector RI)	Volume de retenção do pico (mL)	M_w (10^3 g mol ⁻¹)	Dispersão
GA	1	100	8,2	932	1,7
	1	25	8,3	733	1,3
GN	2	42	9,2	69	1,4
	3	26	9,9	13	1,0
	4	7	11,0	-	-
GN-CR	1	20	8,5	804	1,3
	2	80	9,3	80	2.3

A amostra GA apresenta um pico (detector RI e RALS) com M_w igual a 932.000 g mol⁻¹ e uma dispersão de 1,7, similar aos valores comumente reportados para a goma de *A. seyal* (ISLAM et al., 1997; LOPEZ-TORREZ et al., 2015). O primeiro pico (detector RI) da GN corresponde a 25% da área total com M_w igual a 733.000 g mol⁻¹. O segundo pico (detector RI) é o sinal majoritário (42% do total) com M_w igual a 69.000 g mol⁻¹, o qual, juntamente com o pico 3 (26%) de M_w igual a 13.000 g mol⁻¹, representam a fração AG. O pico 4 (7%) corresponde à fração de baixa massa GP, cujo M_w não pode ser determinado devido à ausência do respectivo sinal no detector de RALS. Comparativamente à GN, a GN-CR apresenta uma distribuição de tamanhos mais estreita com apenas dois picos (detector RI). Observa-se que apresentam uma maior M_w (804.000 e 80.000 g mol⁻¹) comparando-se com os dois primeiros picos da GN (detector RI), mas eluem em volumes de retenção maiores (8,5 e 9,3 mL), indicando que ocupam um menor volume hidrodinâmico. O menor teor de ácidos na estrutura da GN-CR diminui a repulsão eletrostática entre os grupos e permite uma maior associação entre as cadeias o que sugere uma estrutura mais compacta.

5.3. DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ZETA

Através de medidas de potencial zeta (ζ) foi verificado o efeito da concentração de eletrólitos na carga elétrica superficial das gomas de acácia GA (pH ~5) e GN (pH ~4,0). Na Figura 13 pode-se observar que na ausência de NaCl, o potencial zeta da GA é aproximadamente -29 mV e o da GN -16,0 mV. A carga superficial mais negativa da GA é devido ao seu maior teor de ácidos urônicos na estrutura (Tabela 4, p. 54) e contribui para uma maior estabilidade das partículas.

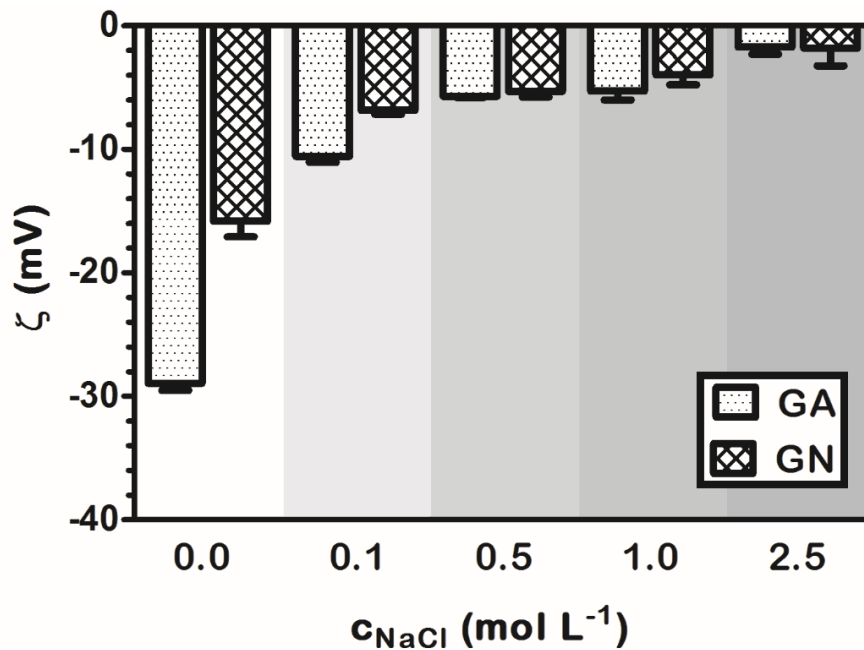


FIGURA 13 - POTENCIAL ZETA DAS SOLUÇÕES DE GA E GN (10,0 mg mL⁻¹) EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NaCl

Conforme aumenta-se a concentração de NaCl, os potenciais zeta diminuem e se aproximam da neutralidade devido a compressão da dupla camada elétrica (SHAW, 1992), e com aproximadamente 0,5 mol L⁻¹ de NaCl, os valores para as duas gomas se igualam, indicando que o efeito eletrostático dos grupos ionizáveis é minimizado e torna-se equivalente nos dois sistemas. Ainda com a adição de 2,5 mol L⁻¹ de NaCl os dois sistemas permanecem estáveis sem a observação de precipitação.

Na Figura 14 estão apresentadas as curvas de distribuição de potencial zeta para as amostras GN e GN-CR ($10,0 \text{ mg mL}^{-1}$) em água. Pode-se observar que o potencial zeta no ponto máximo da curva de distribuição passa de aproximadamente -16 mV (GN) para $+2 \text{ mV}$ (GN-CR), evidenciando a eficácia do procedimento de carboxi-redução.

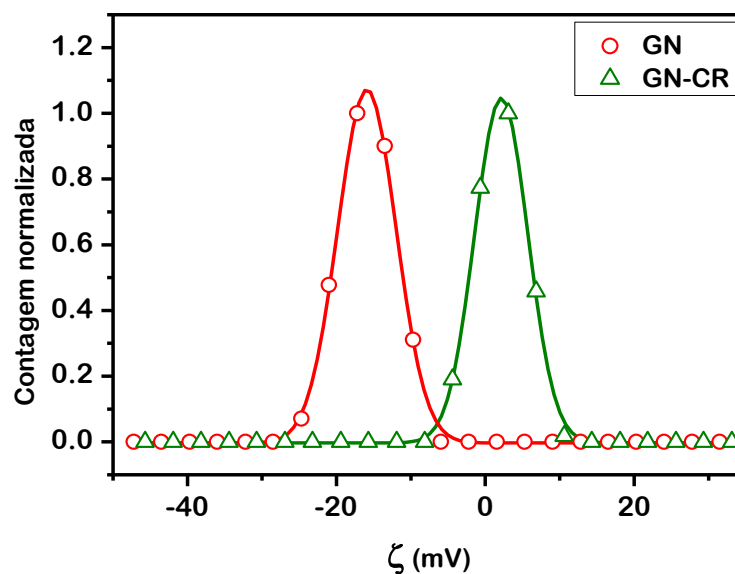


FIGURA 14 - CURVA DE DISTRIBUIÇÃO DO POTENCIAL ZETA (ζ) DAS AMOSTRAS DE GN E GN-CR ($10,0 \text{ mg mL}^{-1}$) EM ÁGUA

5.4. DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE INTRÍNSECA POR VISCOSIMETRIA CAPILAR

O comportamento viscosimétrico distinto de soluções de polieletrólitos comparado com polímeros neutros é muito citado na literatura (BEHROUZIAN; RAZAVI; KARAZHIYAN, 2014; NODA; TSUGE; NAGASAWA, 1970; ROURE et al., 1998; WEILL, 1991). Esse comportamento diferente foi definido em 1948 por Fuoss e Strauss como efeito polieletrólítico e se refere à observação de um aumento abrupto na viscosidade reduzida (η_{red}) das soluções de polieletrólitos em água à medida que a solução é diluída (FUOSS; STRAUSS, 1948), como pode ser observado na Figura 15 para a GA e GN solubilizadas em água. Isso acontece porque com a diluição da solução há uma redução

da força iônica do meio, proveniente, nesse caso, dos contra-íons presentes, reduzindo assim a blindagem dos grupos carregados e causando uma expansão das cadeias com o aumento das interações intermoleculares repulsivas (JAMIESON; SIMHA, 2010; MAYS; HADJICHRISTIDIS, 1991).

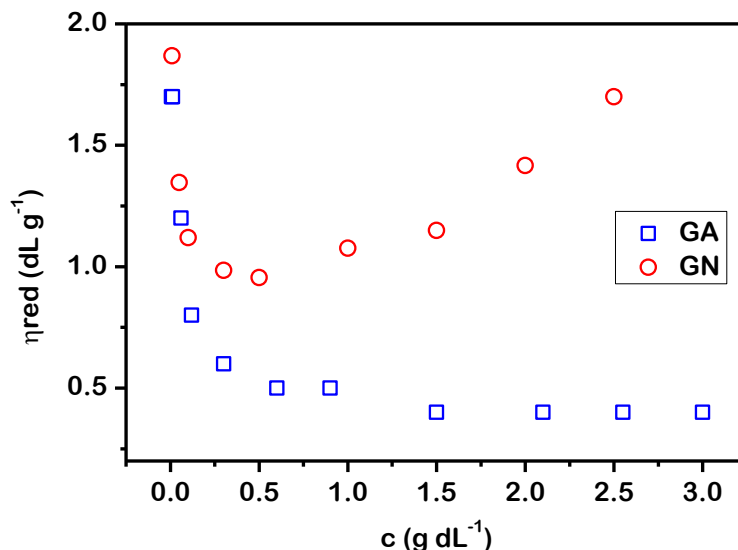


FIGURA 15 - VISCOSIDADE REDUZIDA (η_{red}) EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE GA E GN SOLUBILIZADAS EM ÁGUA

Esse efeito se contrapõe à condição de regime diluído, onde as cadeias estão isoladas e não interagem entre si, impossibilitando a extrapolação linear da η_{red} à concentração zero para a obtenção da viscosidade intrínseca $[\eta]$ do polímero. Por conseguinte, para tornar possível a determinação da viscosidade intrínseca, uma das alternativas é suprimir as interações intercadeias minimizando as repulsões eletrostáticas de longo alcance através da adição de um sal (RINAUDO, 2008).

A Figura 16 mostra a viscosidade relativa (η_r) das gomas GA e GN ($10,0 \text{ mg mL}^{-1}$) em função da concentração de NaCl. Pode-se observar que a η_r de ambas as amostras diminui com a adição de até $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl devido a minimização das interações eletrostáticas intercadeias. Acima de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ é observado um leve aumento da η_r para a GN indicando que acima dessa concentração promove-se a agregação das cadeias. Sendo assim, estabeleceu-se a concentração de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl para as medidas de viscosidade de ambas as amostras.

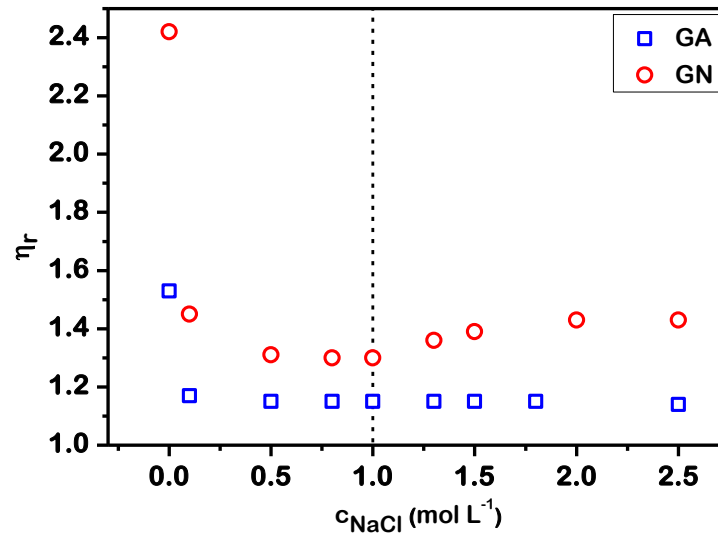


FIGURA 16 - INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE NaCl NA VISCOSIDADE RELATIVA DAS SOLUÇÕES DAS GOMAS GA E GN (10,0 mg ml⁻¹)

A Figura 17 apresenta os gráficos de Huggins obtidos para as amostras GA e GN em NaCl 1,0 mol L⁻¹ e GN-CR em água, relacionando a variação da viscosidade reduzida (η_{red}) em função da concentração. Verifica-se que a amostra GN-CR não apresentou o comportamento típico de polieletrólito, mostrado na Figura 16, quando dissolvida em água, mais uma evidência da eficácia do procedimento de carboxi-redução realizado. Os resultados apresentaram uma correlação linear satisfatória, com R^2 igual a 0,9965, 0,9967 e 0,9964 para a GA, GN e GN-CR, respectivamente, possibilitando o cálculo das viscosidades intrínsecas pela extrapolação da η_{red} à concentração zero. Na Tabela 6 estão apresentados os valores de $[\eta]$ e K_H (coeficiente de Huggins) obtidos, juntamente com os valores de concentração crítica (c^*) e raio de giro (R_g) calculados pelas equações 11 e 12 (p. 46), respectivamente.

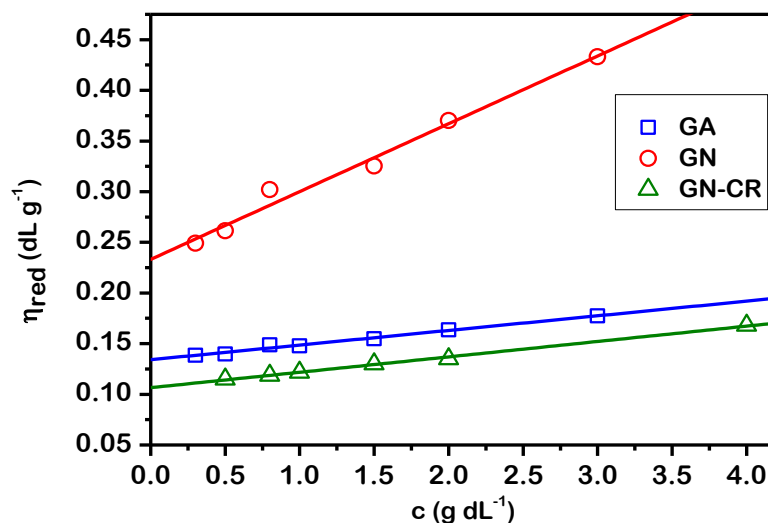


FIGURA 17 - GRÁFICO DE HUGGINS PARA A GA E GN EM NaCl 1,0 mol L⁻¹ E GN-CR EM H₂O

Pelos parâmetros apresentados na Tabela 6 verifica-se que a GN, formada por 4 populações de tamanhos distintos (Tabela 5, p. 58), apresenta maiores valores de $[\eta]$ e R_g , indicando que ocupa um maior volume hidrodinâmico do que a GA nas condições analisadas. Esses maiores valores de $[\eta]$ e R_g para a GN, aliados à sua menor distribuição de M_w (Tabela 5, p. 58), evidenciam que possui uma organização estrutural mais estendida do que a GA, que por sua vez, apresenta cadeias com maior M_w em um menor volume hidrodinâmico (menor $[\eta]$ e menor R_g).

TABELA 6 - PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DAS AMOSTRAS GA E GN OBTIDOS POR VISCOSIMETRIA CAPILAR

Amostra	$[\eta]$ (dL g ⁻¹)	K_H	c^* (mg mL ⁻¹)	R_g (nm) ^a
GA	0,13	0,8	76,9	15,8
GN	0,23	1,2	43,5	17,6
GN-CR	0,11	1,3	93,8	14,2

^a considerando a fração de maior M_w

Essa organização estrutural mais compacta da GA pode ter relação com o seu maior teor de ramnose (Tabela 4, p. 54). A ramnose é um deoxi-açúcar, cujo C6 é uma

metila (-CH₃), um grupamento mais apolar e menos volumoso se comparado ao C6 das outras hexoses, como a galactose, cujo C6 está na forma de um álcool (-CH₂OH). Dessa forma, a ramnose pode atuar como um cotovelo dobrando a cadeia, mantendo-a mais compacta. Além disso, como já mencionado, a GN apresenta uma estrutura mais ramificada do que a GA e, apesar de o aumento do grau de ramificação de uma cadeia geralmente diminuir o seu volume hidrodinâmico, ele confere uma maior rigidez à estrutura (HIEMENZ, 1984). Aliado a isso, a repulsão eletrostática entre os grupos carregados confere à estrutura uma rigidez ainda maior, induzindo a uma conformação mais aberta. Uma evidência de que os grupos ácidos têm uma importante contribuição na rigidez da estrutura é mostrada pelos resultados da amostra GN-CR. Com a redução da quantidade de grupos ácidos ocorre uma significativa diminuição da $[\eta]$ e, conseqüentemente, do R_g , indicando uma maior flexibilidade estrutural que permite uma maior compactação.

Os valores de c^* são inversamente proporcionais ao volume hidrodinâmico da cadeia, pois indicam o limite de concentração em que as moléculas começam a interagir entre si. Para a GN, por possuir uma maior $[\eta]$, o valor de c^* calculado foi de 43,5 mg mL⁻¹, enquanto que para a GA esse valor é de 76,9 mg mL⁻¹. Isso indica que para ambas as amostras a determinação da $[\eta]$ foi realizada em regime diluído ($c < 30,0$ mg mL⁻¹), validando assim os resultados obtidos.

O coeficiente de Huggins (K_H) está relacionado com a estrutura do polímero em solução e a qualidade do solvente para a amostra. Em geral, para polímeros flexíveis são observados valores de K_H entre 0,2 e 0,8, sendo que em solvente θ comumente são reportados valores de $K_H \sim 0,6$, onde não há interações preferenciais entre o polímero e o solvente, e valores maiores à medida que se diminui a qualidade do solvente e as interações polímero-polímero passam a ser preferenciais (GOODWIN, 2009; MAYS; HADJICHRISTIDIS, 1991). Além disso, vários estudos também apontam para uma relação mais complexa de K_H com vários outros parâmetros, como por exemplo massa molar, conformação, grau de ramificação da cadeia, heterogeneidade e tendência à associação, resultando em maiores valores de K_H dependendo do sistema em questão (MISHRA; KOBAYASHI, 1999; PAMIES et al., 2008; PAN; CHENG, 2000). A GA apresenta um valor de $K_H = 0,8$, enquanto que o maior valor observado para a GN ($K_H =$

1,2) e GN-CR ($K_H = 1,3$) pode estar associado ao seu maior grau de ramificação, ou por apresentar uma menor afinidade pelo solvente, justificada pelo maior teor proteico com caráter hidrofóbico.

Na literatura são reportados parâmetros similares aos encontrados para a GA e GN para gomas de acácia em geral (AL-ASSAF; PHILLIPS; WILLIAMS, 2005b; ANDERSON; RAHMAN, 1967; FLINDT et al., 2005; IDRIS; WILLIAMS; PHILLIPS, 1998; LOPEZ-TORREZ et al., 2015; SANCHEZ et al., 2002). Não foram encontrados na literatura dados de $[\eta]$ e R_g referentes à goma de *A. mearnsii* para comparação.

5.5. ANÁLISE DA CAPACIDADE DE ASSOCIAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA

As análises de espectroscopia de fluorescência foram realizadas para investigar o efeito da concentração de eletrólitos (NaCl) no processo de associação e agregação das cadeias de goma de acácia. Na Figura 18 pode-se observar os espectros de emissão de fluorescência do pireno na presença de soluções de GA (10 mg mL^{-1}) em diferentes forças iônicas.

Através da variação das bandas I (373 nm) e III (384 nm) do espectro do pireno é possível obter informações a respeito da micropolaridade do meio em que ele se encontra e correlacionar com a capacidade de associação do polissacarídeo (KALYANASUNDARAM; THOMAS, 1977). A partir dos espectros de emissão do pireno na presença das gomas GA e GN ($10,0 \text{ mg mL}^{-1}$) foram calculadas as razões entre as bandas I e III em função do aumento da concentração de NaCl no meio, de 0,0 a $2,5 \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 19.

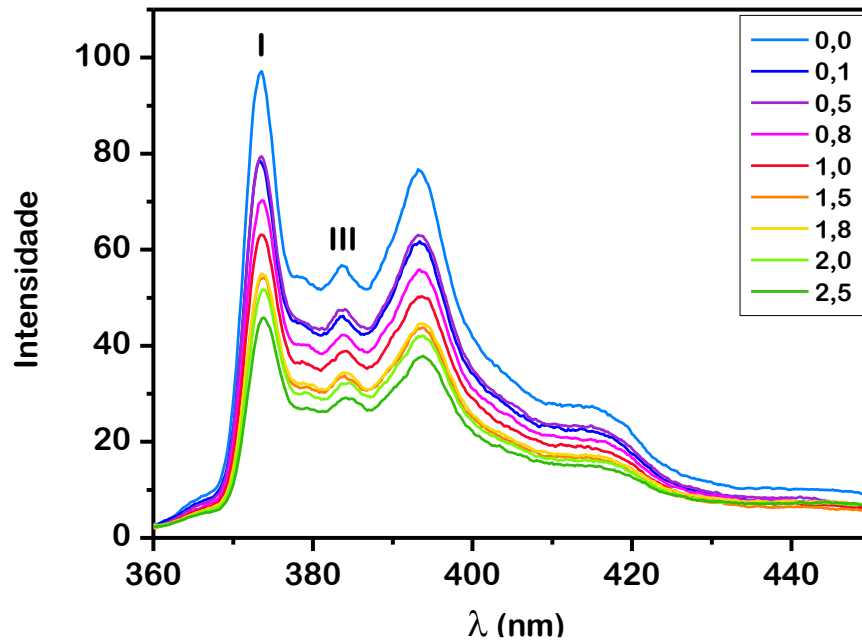


FIGURA 18 - ESPECTROS DE EMISSÃO DE FLUORESCÊNCIA DO PIRENO NA PRESENÇA DE SOLUÇÕES DE GA (10 mg mL^{-1}) CONTENDO CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE NaCl: DE ZERO À $2,5 \text{ mol L}^{-1}$

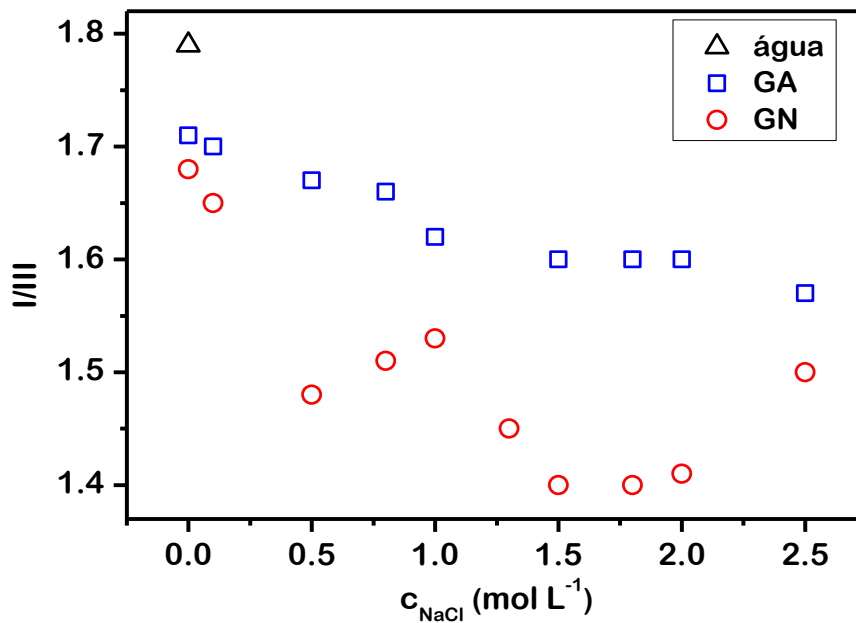


FIGURA 19 - RELAÇÃO ENTRE AS BANDAS I E III DE EMISSÃO DO PIRENO EM ÁGUA E EM SOLUÇÕES DE GA E GN (10 mg mL^{-1}) EM CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE NaCl

De acordo com a Figura 19 observa-se que a razão I/III do pireno somente em água é aproximadamente 1,80 e decai com a adição de GA ou GN para 1,71 e 1,68, respectivamente. Com a adição de NaCl no meio, a razão I/III continua a decair, indicando que com a crescente adição de eletrólitos na solução o pireno se encontra em um ambiente menos polar, evidenciando a associação e formação de domínios mais hidrofóbicos na estrutura das gomas de acácia, induzido pela força iônica do meio.

Observa-se que o perfil de decaimento da razão I/III é distinto para cada goma. A GN apresentou os menores valores de I/III em toda a região analisada, indicando que independente das condições da solução, sua estrutura possibilita a formação de microdomínios com caráter mais apolar. Por viscosimetria capilar, verificou-se que a amostra GN apresenta a estrutura menos compacta do que a GA (Tabela 6, p. 63), o que aparenta ser contraditório. Porém, como visto pela amostra GN-CR, o volume hidrodinâmico parece ser influenciado principalmente pelos grupos ácidos, ou seja, pela porção polissacarídica da amostra. No caso da fluorimetria, como o pireno é uma sonda apolar, os resultados certamente refletem mais diretamente as características da parte proteica da amostra, com caráter mais hidrofóbico. Dessa forma, o maior teor proteico da GN (Tabela 4, p. 54), possivelmente é um dos fatores que contribui para essa associação mais efetiva e formação de domínios hidrofóbicos e, além disso, a distribuição de parte desse teor proteico em frações de baixa massa, como observado por SEC (Figura 12, p. 56), também devem favorecer o processo de agregação.

Anteriormente, no trabalho de mestrado da autora da presente tese, foi observado que a GN em solução aquosa apresenta domínios mais hidrofóbicos do que a GA em função do aumento da concentração de goma. À uma concentração de 100 mg mL^{-1} a GA apresentou uma razão I/III de 1,55 enquanto que a GN atingiu valores em torno de 0,90 em solução de NaCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (GREIN, 2012). Esses resultados reafirmam as propriedades associativas das gomas de acácia e evidenciam a presença de ambientes com grande caráter apolar, visto que, de acordo com a literatura, o pireno apresenta tipicamente valores de I/III $\sim 0,6$ quando dissolvido em solventes apolares (hexano) (DOWLING; THOMAS, 1990).

A técnica de espectroscopia de fluorescência usando o pireno como sonda é interessante pois auxilia na investigação dos processos de agregação. Essa

caracterização dá suporte para potenciais aplicações das gomas de acácia, como por exemplo, na estabilização de nanocompósitos de polímeros condutores como a polianilina, conforme reportado por Quintanilha et al. (2014). Os autores verificaram que o grau de associação da goma de acácia e, conseqüentemente, a formação de sítios hidrofóbicos tem grande influência na morfologia dos nanocompósitos formados e no seu comportamento eletroativo.

5.6. DETERMINAÇÃO DAS CONSTANTES DE DISSOCIAÇÃO POR TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA

Visto que as gomas de acácia possuem grupos ionizáveis (ácidos carboxílicos, aminas) elas são pH-responsivas. Logo, conforme o pH da solução se altera, o grau de ionização do polissacarídeo varia e pode ocasionar mudanças na sua conformação devido às interações eletrostáticas entre estes grupos e também à concentração e distribuição dos contra-íons. Deste modo, a determinação das constantes de dissociação ($pKas$) em diferentes condições do meio pode ajudar no entendimento das mudanças conformacionais causadas pela contribuição eletrostática destes grupos.

Na Figura 20 estão apresentadas as curvas de titulação das amostras GA e GN em água. As linhas representam o ajuste das curvas realizado com o programa BEST7, o qual foi conseguido com a atribuição três $pKas$ distintos para ambas as amostras.

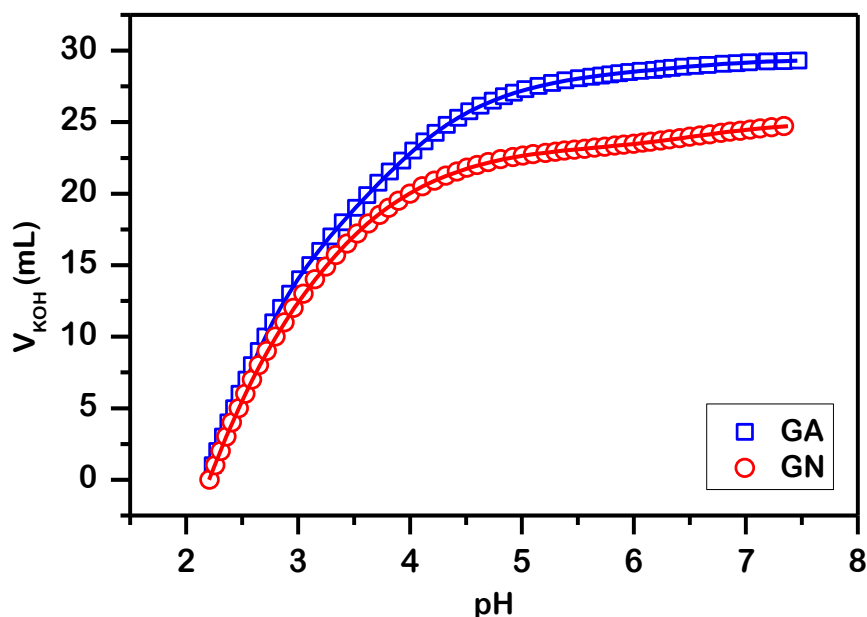


FIGURA 20 - CURVAS DE TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA DAS GOMAS GA E GN (10 mg mL⁻¹, 25 °C) COM KOH 0,1 mol L⁻¹. AS LINHAS CORRESPONDEM AO AJUSTE OBTIDO PELO PROGRAMA BEST7

Os dois primeiros pK_a s foram atribuídos aos ácidos urônicos de acordo com a faixa de valores observado na literatura para estes grupos (pK_a s no intervalo entre 3 e 4) (KOHN; KOVÁČ, 1978; RENARD et al., 2006). Acredita-se que a atribuição de dois pK_a s distintos nesta região seja devido à presença de dois tipos de ácidos na estrutura das gomas de acácia, ácido glucurônico e ácido 4-O-metil-glucurônico. A presença do derivado 4-O-metilado na amostra GN foi confirmada através da análise de composição monossacarídica da amostra GN-CR (Tabela 4, p. 54). Analisando a literatura, alguns autores também já identificaram a presença destas unidades em amostras provenientes das espécies *A. senegal* e *A. seyal* (ANDERSON et al., 1968; STREET; ANDERSON, 1983; TISCHER, 2002). Além disso, há a possibilidade de uma pequena contribuição nessa região dos grupos carboxílicos provenientes dos aminoácidos ácido aspártico e ácido glutâmico que perfazem aproximadamente 10% do teor proteico total das gomas de acácia de acordo com a composição de aminoácidos reportada na literatura (Tabela 2, p. 21). Desta forma, o pK_a dos ácidos urônicos (pK_a^1) foi considerado como a média ponderada entre esses dois primeiros pK_a s obtidos pelo ajuste matemático das curvas de titulação.

O pK_a em torno de 6,5 foi atribuído à porção proteica (pK_a^2). Segundo a composição de aminoácidos apresentada na Tabela 2 (p. 21), aproximadamente 10 % do teor proteico das gomas de acácia é composto pelos aminoácidos básicos histidina, lisina e arginina, que possuem na cadeia lateral grupos ionizáveis imidazol, amino e guanidino, respectivamente. O valor de $pK_a = 6,5$ é típico do grupo imidazol das unidades de histidina, que dentre os três aminoácidos citados é o mais abundante na estrutura das gomas de acácia (LOPEZ-TORREZ et al., 2015; THURLKILL et al., 2006). O pK_a dos grupos lisina e arginina é comumente maior (~10) mas, em alguns casos, podem chegar a apresentar valores em torno de 6 dependendo do ambiente em que se encontram (PACE; GRIMSLEY; SCHOLTZ, 2009). Portanto, podem estar contribuindo para o pK_a observado em torno de 6,5 ou estar acima da faixa de pH analisada. Uma representação das estruturas das possíveis espécies envolvidas nos equilíbrios de dissociação das gomas de acácia está mostrada na Figura 21. Sendo que o pK_a^1 refere-se ao equilíbrio de ionização dos grupos ácidos, majoritariamente dos ácidos glucurônico e 4-O-metilglucurônico e, em menor proporção, das cadeias laterais dos ácidos aspártico e glutâmico da cadeia proteica. O pK_a^2 envolve o equilíbrio de ionização dos grupos imidazol do aminoácido histidina e possivelmente dos grupos amino e guanidino dos aminoácidos lisina e arginina, respectivamente.

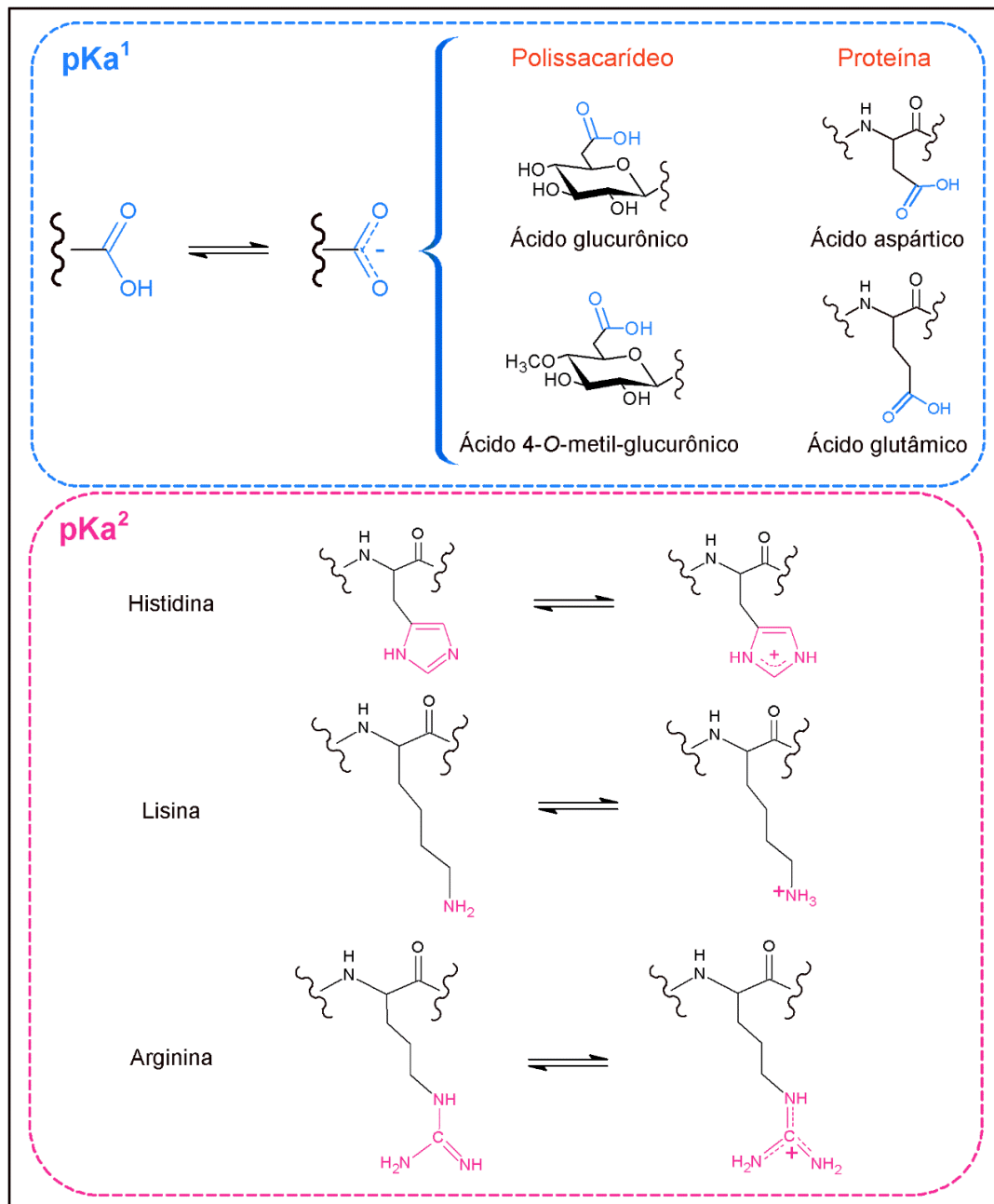


FIGURA 21 - REPRESENTAÇÃO DAS ESPÉCIES ENVOLVIDAS NO EQUILÍBRIO DE IONIZAÇÃO (pK_a^1 E pK_a^2) DAS GOMAS DE ACÁCIA

Para verificar o efeito da concentração do polissacarídeo e da força iônica do meio nos valores de pK_a , foram realizadas titulações potenciométricas utilizando diferentes concentrações de goma de acácia solubilizadas em água ($0,1 - 150,0 \text{ mg mL}^{-1}$) e em diferentes concentrações de NaCl ($0,1$ e $1,0 \text{ mol L}^{-1}$). A Figura 22 mostra a relação entre os pK_a s encontrados para os ácidos urônicos (pK_a^1)

em função da concentração de GA e GN em água. Os pK_a s referentes aos grupos proteicos (pK_a^2) não apresentaram uma variação significativa em função da concentração e os resultados não estão apresentados.

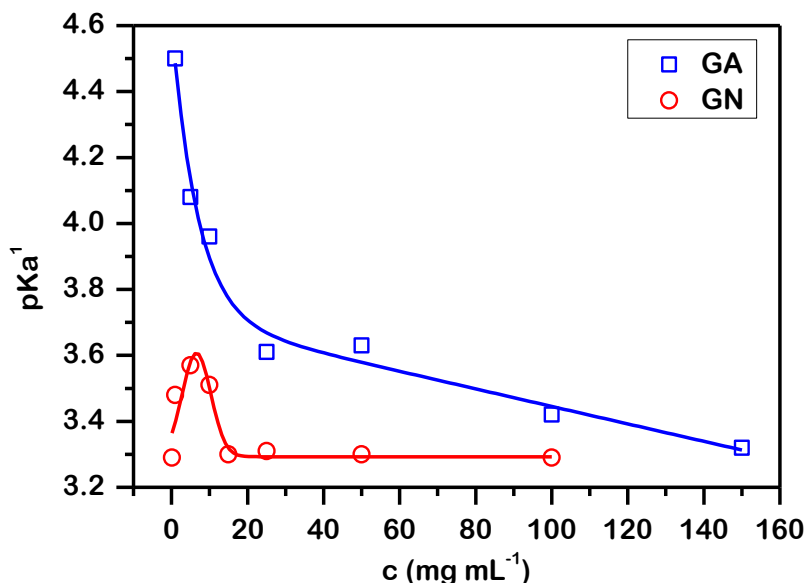


FIGURA 22 - VARIAÇÃO DO VALOR pK_a^1 EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE GA E GN EM ÁGUA

Analisando os perfis de variação do pK_a , observa-se que para a GA ocorre uma diminuição abrupta do pK_a^1 de 4,5 para 3,6 com o aumento da concentração de goma até aproximadamente 25 mg mL^{-1} , seguido de um decaimento mais sutil alcançando valores de $pK_a^1 \sim 3,3$ a uma concentração de $150,0 \text{ mg mL}^{-1}$. O valor de concentração em que se observa a inflexão no gráfico ($\sim 25 \text{ mg mL}^{-1}$) está próximo ao valor de concentração de agregação crítica (cac) encontrado previamente por medidas de tensão superficial ($27,0 \text{ mg mL}^{-1}$ para a GA em água) (GREIN et al., 2013).

A GN apresenta um perfil diferente, inicialmente observa-se um pequeno aumento no valor de pK_a^1 de 3,3 para 3,6 em baixas concentrações, seguido de um decaimento de 3,6 até 3,3 com o aumento da concentração até aproximadamente 15 mg mL^{-1} e por fim mantendo-se aproximadamente constante até $100,0 \text{ mg mL}^{-1}$. O valor de concentração que delimita o início do patamar ($\sim 15,0 \text{ mg mL}^{-1}$) também coincide com o valor de cac encontrado por tensão superficial para a GN em água ($14,2 \text{ mg mL}^{-1}$) (GREIN et al., 2013).

Comparando-se os resultados pode-se perceber que o valor de pK_a^1 da GA é mais sensível ao aumento da concentração do que a GN, visto que o decréscimo nos valores de pK_a^1 foram de 26% e 8% para a GA e a GN, respectivamente. Essa diminuição nos pK_a s se deve a uma variação do ambiente a que estes grupos ácidos estão expostos, nesse caso, induzido pelo aumento das interações intermoleculares. O maior decaimento do pK_a observado para a GA indica que apresenta uma flexibilidade estrutural possibilitando uma maior reorganização das cadeias de modo a promover o processo de desprotonação. No caso da GN esse decaimento também é observado, mas em menor proporção, relativo à sua maior rigidez na cadeia originada pelo maior grau de ramificação, como já mencionado no Capítulo 5.4 (p. 60).

Mesmo apresentando uma menor variação em função da concentração, os valores de pK_a^1 calculados para a GN são menores do que os da GA em toda a faixa de concentração analisada. Menores valores de pK_a correspondem a uma maior acidez, ou seja, maior capacidade de ionização em pHs menores. Existem, em geral, três efeitos principais que podem influenciar no valor de pK_a e colaborar para a formação do ânion carboxilato. Um deles é a polaridade do meio em que o grupo se encontra, pois, uma maior constante dielétrica do solvente favorece a estabilização do grupo carregado, resultando em uma diminuição do pK_a . Outro efeito provém da possibilidade de interação desses grupos ionizáveis com outros grupos polares da cadeia através de interações de hidrogênio. Nesse caso, o estado de ionização vai se ajustar de modo a otimizar essas interações, se forem mais favoráveis ao estado protonado do grupo ácido resultará em um aumento no valor de pK_a , caso favoreçam o estado desprotonado o efeito oposto será observado. O terceiro efeito resulta das interações coulombicas entre grupos de carga oposta. A presença de cargas positivas no entorno dos grupos ácidos favorece a sua ionização e resulta em uma diminuição do seu pK_a (LI; ROBERTSON; JENSEN, 2005; PACE; GRIMSLEY; SCHOLTZ, 2009).

Dessa forma, a maior capacidade de estabilização do ânion carboxilato, reflexo da diminuição do pK_a com o aumento da concentração de GA e GN pode estar relacionado com a aproximação de grupos doadores de elétrons, como por exemplo, os grupos guanidino, imidazol e amino presentes nos aminoácidos básicos como citado anteriormente. Na região do pK_a^1 esses grupos encontram-se positivamente carregados

como representado na Figura 21 (p. 71) (PACE; GRIMSLEY; SCHOLTZ, 2009). Seguindo essa ideia, a maior acidez observada para a GN resulta do maior teor proteico presente na sua estrutura e indica que possui uma maior disponibilidade desses aminoácidos básicos para atuar na estabilização dos ânions carboxilatos.

Apesar dessas diferenças nos perfis de variação do pK_a^1 , uma característica comum para as duas amostras é a presença de uma inflexão no gráfico na região de concentração coincidente com o respectivo valor de concentração de agregação crítica (cac). A cac está relacionada com o início de uma associação cooperativa entre as moléculas precedendo o processo de micelização (HOLMBERG et al., 2002), evidenciando que a diminuição do pK_a^1 observada está relacionada com alterações na organização estrutural das cadeias induzidas por interações intermoleculares.

Em concentrações abaixo da cac também se observou uma diminuição nos pK_a s com a adição de NaCl (0,1 e 1,0 mol L⁻¹) (Figura 23). Para a GA (10,0 mg mL⁻¹) o valor de pK_a^1 diminuiu de aproximadamente 4,0 em água para 3,9 e 3,6 em NaCl 0,1 e 1,0 mol L⁻¹, respectivamente. Já para a GN (10,0 mg mL⁻¹) a variação foi de 3,5 para 3,4 e 3,3, respectivamente. A diminuição no valor de pKa é esperada, pois a adição de eletrólitos no meio desloca o equilíbrio químico no sentido a aumentar o grau de dissociação (CASTELLAN, 1964). De acordo com a teoria de Debye-Hückel (1923), em uma solução iônica há uma maior probabilidade de se encontrar, nas vizinhanças de um íon, um excesso de contra-íons formando uma nuvem denominada atmosfera iônica. Essa interação eletrostática do íon com a sua atmosfera iônica reduz a energia e, portanto, o potencial químico do íon central, estabilizando-o (ATKINS; PAULA, 2003). Essa estabilização favorece a ionização dos grupos ácidos diminuindo assim o seu valor de pKa.

No caso do pK_a das proteínas (Figura 23), porém, não é observada uma variação significativa no valor de pK_a^2 com o aumento da concentração de NaCl. A GA apresentou uma variação de 0,5% enquanto que para GN essa variação foi de 2,5%. Essa insensibilidade ao efeito da presença de eletrólitos no meio deve estar relacionada com a estrutura das gomas de acácia na forma *wattle-blossom* (Figura 2, p. 22). Como observado por espectroscopia de fluorescência (Capítulo 5.5), o aumento da força iônica do meio induz a uma maior associação das cadeias proteicas formando microambiente

hidrofóbicos no interior da estrutura e tornando esses grupos proteicos mais inacessíveis aos fatores externos.

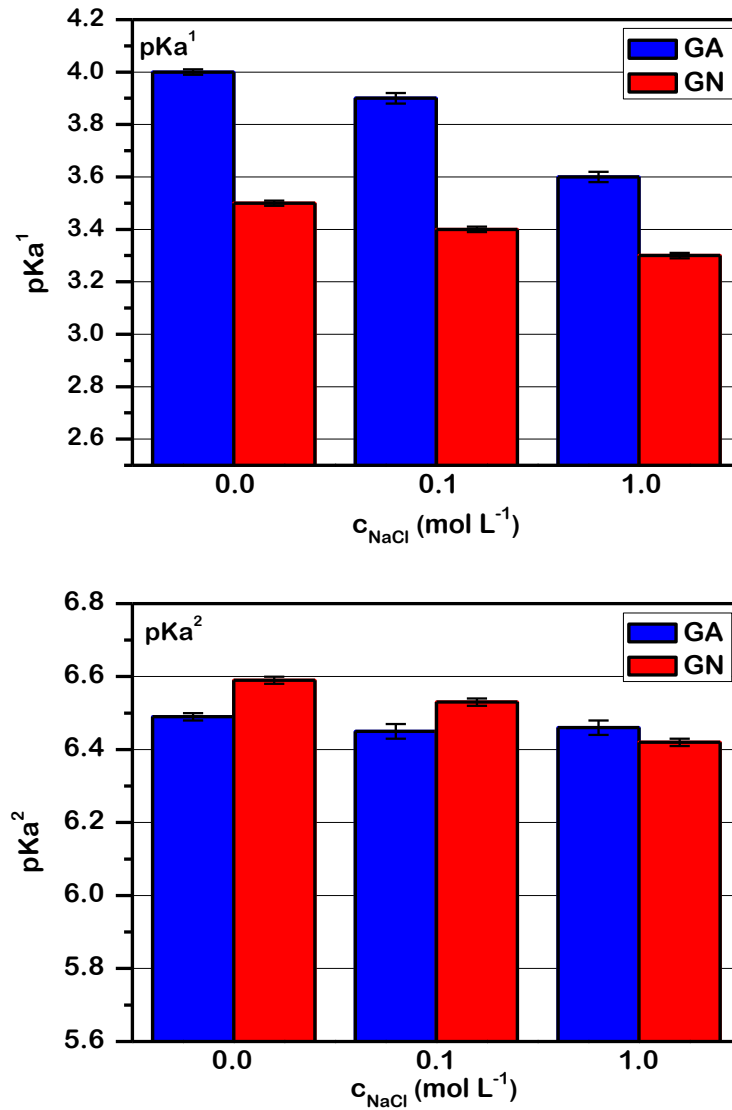


FIGURA 23 - VARIÇÃO NOS VALORES DE pK_a DOS GRUPOS ÁCIDOS (pK_a^1) E DOS GRUPOS DA FRAÇÃO PROTEICA (pK_a^2) EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NaCl NO MEIO PARA A GA E GN (10 mg mL⁻¹)

5.7. CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL POR ESPALHAMENTO DE RAIOS X A BAIXO ÂNGULO - SAXS

O Espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS) é uma técnica bastante difundida na caracterização de materiais em solução pois fornece informações relacionadas às características estruturais em escala nanométrica (GLATTER; KRATKY, 1982).

A Figura 24 mostra os perfis de SAXS relacionando a intensidade de espalhamento ($I(q)$) em função do módulo do vetor de espalhamento (q) obtidos para as amostras GA e GN em regime diluído (0,1% m/m), solubilizadas em NaCl 1,0 mol L⁻¹ para minimizar os efeitos de interação intermolecular. Ainda assim, nota-se a presença de agregados, principalmente na GN, pelo aumento de intensidade na região de baixo q . Comparando-se as duas amostras é possível perceber perfis de espalhamento distintos, entretanto, ambos são formados pela contribuição de diferentes níveis estruturais.

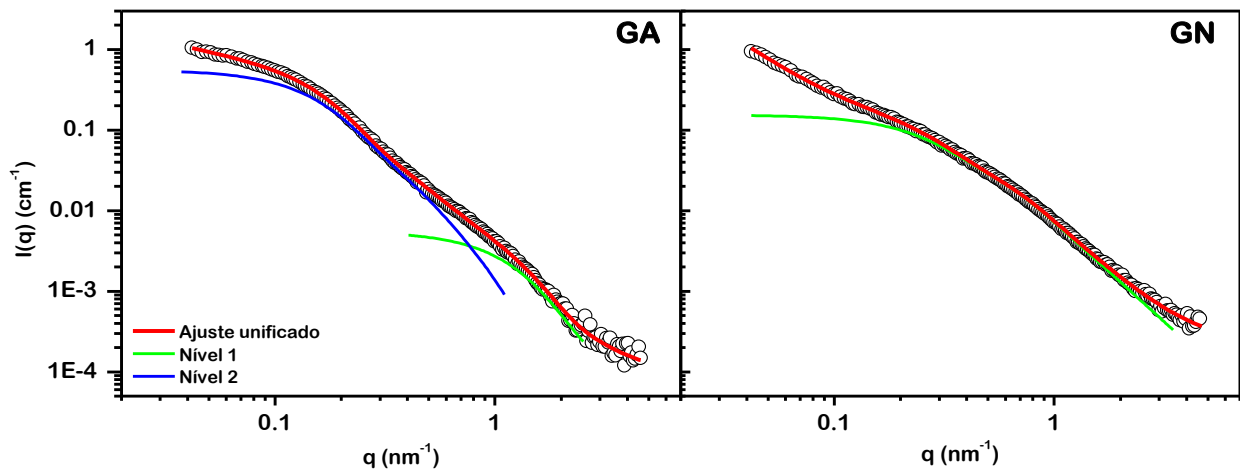


FIGURA 24 - PERFIS DE SAXS DAS AMOSTRAS GA E GN (0,1% m/m EM NaCl 1,0 mol L⁻¹, 20°C) E OS RESPECTIVOS AJUSTES PELO MODELO UNIFICADO

O modelo unificado, proposto por Beaucage (1995; 1996), descreve o perfil de espalhamento de materiais complexos em geral, formados por uma estrutura com múltiplos níveis, sem a necessidade de se definir um fator de forma específico. Neste modelo, cada nível estrutural é caracterizado por uma região de Guinier (observada nos

gráficos como um ‘ombro’), o qual define o raio de giro (R_g) da partícula, somada a um decaimento com uma lei de potência limitada que reflete a natureza da sua superfície. A equação geral para o modelo unificado que descreve a intensidade de espalhamento para cada nível é:

$$I(q) = G \exp\left(-\frac{q^2 R_g^2}{3}\right) + B \left(\frac{\left[\operatorname{erf}\left(\frac{q R_g}{\sqrt{6}}\right)\right]^3}{q}\right)^P \quad (13)$$

O primeiro termo refere-se à região de Guinier, onde G é um fator de escala e R_g é o raio de giro. O segundo termo descreve o decaimento da lei de potência, derivada da lei de Porod, definido pelo expoente P , sendo B o fator de escala específico para o regime de decaimento em questão (BEAUCAGE, 1995, 1996). O coeficiente P fornece informações referentes à organização estrutural e à morfologia da amostra, como mencionado anteriormente (Figura 6, p.31).

Através dos ajustes realizados de acordo com o modelo unificado, representados pelas linhas vermelhas na Figura 24, foi possível obter os valores de R_g e P para cada nível estrutural (Tabela 7). Para a amostra GA pode-se notar mais nitidamente a existência de dois níveis estruturais (linhas azul e verde), cada um formado por um platô seguido de um decaimento com uma lei de potência. No caso da GN a transição entre os níveis é mais sutil. Por ser mais heterogênea, como já observado por SEC (Tabela 5, p. 58), o espalhamento resultante da GN inclui a contribuição de partículas com uma maior variabilidade de tamanhos. Por consequência, a distinção de cada nível estrutural é dificultada, sendo, portanto, estimado um valor médio com o ajuste de um único nível que se estende por uma faixa mais ampla de q , como pode ser observado pela linha verde da Figura 24 (GN).

A Figura 25 mostra um comparativo entre os perfis de SAXS das amostras GN e GN-CR com os respectivos ajustes pelo modelo unificado. Pode-se perceber que as duas amostras apresentam um comportamento similar, com o possível ajuste de apenas um nível estrutural que se estende por uma ampla faixa de q e uma lei de potência na região

de baixo q ($q < 0,2 \text{ nm}^{-1}$) indicando a formação de agregados.

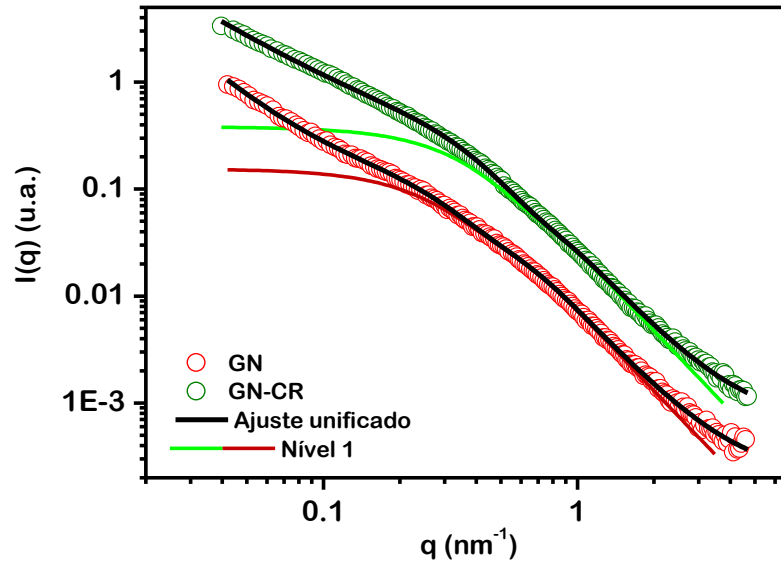


FIGURA 25 - PERFIS DE SAXS DAS AMOSTRAS GN E GN-CR (0,1% m/m, 20°C) E OS RESPECTIVOS AJUSTES PELO MODELO UNIFICADO

Na Tabela 7 estão apresentados os valores de P e R_g calculados através dos ajustes. De acordo com a representação mostrada na Figura 6 (p. 31), os valores de coeficiente P obtidos indicam que as três amostras podem ser classificadas como fractais de massa ($1 < P < 3$), apresentando apenas uma variação para o nível 1 da amostra GA que se encontra mais próximo à faixa esperada para fractais de superfície, os quais apresentam uma estrutura mais densa.

Através dos valores de R_g é possível estimar a dimensão de cada um desses níveis estruturais. No caso da GA foi possível calcular o valor para os dois níveis. O primeiro nível é o menor, com um R_g em torno de 1,5 nm, o segundo nível é aproximadamente 7 vezes maior do que o primeiro, com um $R_g = 10,9$ nm. Essa disposição dos níveis da GA condiz com a organização estrutural em forma de elipsoide oblato, já evidenciado em alguns trabalhos para as principais frações constituintes da goma arábica, conforme citado na introdução (Capítulo 2.1, p. 18) e representado na Figura 3 (p. 24). Nessa perspectiva, o primeiro nível, com dimensões menores, refere-se à espessura do elipsoide, enquanto que o segundo nível caracteriza a sua dimensão radial. No trabalho de Renard et al. (2012) foi realizado um estudo de caracterização estrutural

da fração AGP da goma de *A. senegal*, eles propuseram um ajuste para as curvas de espalhamento de nêutrons a baixo ângulo (SANS) com o modelo de elipsoide triaxial, resultando em semieixos com dimensões de 1,2 nm de espessura e 9,4 e 32 nm para os raios em cada direção, confirmados por MET. Fazendo um comparativo aparente, pode-se dizer que os valores de R_g obtidos neste trabalho para a GA equiparam-se aos dados apresentados por Renard et al. (2012).

TABELA 7 - RAIOS DE GIRO (R_g) E EXPOENTE DA LEI DE POTÊNCIA (P) DAS AMOSTRAS GA E GN ($1,0 \text{ mg ml}^{-1}$) CALCULADOS PELO AJUSTE DO MODELO UNIFICADO ÀS CURVAS DE SAXS

Amostra	Nível 1		Nível 2	
	R_g (nm)	P	R_g (nm)	P
GA	1,5	2,7	10,9	2,5
GN	6,0	2,5	-	-
GN-CR	4,5	2,5	-	-

Para as amostras GN e GN-CR observou-se a definição do platô de Guinier de apenas um nível. A GN apresentou um $R_g = 6,0 \text{ nm}$ e, assim como observado por viscosimetria (Tabela 6, p. 63), após a carboxi-redução, a GN-CR apresentou dimensões um pouco menores, com $R_g = 4,5 \text{ nm}$. Nesses dois casos não é possível verificar se o nível 1 observado corresponde ao diâmetro ou à espessura do elipsoide e nem afirmar que existam de fato os dois níveis definidos como observado para a GA. Porém, é nitidamente perceptível que para essas duas amostras há uma maior tendência à associação e à formação de agregados maiores, como observado pelo aumento de intensidade na região de baixo q .

A Figura 26 mostra o efeito do aumento da concentração das soluções aquosas de GA e GN nos perfis de SAXS. Pode-se verificar a formação de um pico de correlação cujo valor máximo se desloca para maiores valores de q com o aumento da concentração de goma. O respectivo comportamento é tipicamente observado em soluções de polieletrólitos e está relacionado com a estrutura formada pela rede polimérica em solução (COMBET et al., 2011; NISHIDA et al., 2002; POPA-NITA et al., 2009). Essa

organização estrutural é resultante de um balanço entre as diversas forças intermoleculares atuantes no sistema, como ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e interações eletrostáticas. A GA apresenta esse perfil de uma forma mais periódica com o aumento da concentração, enquanto que para a GN, observa-se a formação de um pico largo, menos intenso e com uma certa irregularidade com a concentração. Isso indica a presença de diferentes organizações estruturais na amostra, com distâncias interpartículas distintas, devido à sua grande dispersão de tamanhos.

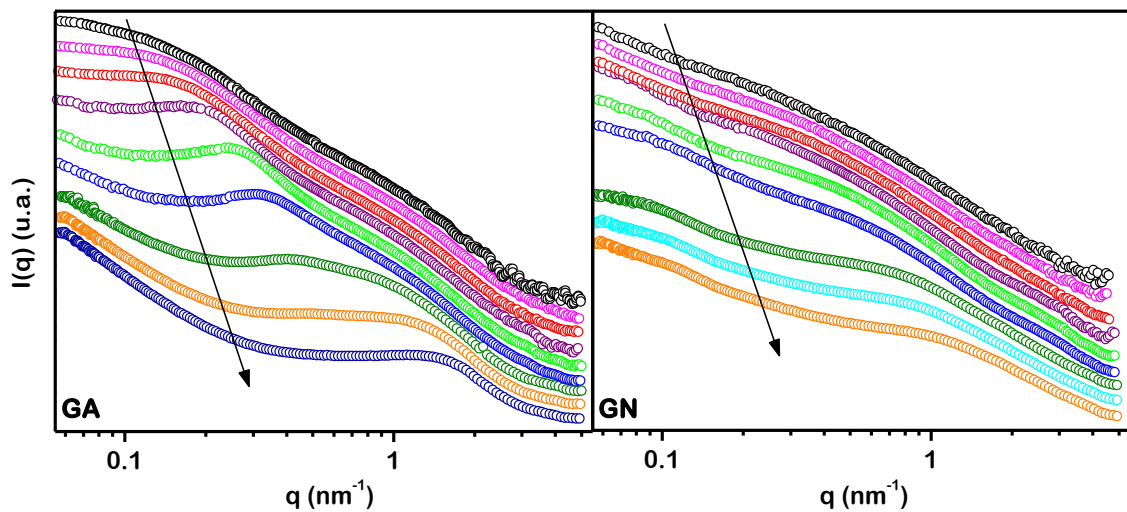


FIGURA 26 - PERFILES DE SAXS PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GA (0,1 A 40,0% m/m) E GN (0,1 A 30,0% m/m). AS FLECHAS INDICAM O AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO

De acordo com a equação 2 o fator interferência ou estrutura ($S(q)$) para as diferentes concentrações de GA e GN foi calculado dividindo-se a intensidade de espalhamento ($I(q)$) normalizada pela concentração pelo fator de forma ($P(q)$), determinado experimentalmente em regime diluído, onde não há interações entre as partículas e $S(q) \approx 1$. Como as curvas obtidas para a GA e GN em regime diluído (Figura 24) apresentaram certa agregação, a aproximação $S(q) \approx 1$ não é exata e, conseqüentemente, os valores de $S(q)$ na região de $q < 0,1 \text{ nm}^{-1}$ podem estar ligeiramente superestimados. Os resultados estão apresentados na Figura 27.

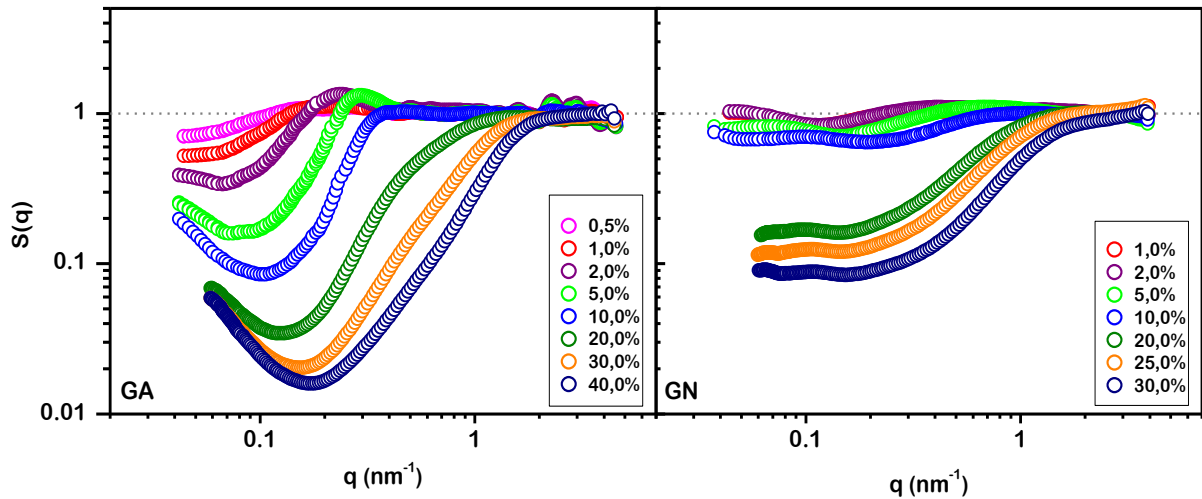


FIGURA 27 - FATOR INTERFERÊNCIA CALCULADO PARA AS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GA E GN

A análise do fator interferência pode fornecer informações interessantes sobre a natureza das interações entre as partículas. Em sistemas monodispersos e com uma interface bem definida o ajuste baseado em modelos teóricos e aproximações matemáticas pode ser adequadamente obtido (GLATTER; KRATKY, 1982; STRIBECK; SMARSLY, 2005). No caso da goma arábica, essa análise torna-se bastante complicada devido à grande complexidade estrutural da amostra, sua natureza heterogênea e à interface difusa com relação ao meio. No entanto, é possível extrair algumas informações baseadas no perfil de $S(q)$ obtido.

A região de q tendendo a zero reflete o potencial de interação entre as partículas, interações repulsivas refletem em valores de $S(q \rightarrow 0)$ menores do que 1 enquanto que interações atrativas apresentam $S(q \rightarrow 0)$ maiores do que 1 (TARDIEU et al., 1999). Dessa forma, verifica-se pela FIGURA 27 que a organização estrutural da GA e GN apresenta predominantemente interações repulsivas ($S(q \rightarrow 0) < 1$) a longo alcance, mas com uma tendência a aproximar-se de 1. Esse perfil é mais evidente para a GA, seu maior caráter repulsivo (menores valores de $S(q)$) é reflexo do maior teor de ácidos urônicos presentes na sua estrutura em comparação com a GN (Tabela 4, p. 54).

O valor de q referente ao ponto máximo do pico em $S(q)$ está associado ao comprimento de correlação ou distância média entre as partículas de acordo com a Lei de Bragg ($d \approx 2\pi/q_{máx}$) (STRIBECK, 2007). Para a GA foi possível identificar um ponto

máximo nos perfis de $S(q)$ das concentrações de 2,0 e 5,0% (m/m), correspondendo a uma distância média entre as partículas de 27 e 22 nm, respectivamente. Acima destas concentrações observa-se o deslocamento para maiores q 's e a contração do pico de correlação indicando a aproximação e o contato entre as partículas (FUKASAWA; SATO, 2011). Os perfis de $S(q)$ da GN não apresentaram picos bem definidos devido à sua grande dispersão de tamanhos, o que resulta em uma organização estrutural com uma grande variabilidade de distâncias entre partículas e possivelmente devido à sua maior tendência à agregação, como já discutido anteriormente.

5.8. CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES DINÂMICAS POR ESPECTROSCOPIA DE FOTOCORRELAÇÃO DE RAIOS X - XPCS

A técnica de XPCS tem se mostrado adequada para o estudo de processos dinâmicos em materiais poliméricos e suspensões coloidais, pois como utiliza um feixe de raios X, permite analisar materiais opacos à luz e explorar escalas nanométricas (GRÜBEL; ZONTONE, 2004).

Algumas limitações experimentais, porém, precisam ser contornadas para adequar a amostra à essas condições. Uma das limitações é o intervalo de tempo mínimo entre duas imagens consecutivas, restringido pelo tempo de exposição necessário para coletar dados estatisticamente adequados para a respectiva amostra e pela taxa de atualização do detector. Atualmente, com os detectores disponíveis no mercado que apresentam uma área de detecção adequada para a análise de XPCS, é possível analisar processos dinâmicos na faixa de até milissegundos, limite que muito em breve deve ser transposto pois é uma área que está em constante desenvolvimento em busca de detectores mais eficientes. Outra limitação, principalmente quando se trata de materiais poliméricos, está relacionada com a degradação da amostra causada pelo feixe de alta intensidade. Esse dano pode ser minimizado reduzindo-se o tempo de exposição da amostra ao feixe, no entanto, alguns desses materiais, como é o caso da goma de acácia, apresentam baixo contraste de densidade eletrônica em relação ao meio e

consequentemente uma baixa intensidade de espalhamento, dificultando a coleta de dados (LEHENY, 2012; SHPYRKO, 2014).

Para viabilizar a análise das gomas de acácia por XPCS, tendo em vista essas limitações, foram estabelecidas algumas condições experimentais. As faixas de concentração das soluções de GA e GN, 10 a 40% (m/m) e 15 a 30% (m/m), respectivamente, foram definidas de modo a ajustar o tempo de decaimento da amostra aos limites de intervalo de tempo mensuráveis pelo detector. Nessas concentrações a amostra GA apresenta-se viscosa, mas ainda fluída enquanto que a GN se encontra com um aspecto de gel, como pode ser visualizado na Figura 28.

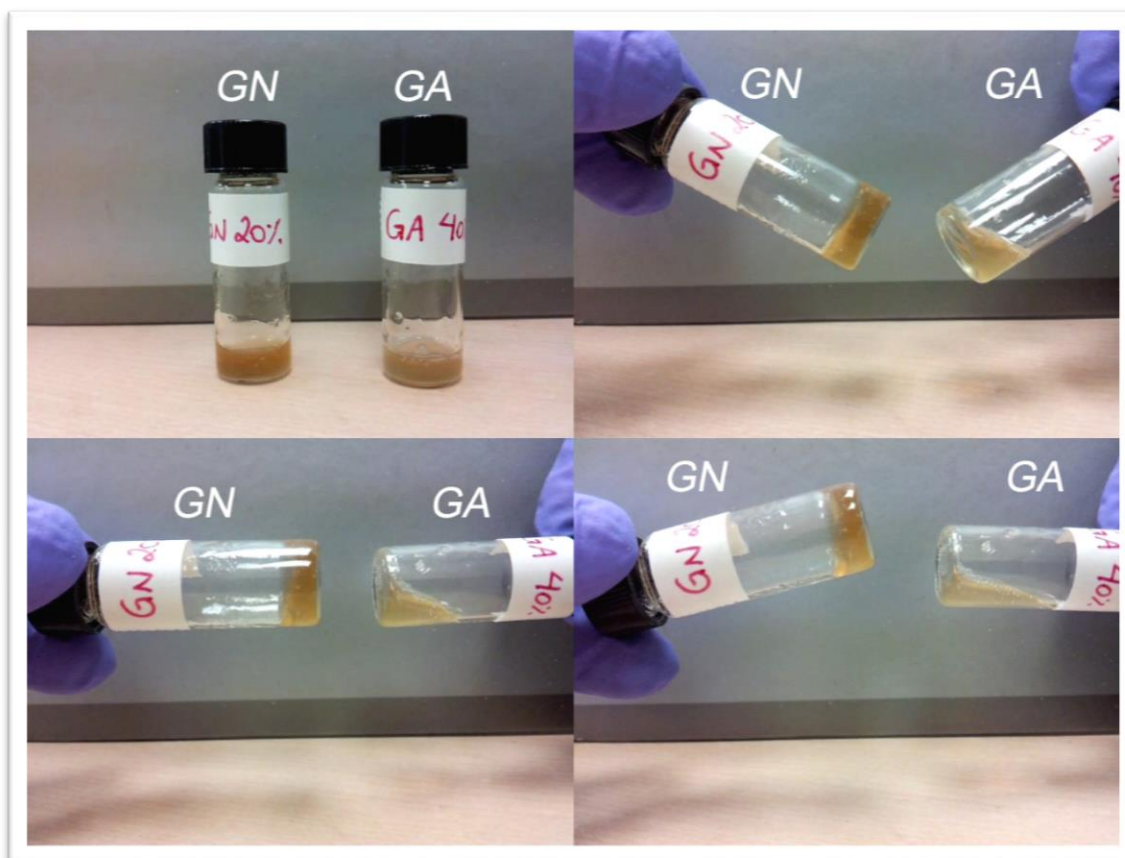


FIGURA 28 - ASPECTO MACROSCÓPICO DAS AMOSTRAS GN 20% E GA 40% EVIDENCIANDO A DIFERENÇA NA VISCOSIDADE DAS SOLUÇÕES

A questão do baixo contraste foi contornada adicionando ao sistema nanopartículas de ouro (AuNPs) para atuar como uma sonda e aumentar a densidade eletrônica da amostra. Assim, a intensidade de espalhamento é maior e possibilita a

coleta de dados estatisticamente significativos em um menor tempo de exposição ao feixe, minimizando a degradação dos polissacarídeos.

Excepcionalmente, para as amostras GA e GN mais concentradas (GA 40 % e GN 25 % m/m) foi possível coletar dados com uma relação sinal-ruído relativamente alta sem a presença das nanopartículas de ouro em solução. Assim, foi possível determinar as funções de autocorrelação para essas amostras (Figura 29), porém, somente para a região de baixo q , onde a intensidade de espalhamento é mais alta, mas também há uma maior interferência de agregados na análise. De qualquer forma, esses resultados são importantes pois, apesar de apresentarem oscilações consideráveis devido às limitações citadas acima, indicam que, em média, as funções de autocorrelação calculadas para as amostras contendo as nanopartículas (curvas em preto) decaem em um tempo equivalente, ou muito próximo do observado para as amostras puras (curvas em azul e vermelho). Confirmando então, que a dinâmica revelada pelas nanopartículas reflete realmente a dinâmica das cadeias de goma de acácia em que estão imersas, validando a metodologia utilizada.

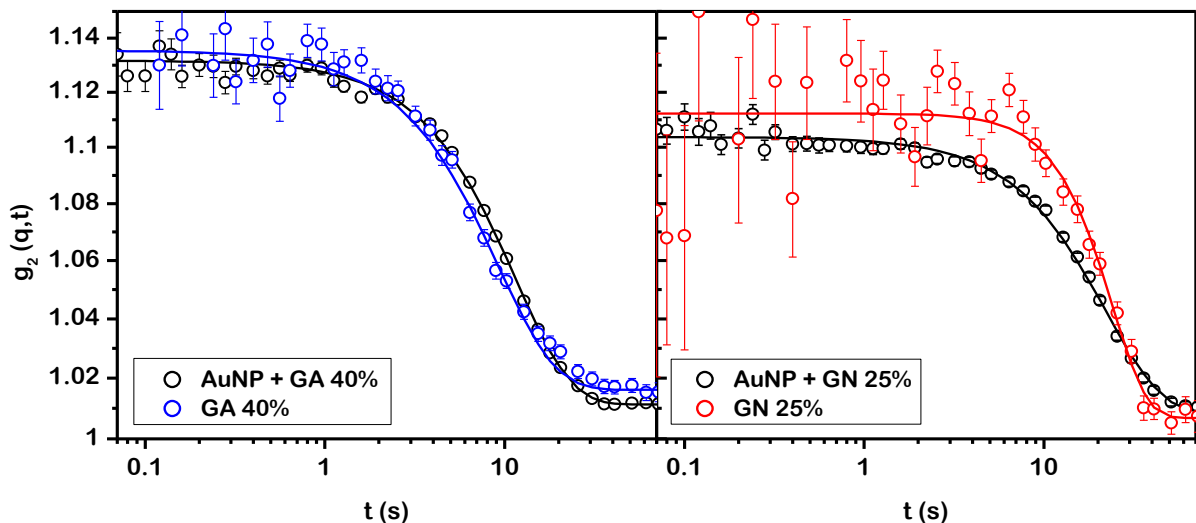


FIGURA 29 - FUNÇÕES DE AUTOCORRELAÇÃO g_2 ($q = 0.03 \text{ nm}^{-1}$) PARA AS AMOSTRAS GA 40% (m/m) E GN 25% (m/m) COM E SEM A PRESENÇA DE NANOPARTÍCULAS DE OURO

A síntese das AuNPs utilizando a goma de acácia (GA) como agente estabilizante foi escolhida visando minimizar possíveis efeitos de segregação entre as nanopartículas

e as gomas de acácia, resultando em dispersões mais homogêneas. A síntese, realizada de acordo com De Barros et al. (2016) foi acompanhada por espectroscopia UV-Vis (Figura 30) através do aparecimento da banda de ressonância plasmônica (SPR) ($\lambda = 520$ a 540 nm), característica da formação de nanopartículas de ouro. Com a consecutiva adição do agente redutor (NaBH_4), observa-se a mudança de coloração da solução do amarelo para o vermelho escuro, como observado na região em destaque da figura.

No decorrer da síntese é observado um deslocamento da SPR para menores comprimentos de onda. É bem estabelecido que a SPR reflete as características das nanopartículas como tamanho, forma e estado de agregação (BOHREN; HUFFMAN, 1998). A SPR em $\lambda = 520$ nm, observada no final da síntese, indica que as AuNPs formadas estão na escala nanométrica. O perfil de síntese obtido é bastante similar ao já reportado por De Barros et al. (2016).

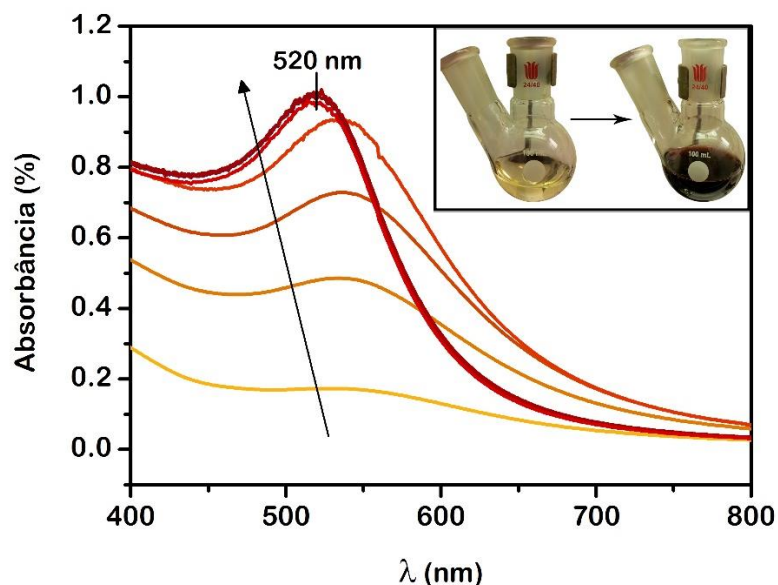


FIGURA 30 - ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV-VIS DA FORMAÇÃO DAS AuNPs NA PRESENÇA DE GA PELA ADIÇÃO PERIÓDICA DE NaBH_4 (INDICADO PELA SETA): INSERÇÃO ASPECTO VISUAL DA SOLUÇÃO NO INÍCIO E NO FINAL DA SÍNTESE

A Figura 31 mostra uma imagem de MET das AuNPs sintetizadas na presença de GA. Pode-se observar que as AuNPs se encontram bem dispersas e apresentam majoritariamente um formato esférico. O diâmetro calculado foi de $5,0 \pm 1,2$ nm, como uma média de 200 objetos analisados.

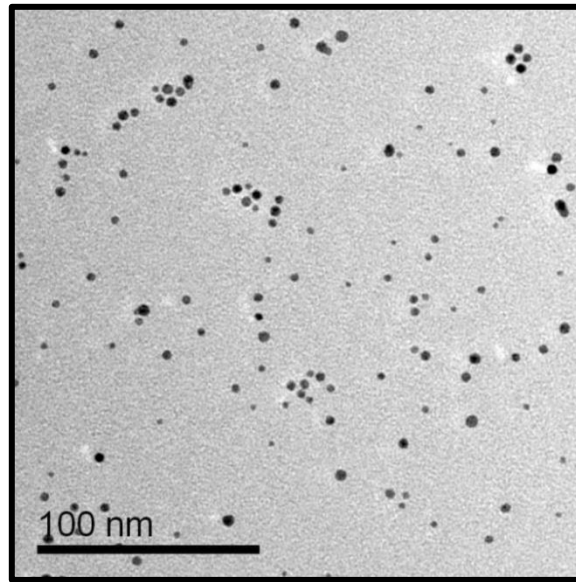


FIGURA 31 - IMAGEM OBTIDA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO DAS AuNPs SINTETIZADAS NA PRESENÇA DE GA

O tamanho e forma das AuNPs na presença de GA também foram analisados por SAXS. O perfil de espalhamento obtido e o ajuste correspondente estão apresentados na Figura 32. A intensidade de espalhamento, nesse caso, é dominada pelas nanopartículas de ouro devido ao seu maior contraste de densidade eletrônica e à baixa concentração de GA em solução. O ajuste foi realizado com um modelo baseado no fator de forma esférico com um certo grau de dispersão em tamanho (distribuição log-normal) e uma lei de potência na região de baixo q que pode estar relacionado com a presença de agregados (ILAVSKY; JEMIAN, 2009). O diâmetro médio obtido pelo ajuste foi de $4,8 \pm 0,8$ nm, muito próximo do valor determinado por MET.

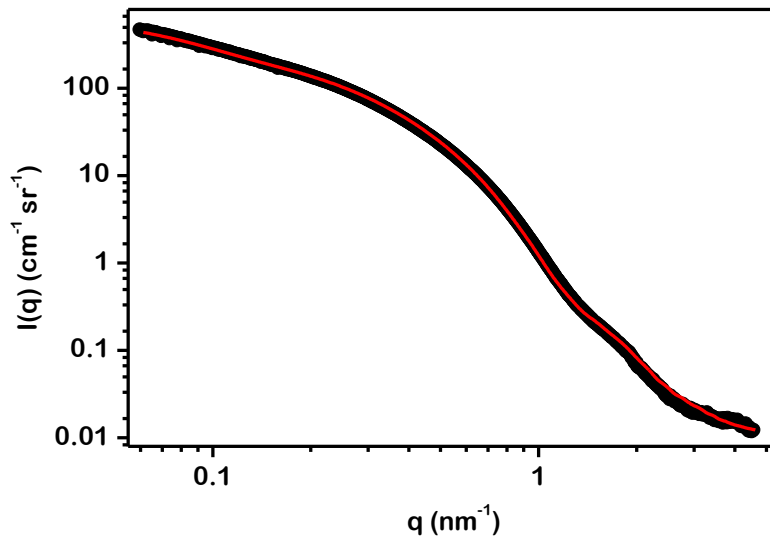


FIGURA 32 - PERFIL DE SAXS DAS AuNPs E O RESPECTIVO AJUSTE MATEMÁTICO (LINHA VERMELHA)

A análise de DLS foi realizada com o intuito de calcular o tamanho das AuNPs considerando o recobrimento com as cadeias de GA, ou seja, o raio hidrodinâmico médio (R_h) das partículas como um todo. A Figura 33 mostra os resultados de R_h das AuNPs na presença de GA, que apresentam uma distribuição relativamente ampla devido à dispersão das gomas de acácia e com um ponto máximo em torno de 39 nm, evidenciando assim o recobrimento da GA ao redor das AuNPs.

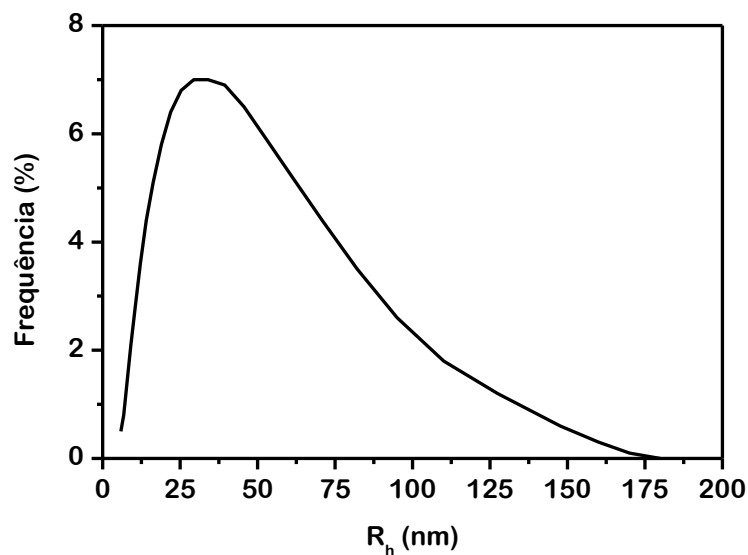


FIGURA 33 - CURVA DE DISTRIBUIÇÃO DO RAIO HIDRODINÂMICO (R_h) DAS AuNPs

Medidas de potencial zeta revelaram uma carga superficial negativa para as AuNPs, com $\zeta = -17.1 \pm 5.2$ mV. A origem da carga negativa possivelmente provém dos grupos ácidos presentes na estrutura da goma de acácia que também contribuem para a estabilização das nanopartículas via repulsão eletrostática.

A Figura 34 mostra um exemplo dos perfis de SAXS obtidos para uma dispersão de GA (40% m/m) e uma de GN (25% m/m) contendo as AuNPs, comparativamente com os perfis individuais das AuNPs e das soluções de GA (40% m/m) e GN (25% m/m) puras. Pode-se observar que a intensidade de espalhamento na região de baixo q ($q < 0.7 \text{ nm}^{-1}$) é dominada pelas AuNPs. Analisando essa região, também é possível afirmar que as AuNPs se mantêm estáveis na dispersão e que a adição de GA ou GN não provocam a sua agregação. Na região de alto q ($q > 1,0 \text{ nm}^{-1}$) observa-se perfis distintos para as duas amostras pois o espalhamento é dominado pela presença das gomas de acácia.

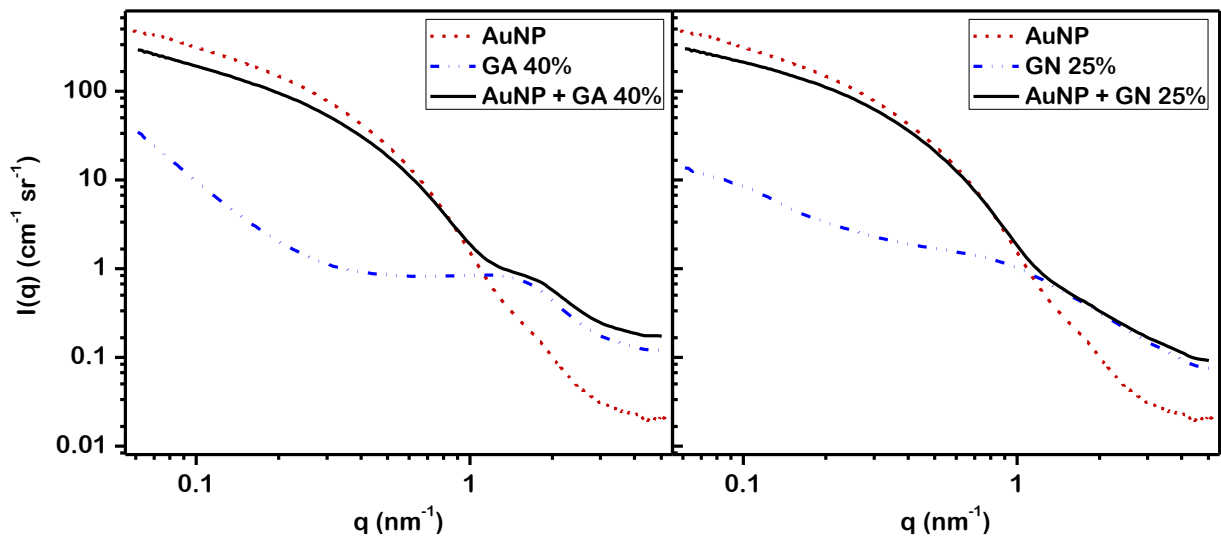


FIGURA 34 - COMPARAÇÃO ENTRE OS PERFIS DE SAXS DAS AuNPs, DAS SOLUÇÕES DE GA (40%) E GN (25%) E DAS DISPERSÕES FINAIS FORMADAS PELA COMBINAÇÃO DAS AuNPs + GA 40% OU GN 25%

Na Figura 35 pode-se visualizar uma foto do porta-amostras com os capilares contendo as amostras de AuNPs e as dispersões AuNPs + GA 40% e AuNPs + GN 25% onde verifica-se que predomina a cor da solução concentrada das AuNPs (vermelha escura tendendo a preta) e visualmente a aparência das amostras não se altera significativamente.

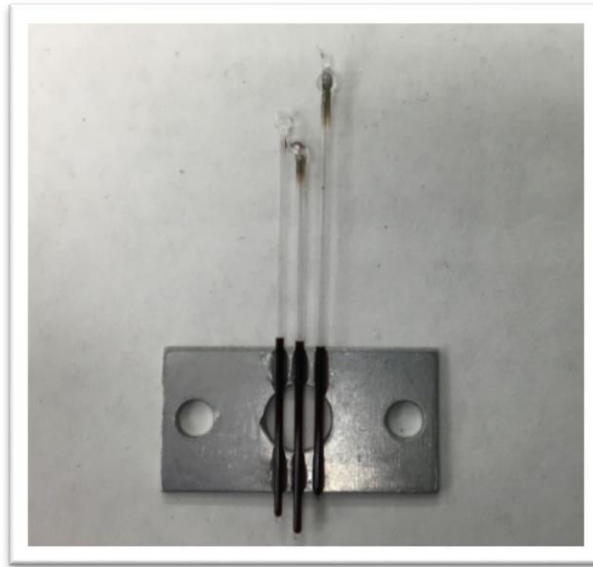


FIGURA 35 - ASPECTO VISUAL DOS CAPILARES CONTENDO AS AMOSTRAS AuNPs, AuNPs + GA 40% E AuNPs + GN 25% (DA ESQUERDA PARA A DIREITA)

A influência das gomas de acácia na região de $q > 1,0 \text{ nm}^{-1}$ pode ser claramente visualizada na Figura 36. Com o aumento da concentração de goma na dispersão observa-se uma oscilação na intensidade de espalhamento nessa região de alto q , enquanto que na região de baixo q o perfil não se altera significativamente, pois é dominado pelo espalhamento das AuNPs.

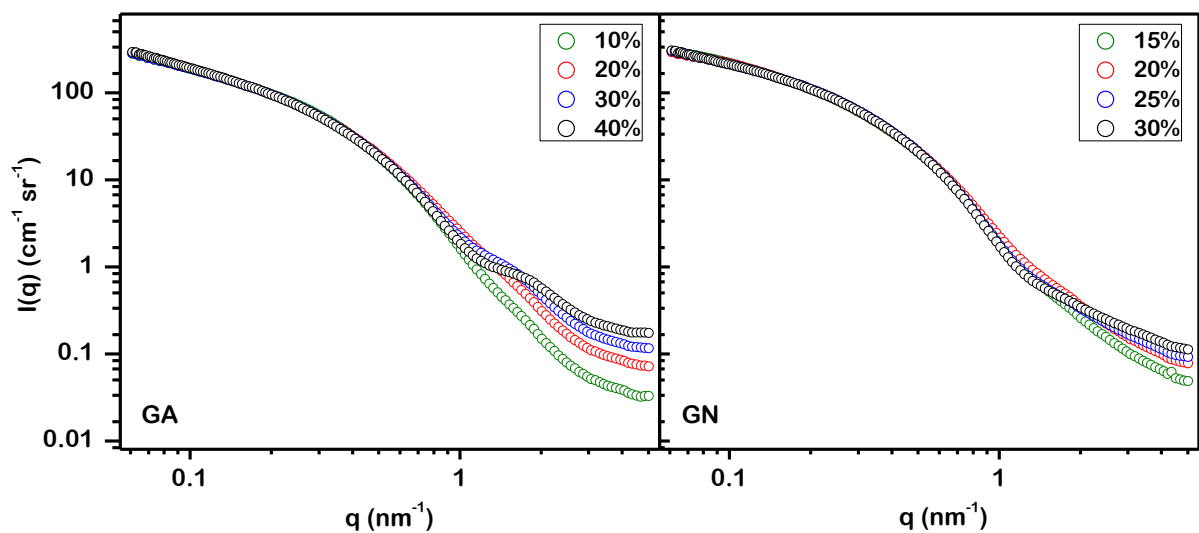


FIGURA 36 - COMPARAÇÃO ENTRE OS PERFIS DE SAXS DAS DISPERSÕES DE AuNPs CONTENDO CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE GA (ESQUERDA) E GN (DIREITA)

A análise de XPCS foi realizada na região de baixo q , que é, portanto, dominada pelo espalhamento das AuNPs. Porém, como evidenciado na Figura 29 (p. 84), o movimento rastreado pelas nanopartículas reflete a dinâmica das gomas de acácia em que estão imersas.

A Figura 37 mostra a série de funções de autocorrelação de intensidade ($g_2(q,t)$) em $q = 0,059 \text{ nm}^{-1}$ obtidas para a GA e GN em diferentes concentrações. Observa-se que as funções de autocorrelação apresentam amplitudes e tempos de decaimento característicos que aumentam conforme aumenta-se a concentração de goma na dispersão. Os símbolos X representam a medida para a dispersão das AuNPs somente em água, mostrando a ausência de correlação na região analisada devido ao rápido movimento das nanopartículas em solventes de baixa viscosidade.

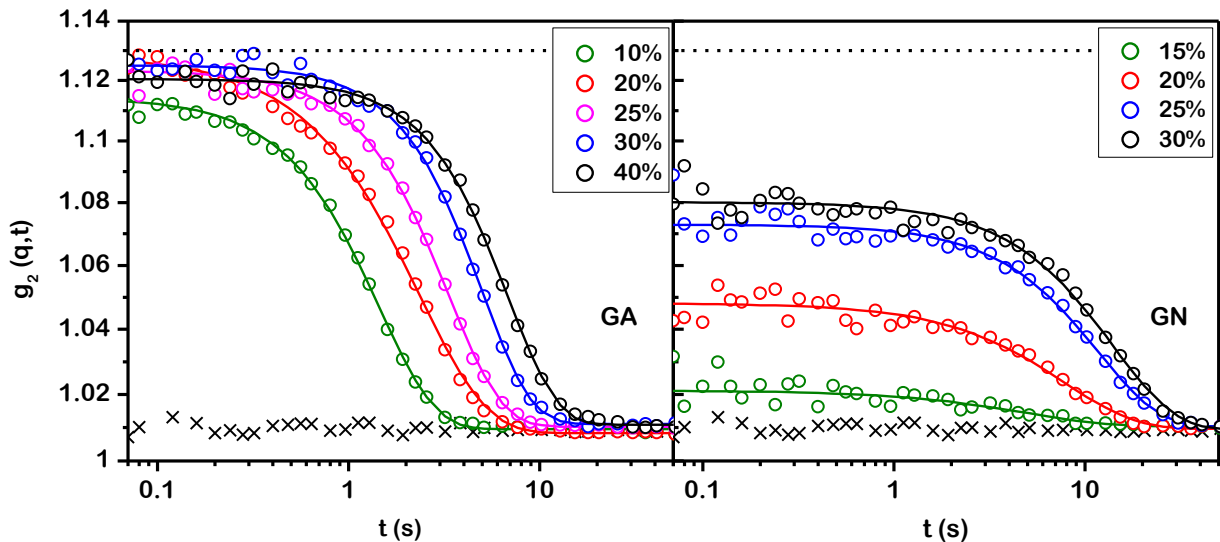


FIGURA 37 - FUNÇÕES DE AUTOCORRELAÇÃO DE INTENSIDADE (g_2) EM $q = 0,059 \text{ nm}^{-1}$ PARA AS AuNPs EM CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE GA (ESQUERDA) E GN (DIREITA). A LINHA PONTILHADA REPRESENTA O VALOR DO CONTRASTE MEDIDO COM UMA AMOSTRA ESTÁTICA (AEROGEL) E OS SÍMBOLOS X REPRESENTAM A MEDIDA DAS AuNPs EM ÁGUA (LINHA DE BASE)

Todas as funções de autocorrelação obtidas foram satisfatoriamente ajustadas com a forma de um decaimento exponencial alongado de acordo com a equação:

$$g_2(q, t) = 1 + b[A \exp(-(t/\tau)^\beta)]^2 \quad (14)$$

onde τ é o tempo de relaxação característico, β é o expoente que caracteriza o formato do decaimento exponencial, b é chamado de fator de Siegert ($b \approx 0,12$) e foi determinado através da medida de um aerogel, sendo que $1 + b$ representa a amplitude máxima mensurável na respectiva configuração experimental (representada pela linha pontilhada na Figura 37) e A é o fator de não-ergodicidade que corresponde a uma medida da amplitude em tempos curtos.

Os melhores ajustes de $g_2(q,t)$ usando a equação 14 (linhas contínuas da Figura 37) resultaram em valores de β variando, da menor para a maior concentração de goma, entre 1,4 - 1,6 e 1,0 - 1,4, para a GA e GN, respectivamente. Valores de $\beta > 1$ caracterizam um decaimento exponencial achatado, indicando o desenvolvimento de um decaimento mais rápido do que o exponencial, divergente de um comportamento puramente difusivo, com o aumento da concentração de GA ou GN na dispersão.

Outra característica comumente observada nesses sistemas hiperdifusivos é uma relação inversa entre τ e o módulo do vetor de espalhamento q ($\tau \sim q^{-1 \pm 0.1}$), igualmente observado para a GA e GN na faixa de concentração analisada, como mostrado na Figura 38. Funções de autocorrelação achatadas com $\tau \sim q^{-1}$ tem sido observadas em diversos sistemas coloidais, como emulsões, géis e suspensões (BANDYOPADHYAY et al., 2004; CIPELLETTI et al., 2000, 2003; CZAKKEL; MADSEN, 2011; GUO et al., 2011, 2007; HERZIG et al., 2009; RANKA et al., 2015; RUTA et al., 2014). Embora ainda não esteja totalmente elucidado, esse comportamento tem sido descrito na literatura como um movimento do tipo balístico e é decorrente de deformações elásticas na estrutura do material, em resposta a pontos de tensão formados localmente e dispostos de maneira heterogênea na amostra (BOUCHAUD; PITARD, 2001; CIPELLETTI et al., 2003).

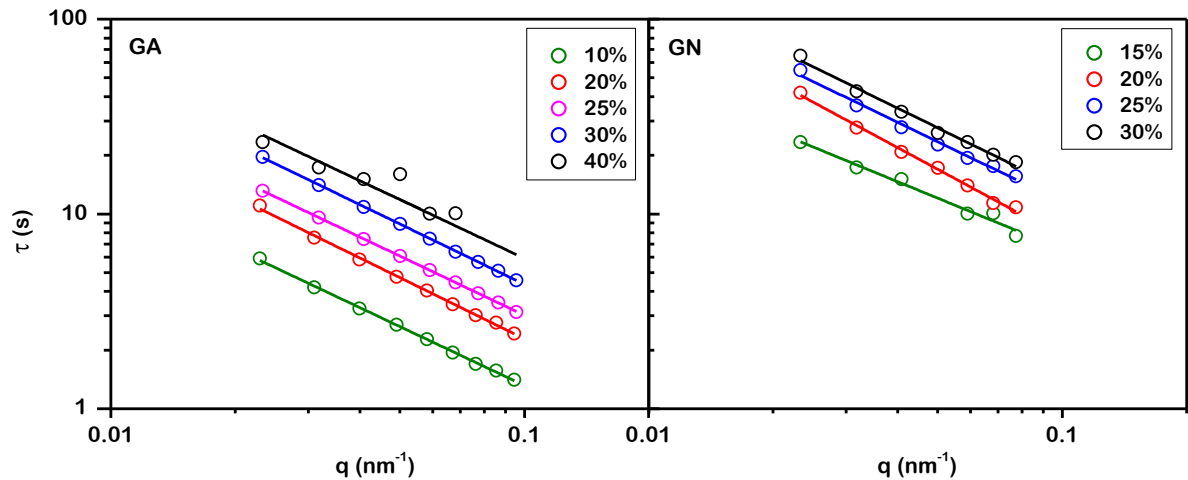


FIGURA 38 - TEMPO DE RELAXAÇÃO CARACTERÍSTICO (τ) EM FUNÇÃO DO MÓDULO DO VETOR DE ESPALHAMENTO q PARA AS AuNPs EM CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE GA (ESQUERDA) E GN (DIREITA). AS LINHAS REPRESENTAM O AJUSTE LINEAR COM COEFICIENTE ANGULAR ENTRE 0,9 – 1,1

Salvo essas similaridades já relatadas (relação inversa entre τ e q e valores de $\beta > 1$), as amostras GA e GN apresentam uma diferença significativa com relação à fração de não-ergodicidade do sistema observada pela amplitude em tempos curtos. Retornando à Figura 37 pode-se notar que, ao contrário da GA, a GN apresenta valores de amplitude bem abaixo do contraste total, representado pela linha pontilhada. Essa amplitude ausente indica que a amostra exibe também um decaimento parcial mais rápido, atingindo um segundo platô em uma região inacessível na janela de tempo observada, sugerindo um processo de decaimento em duas etapas. Esse tipo de decaimento é encontrado em sistemas concentrados, como géis e suspensões coloidais densas, onde o primeiro decaimento (ausente na faixa analisada) pode ser entendido como um movimento confinado (BANDYOPADHYAY et al., 2004; CZAKKEL; MADSEN, 2011). Seguindo essa ideia, sugere-se que a amplitude ausente esteja relacionada com um movimento rápido das AuNPs localizado em um certo volume. Assim, o espaço interno permite uma certa movimentação das nanopartículas, mas os limites ao redor são impostos pelas cadeias da goma devido à incorporação das nanopartículas na microestrutura da GN.

O grau de confinamento da partícula pode ser inferido pelo valor da amplitude de $g_2(q,t)$ em tempos curtos (Figura 37), e o deslocamento quadrático médio ($\langle \bar{r}^2 \rangle$) das

nanopartículas dentro desse volume pode ser estimado através do fator de Debye-Waller (BANDYOPADHYAY et al., 2004; CZAKKEL; MADSEN, 2011):

$$A = \exp(-q^2 \langle \bar{r}^2 \rangle / 6) \quad (15)$$

A Figura 39 mostra a relação entre $\ln(A)$ em função de q^2 para as concentrações crescentes de GN. Observa-se que o modelo representado na equação 15 se ajusta satisfatoriamente aos dados experimentais permitindo calcular os valores de $\langle \bar{r}^2 \rangle$ que caracterizam a extensão do movimento das nanopartículas dentro da estrutura do gel.

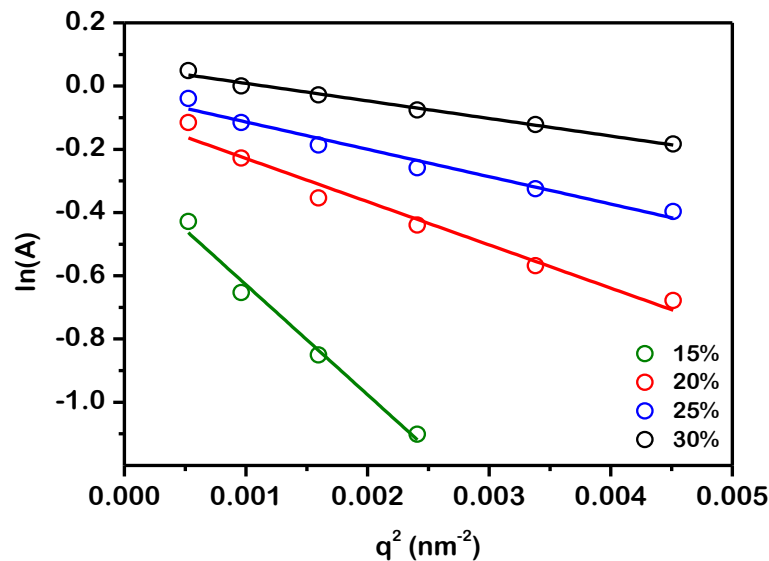


FIGURA 39 - RELAÇÃO ENTRE O LOGARITMO NATURAL DA AMPLITUDE DE $g_2(q,t)$ E q^2 PARA AS DISPERSÕES DE AuNPs EM GN. AS LINHAS REPRESENTAM O AJUSTE OBTIDO PELA EQUAÇÃO 15

Como esperado, o deslocamento médio das nanopartículas decai de 45 a 18 nm com o aumento da concentração de GN (Tabela 8), indicando a formação de uma estrutura mais densa e emaranhada com menor espaço entre as cadeias.

TABELA 8 - VALORES DO DESLOCAMENTO QUADRÁTICO MÉDIO ($\langle \bar{r}^2 \rangle^{1/2}$) DAS AuNPs EM CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE GN CALCULADOS PELO FATOR DE DEBYE-WALLER

c (% m/m)	$\langle \bar{r}^2 \rangle^{1/2}$ (nm)
15	45
20	28
25	23
30	18

A presença dessas regiões na estrutura da GN, assim como o decaimento da função de autocorrelação em duas etapas é também um indicativo da maior dispersidade estrutural da amostra em comparação com a GA, para a qual esse perfil não é observado.

5.9. CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DA AMOSTRA GN

Inicialmente, a análise reológica foi realizada para analisar o comportamento viscoelástico das amostras de GN quando expostas a condições semelhantes às submetidas durante o preparo para a análise de XPCS. A Figura 40 mostra a recuperação dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') com o tempo, após cessar o pré cisalhamento até $\dot{\gamma} = 1000 \text{ s}^{-1}$ (600 s). Pode-se observar que imediatamente após cessar o cisalhamento, G' tem um aumento abrupto e logo em seguida é atenuado a valores que se mantém aproximadamente constante até 20 horas de recuperação. Em toda a faixa analisada observa-se que G' é superior a G'' , evidenciando um comportamento típico de gel.

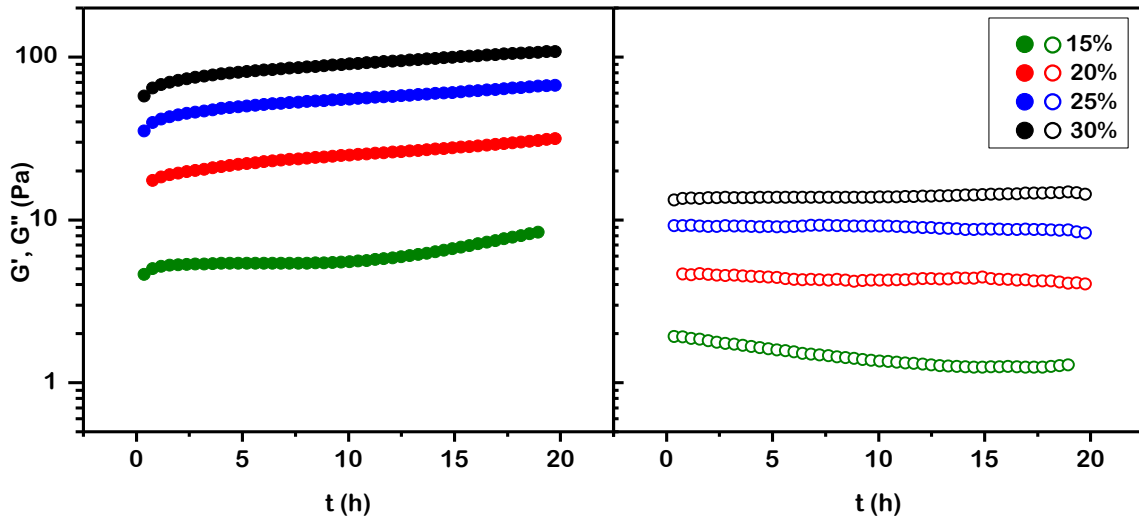


FIGURA 40 - MÓDULO ELÁSTICO G' (SÍMBOLOS PREENCHIDOS) E MÓDULO VISCOZO G'' (SÍMBOLOS ABERTOS) PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GN EM ÁGUA EM FUNÇÃO DO TEMPO DE RECUPERAÇÃO APÓS O PRÉ-CISALHAMENTO ATÉ 1000 s^{-1} ($\sigma = 0,01 \text{ Pa}$, $\omega = 1 \text{ rad/s}$, $T = 25^\circ\text{C}$)

A evolução da razão entre G''/G' com o tempo está apresentada na Figura 41, indicando também um decaimento abrupto de G''/G' no início e aproximando-se de um platô indicando o desenvolvimento de um gel mais forte com o tempo. Observa-se também que, com o aumento da concentração, a evolução de G''/G' até o platô ocorre mais rapidamente.

As análises reológicas foram realizadas somente para a GN, porém, na literatura é encontrada a caracterização reológica para a goma de acácia comercial. Li et al. (2009) reportaram um comportamento similar com relação à recuperação de G' e G'' da GA (6%) com o tempo, após submeter a amostra à diferentes taxas de cisalhamento. Após o pré-*shear* a 1000 s^{-1} os autores observaram o aumento abrupto de G' atingindo um valor constante de aproximadamente $1,5 \text{ Pa}$ após 30 minutos de recuperação.

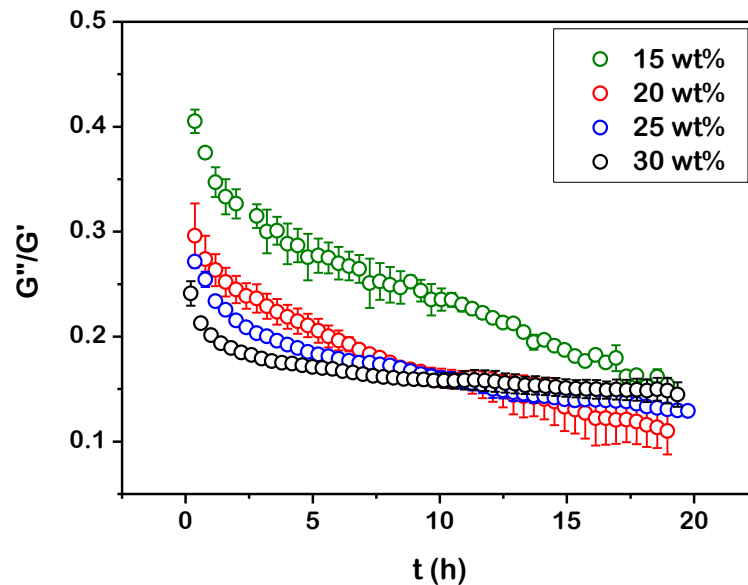


FIGURA 41 - RAZÃO ENTRE O MÓDULO VISCOZO (G'') E O MÓDULO ELÁSTICO (G') PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GN EM FUNÇÃO DO TEMPO DE RECUPERAÇÃO APÓS O PRÉ-CISALHAMENTO ATÉ 1000 s⁻¹ ($\sigma = 0,01$ Pa, $\omega = 1$ rad/s, T = 25°C)

As curvas de viscosidade das soluções de GN a 15, 20, 25 e 30 % (m/m) no estado inicial e após o pré-cisalhamento (até $\dot{\gamma} = 1000$ s⁻¹) seguido de 20 horas de recuperação estão apresentados na Figura 42 (a) e (b), respectivamente. Observa-se que todas as amostras apresentam inicialmente um aumento da viscosidade em diferentes proporções seguido de um comportamento pseudoplástico entre $\dot{\gamma} \sim 0.03 - 1000$ s⁻¹ e uma histerese entre as rampas de ida e volta que se estende por toda a faixa analisada.

O perfil reológico pseudoplástico é tipicamente reportado na literatura para as gomas de acácia comerciais (LI et al., 2009; MOTHE; RAO, 1999; SANCHEZ et al., 2002), no entanto, a GN apresenta um valor de viscosidade inicial expressivamente maior (~1000 vezes para a concentração de 20% m/m) e um comportamento pseudoplástico mais pronunciado sem a formação de um patamar newtoniano até $\dot{\gamma} = 1000$ s⁻¹. Essas diferenças podem ser relacionadas com a composição química e estrutural da GN. Como visto anteriormente, o maior teor proteico da GN (Tabela 4, p. 54) promove um maior caráter associativo entre as frações (AG, AGP e GP) presentes na sua estrutura, evidenciado por espectroscopia de fluorescência (Figura 19, p. 66). Um estudo publicado por Al-Assaf et al. (2007) mostrou uma evidente relação entre o teor da fração AGP na

goma de acácia comercial com o comportamento pseudoplástico da amostra. Os autores observaram uma maior viscosidade e uma pseudoplasticidade mais evidente nas amostras que sofreram um processo de maturação em comparação à goma de acácia original. Esse processo de maturação, sob condições controladas de temperatura e umidade, induz a um aumento do teor da fração AGP na amostra devido à associação entre as frações de menor M_w (AG). Dessa forma, acredita-se que a tendência associativa da GN contribua significativamente para a sua maior viscosidade.

Comparando-se as curvas de viscosidade nos estados inicial (Figura 42a) e após 20h de recuperação (Figura 42b) nota-se que há um aumento da viscosidade inicial ($\dot{\gamma}$ entre 0,002 e 0,02 s^{-1}) com o tempo e um comportamento dilatante mais evidente em função do aumento da taxa de cisalhamento em aproximadamente 0.02 s^{-1} para todas as amostras. O comportamento dilatante seguido de um perfil pseudoplástico é característico de polímeros associativos (CHASSENIEUX; NICOLAI; BENYAHIA, 2011). Esse perfil tem sido observado em uma série de polímeros sintéticos (BARMAR; KAFFASHI; BARIKANI, 2005; HU; WANG; JAMIESON, 1995; TAN; TAM; JENKINS, 2001; TRIPATHI; TAM; MCKINLEY, 2006; WITTEN, 1988), mas é menos comumente reportado em polímeros naturais. Alguns exemplos em biopolímeros incluem pectinas (KJØNIKSEN et al., 2003; KJØNIKSEN; HIORTH; NYSTRÖM, 2005), amido (KIM et al., 2002; WANG et al., 2011), mucilagem de Mamaku (GOH et al., 2007; WEE et al., 2014) e quitosana quimicamente modificada (YALPANI et al., 1983). Para a goma de *Acacia senegal* já foi relatado um comportamento dilatante dependente do tempo para as soluções com concentração menor que 20,0% (m/m) e em baixas taxas de cisalhamento ($< 1 s^{-1}$) (SANCHEZ et al., 2002). Um comportamento semelhante também foi demonstrado para a goma ghatti (KAUR; SINGH; SINGH, 2009)

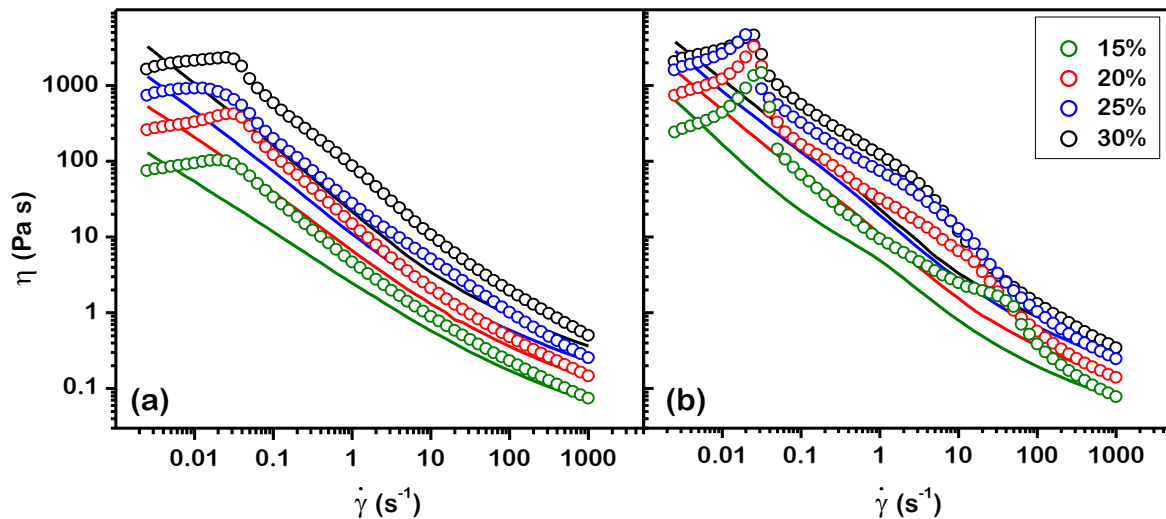


FIGURA 42 - CURVAS DE VISCOSIDADE DAS SOLUÇÕES DE GN (15, 20, 25 E 30%) EM FUNÇÃO DO AUMENTO (SÍMBOLOS) E DECRÉSCIMO (LINHAS) DA TAXA DE CISALHAMENTO ($\dot{\gamma}$) NO (A) ESTADO INICIAL E (B) APÓS PRÉ-CISALHAMENTO (ATÉ 1000 s^{-1}) SEGUIDO DE 20 HORAS DE RECUPERAÇÃO. $T = 25^\circ\text{C}$

Os mecanismos envolvidos na propriedade dilatante de polímeros associativos ainda estão em discussão. No caso de biopolímeros, essa característica tem sido atribuída à uma transição, induzida pelo cisalhamento, das interações intramoleculares para intermoleculares, proposto inicialmente por Witten & Cohen (1985). Eles demonstraram que o alongamento da cadeia induzida pelo cisalhamento aumenta a probabilidade de interações intercadeias levando a um aumento de viscosidade. A uma certa taxa de cisalhamento crítica, quando a frequência de ruptura dessas interações temporárias é alta o suficiente para impedir a formação de novas interações, observa-se o início de um comportamento pseudoplástico. As curvas de viscosidade obtidas para a GN seguem esse perfil. Com o cisalhamento inicial (pré-cisalhamento) são expostos um maior número de grupos funcionais da GN capazes de formar interações intermoleculares via ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas e/ou interações hidrofóbicas (porção proteica). As interações entre esses grupos são responsáveis pelo reforço estrutural durante o tempo de recuperação resultando em um aumento de viscosidade.

Na Figura 42b também pode ser notada a formação de um segundo evento com características dilatantes em taxas de cisalhamento maiores, variando de $\sim 1 \text{ s}^{-1}$ a $\sim 40 \text{ s}^{-1}$ da maior para a menor concentração de GN, respectivamente, sendo mais evidente para

a GN 15%. Isso indica que são formadas interações intercadeias com diferentes intensidades na estrutura da GN, evidenciando a sua complexidade estrutural.

O comportamento viscoelástico das amostras foi analisado através de varreduras de frequência acompanhando a variação dos módulos G' e G'' dentro da região viscoelástica linear, determinada previamente. Os resultados para as amostras GN (15, 20, 25 e 30%) no estado inicial e após o pré-*shear* (até $\dot{\gamma} = 1000 \text{ s}^{-1}$) seguido de 20 horas de recuperação estão apresentados na Figura 43.

Os resultados revelam que todas as amostras apresentam um comportamento típico de um gel, com valores de G' maiores do que G'' em toda a faixa de frequência analisada. Após 20 horas de recuperação a diferença entre G' e G'' aumenta indicando a evolução para um gel mais forte, cuja estrutura é reforçada pelo aumento das interações intermoleculares como citado anteriormente.

No trabalho de Sanchez et al. (2002) é mostrada a evolução dos módulos G' e G'' com o tempo para uma amostra de *Acacia senegal* (6% m/m). Inicialmente a amostra apresenta um comportamento tipicamente líquido, com $G'' > G'$ em uma ampla faixa de frequência. Com o passar do tempo os autores observaram uma diminuição na diferença entre os módulos e após 120 minutos de repouso é observado uma inversão para um comportamento do tipo gel ($G' > G''$), com G' chegando a atingir valores de $\sim 1 \text{ Pa}$ após 20 horas de repouso. Mesmo sendo menos viscosa esses resultados indicam que para a goma de acácia comercial também ocorre a formação de uma estrutura com caráter gel com o tempo e que em ambos os casos, possivelmente essa evolução está relacionada com o caráter associativo desses polissacarídeos.

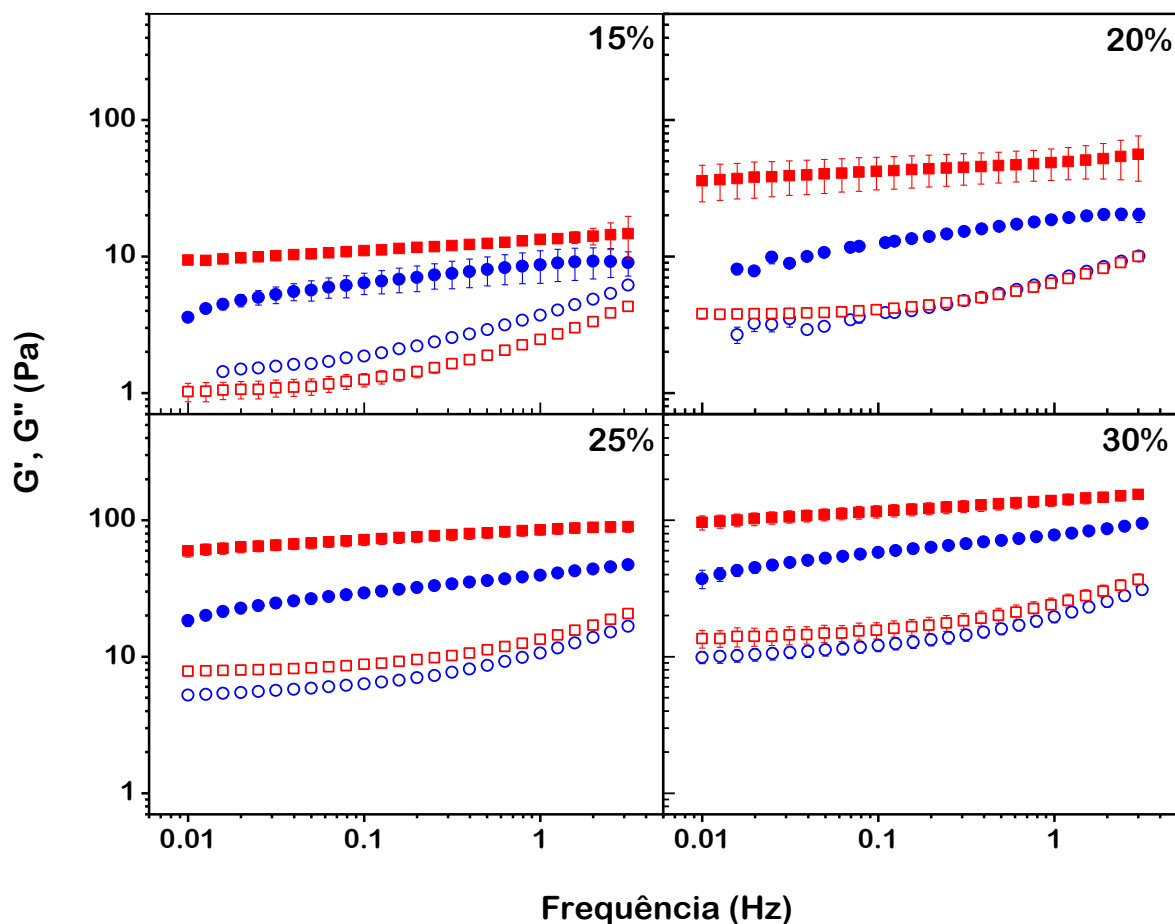


FIGURA 43 - VARREDURAS DE FREQUÊNÇA PARA AS SOLUÇÕES DE GN (15, 20, 25 E 30%) NO ESTADO INICIAL (AZUL) E APÓS PRÉ-CISALHAMENTO (ATÉ 1000 s^{-1}) SEGUIDO DE 20h DE RECUPERAÇÃO (VERMELHO). G' = SÍMBOLOS PREENCHIDOS, G'' SÍMBOLOS ABERTOS. AS BARRAS REPRESENTAM O DESVIO PADRÃO ENTRE DOIS EXPERIMENTOS INDEPENDENTES. $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $\gamma = 1\%$

Na região de média a alta frequência (1 a 3 Hz) nos gráficos da Figura 43, observa-se que o módulo G' atinge um valor praticamente independente da frequência aplicada, o qual é chamado de região do platô elástico, onde o material apresenta um comportamento típico de um elastômero. O valor de G' nessa região é chamado de módulo do platô (G_{el}) e está associado a densidade de interações entre as cadeias (GUO et al., 2012; LARSON, 1999; RUBINSTEIN; COLBY, 2003)

Com base nos princípios da microrreologia, que utiliza o movimento de uma partícula (sonda) para avaliar as propriedades reológicas locais do meio em que está suspensa (GARDEL; VALENTINE; WEITZ, 2005; SQUIRES; MASON, 2010), também é possível calcular o valor de deslocamento quadrático médio ($\langle \bar{r}^2 \rangle$) de partículas imersas

em um gel através do seu valor de G_{el} usando a equação de Stokes-Einstein generalizada abaixo, derivada por Mason & Weitz (1995):

$$G_{el} = \frac{k_B T}{6 \pi R \langle \bar{r}^2 \rangle} \quad (16)$$

onde k_B é a constante de Boltzman, T é a temperatura e R é o raio das partículas. Dessa forma, utilizando os valores de G_{el} obtidos pelas varreduras de frequência para a GN (Figura 43) e o raio das AuNPs calculado por SAXS (Figura 32, p. 87) calculou-se o $\langle \bar{r}^2 \rangle$ nas diferentes concentrações de GN.

Assim, é possível fazer um comparativo entre o valor de $\langle \bar{r}^2 \rangle$ obtido pela observação em uma escala microscópica através da técnica de XPCS com o $\langle \bar{r}^2 \rangle$ estimado através de uma consideração macroscópica pelo comportamento elástico do material caracterizado por reologia. A Figura 44 apresenta esse comparativo em função da concentração de GN.

Observa-se que os resultados previstos por reologia nessas condições estimam um movimento menos restrito do que o monitorado por XPCS pelo deslocamento das AuNPs nesse meio. O valor de $\langle \bar{r}^2 \rangle^{1/2}$ obtido por reologia para a GN 15% é aproximadamente 1,8 vezes maior (inserção da Figura 44) do que o determinado por XPCS, mas à medida que a concentração de GN na dispersão aumenta os valores se aproximam e há uma melhor correlação entre as duas técnicas.

Na literatura ainda são encontrados poucos trabalhos que fazem essa comparação direta entre XPCS e reologia baseados em considerações similares. As associações mais precisas relatadas envolvem o estudo de géis coloidais (ANGELINI et al., 2014; GUO et al., 2010, 2011). Com relação à sistemas poliméricos, tendo em vista a grande complexidade estrutural das gomas de acácia, pode-se afirmar que esses resultados apresentam uma boa convergência em comparação a outros trabalhos apresentados na literatura que fazem uma comparação similar, porém, utilizando dados dinâmicos obtidos por DLS (SPRAKEL et al., 2008; VAN DER GUCHT et al., 2003). Diferentemente desses outros trabalhos, em que os autores observaram uma diminuição

no grau de correlação com o aumento da concentração, no caso da GN observamos uma relação inversa.

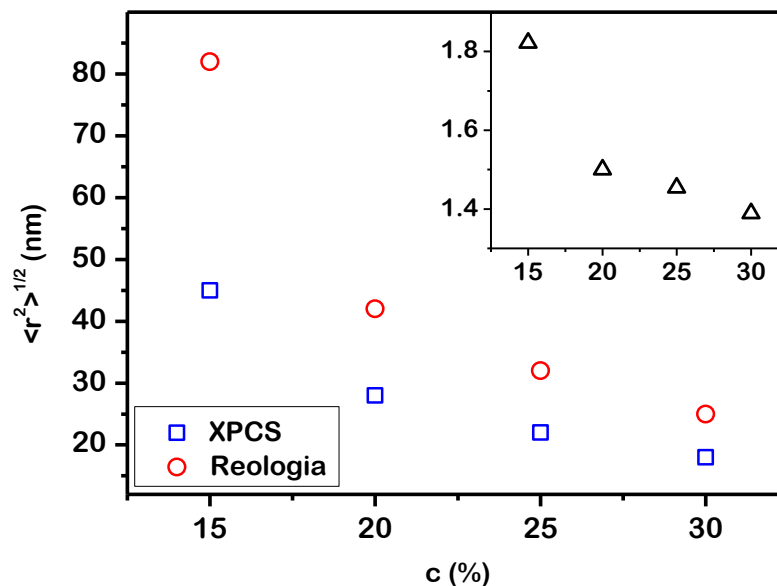


FIGURA 44 - DESLOCAMENTO QUADRÁTICO MÉDIO ($\langle \bar{r}^2 \rangle^{1/2}$) DAS AuNPs EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE GN CALCULADO POR XPCS E POR REOLOGIA. INSERÇÃO: RAZÃO $\langle \bar{r}^2 \rangle^{1/2}_{Reologia} / \langle \bar{r}^2 \rangle^{1/2}_{XPCS}$ EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE GN

Um possível argumento para justificar essa tendência em função da concentração está relacionado ao raio da partícula utilizado na equação 16 para estimar o deslocamento baseado nos dados reológicos. No cálculo, foi considerado somente o raio das AuNPs, pois dominam a intensidade de espalhamento na região de q analisada por XPCS e pela sua camada de estabilização ser equivalente ao meio em que está dispersa. Assim, não havendo distinção entre eles, a goma de acácia da camada de estabilização pode ser considerada como parte do meio dispersante. A natureza da interação entre as AuNPs e a goma de acácia ainda não está bem estabelecida. No entanto, as AuNPs apresentam uma boa estabilidade com relação à variação de pH do meio (DE BARROS et al., 2016) e mantém um perfil de espectro UV-Vis semelhante (Figura 30, p.85) por pelo menos dois meses após a síntese (dados não apresentados), sugerindo que a goma de acácia é um agente estabilizante eficaz e que ocorre uma interação efetiva entre elas.

Outra evidência dessa eficiência de estabilização da goma de acácia pode ser considerada pelo comparativo entre o comportamento de AuNPs recobertas com outros agentes estabilizantes, os quais também foram testadas para os experimentos de XPCS. As AuNPs estabilizadas com citrato (Nanopartz[®], AC11-10-CIT) apresentaram agregação irreversível quando adicionadas às soluções de GN, impossibilitando a sua utilização como sonda. Também foram testadas AuNPs funcionalizadas com metoxi-poli(óxido de etileno) (PEO-tiol, $M_n = 800$ e 2000 g mol^{-1}) que, por apresentarem uma cadeia mais longa, atuam por estabilização estérica. Nesses casos, não ocorreu a agregação irreversível das AuNPs quando adicionadas às soluções de GN, porém, verificou-se um ordenamento preferencial das nanopartículas na dispersão através da formação de um pico no perfil de SAXS (fator estrutura), como mostrado na Figura 45 para as dispersões de GN 25%. Por apresentarem essa interação preferencial também não são viáveis para utilização como sonda.

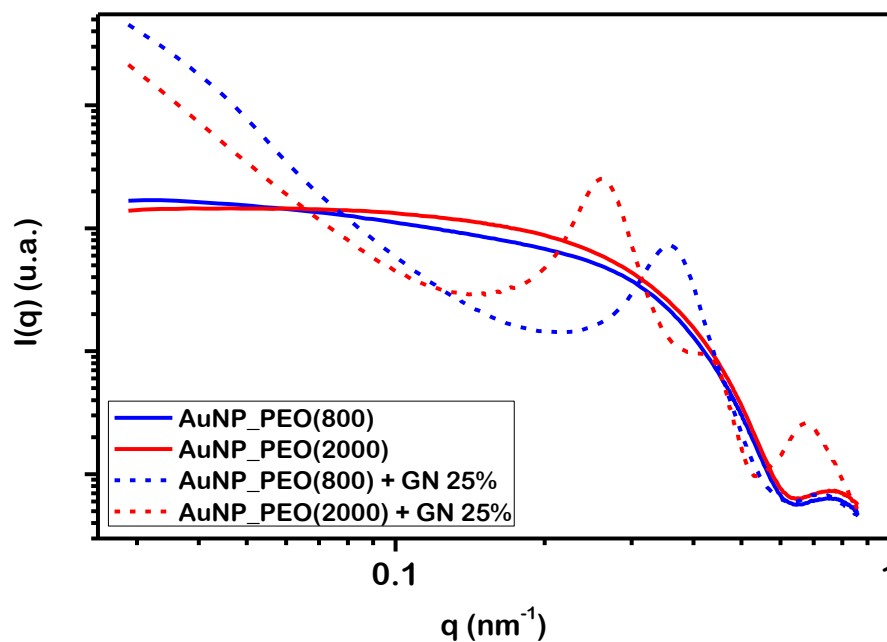


FIGURA 45 - PERFIS DE SAXS PARA AS AuNPs FUNCIONALIZADAS COM PEO ($M_n = 800$ e 2000 g mol^{-1}) E DAS DISPERSÕES FORMADAS COM GN 25% (m/m)

O comportamento distinto das AuNPs estabilizadas com a goma de acácia em comparação aos outros agentes estabilizantes sugere que essa estabilização é efetiva e possivelmente uma camada se mantém adsorvida na superfície das nanopartículas

mesmo quando dispersas nas soluções mais concentradas de GN. Com base nessas evidências calculou-se o raio da partícula que corresponde aos valores de G_{el} obtidos por reologia e de $\langle \bar{r}^2 \rangle$ calculados por XPCS, utilizando a equação 16. Foram obtidos valores de raio de 8, 6, 5 e 5 nm para as dispersões de GN 15, 20, 25 e 30%, respectivamente. Essa diminuição no raio da partícula com o aumento da concentração faz sentido se considerarmos uma contração nas cadeias de goma de acácia presentes na camada de estabilização devido à pressão exercida pelo aumento da concentração do meio ao redor. Esse efeito justifica a maior diferença entre os valores de $\langle \bar{r}^2 \rangle$ calculados para a menor concentração de GN. Analisando os valores calculados, observa-se que com o aumento da concentração o raio tende para um valor em torno de 5 nm. Cabe lembrar que aproximadamente 2,4 nm (Figura 31, p. 86 e Figura 32, p. 87) correspondem ao raio somente das AuNPs (observado por MET e SAXS), portanto, 2,6 nm correspondem à camada de goma adsorvida. Analisando as dimensões obtidas para a estrutura da GA obtida por SAXS (Tabela 7, p.79), observa-se que o nível 1, correspondente à espessura do elipsoide, apresenta um R_g em torno de 1,5 nm. Considerando que a interação ocorra de modo que essa face do elipsoide contribua para o raio da partícula e que há a interação de uma única camada na superfície, as partículas resultantes teriam aproximadamente 5,4 nm (2,4 + 1,5 + 1,5 nm) de espessura, uma aproximação bastante satisfatória aos valores calculados pela equação.

Essa conexão entre as duas técnicas é um resultado importante para a validação da aproximação teórica envolvida na equação 16 e enfatiza a potencialidade da técnica de XPCS para ser utilizada de acordo com os princípios da microreologia. Com relação à amostra GN verificou-se que nas concentrações analisadas a dinâmica investigada em escala microscópica se relaciona com o comportamento elástico do material, indicando que as características do gel formado se estendem pelos diferentes níveis estruturais.

6 CONCLUSÕES

A goma de acácia comercial (GA) e a goma de acácia negra (GN) são compostas pelas mesmas unidades monossacarídicas, mas diferem com relação aos teores destas unidades, ao teor proteico e à distribuição das suas frações de arabinogalactanas (AG), arabinogalactanas-proteína (AGP) e glicoproteínas (GP).

Comparativamente, a GA é mais homogênea e possui uma estrutura de maior massa molar disposta em uma conformação com menor volume hidrodinâmico (menor $[\eta]$ e menor R_g), sugerindo uma estrutura mais compacta, favorecida pelo maior teor de ramnose na amostra. A GN é composta por populações distintas com diferentes massas molares. Ela possui um maior grau de ramificação, que aliado à presença de ácidos urônicos resultam em uma estrutura mais rígida, ocupando um maior volume hidrodinâmico. Os grupos ácidos têm papel fundamental nessa rigidez mesmo na presença de contra-íons ($\text{NaCl } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$). Quando esses grupos são minimizados (amostra GN-CR) a $[\eta]$ se reduz à metade indicando que a estrutura se compacta em um menor volume hidrodinâmico.

O efeito eletrostático dos grupos ionizáveis é minimizado na presença de NaCl em solução, observado pelo potencial zeta próximo a zero. O aumento da força iônica do meio favorece a formação de domínios hidrofóbicos na estrutura, efeito que é mais pronunciado para a GN, apesar da sua estrutura mais rígida. Isso se dá pelas características da fração proteica, que é mais abundante nessa amostra e está distribuída em frações de menor massa, difundindo-se mais facilmente na solução e contribuindo para essa associação.

A diferença no grau de rigidez da estrutura da GA e GN também é observada pela variação do pK_a . A maior flexibilidade estrutural da GA permite uma maior reorganização conformacional com o aumento da concentração, apresentando uma maior variação no equilíbrio de dissociação dos grupos ácidos, reflexo do ambiente a que estão expostos. Essa reorganização conformacional é induzida pela associação cooperativa entre as cadeias relacionada a um processo de micelização. A GN, apesar de ser menos susceptível à essa variação, apresenta os menores valores de pK_a . Essa

maior acidez é devido ao seu maior teor proteico e maior disponibilidade dos grupos doadores de elétrons (aminoácidos básicos), contribuindo para a estabilização dos ânions carboxilatos formados.

A GA e a GN são formadas pela presença de diferentes níveis estruturais. Para a GA, foi possível identificar dois níveis condizentes com a forma de um elipsoide oblato. A GN apresenta uma distribuição de tamanhos mais ampla e uma maior tendência à agregação, dificultando a definição de cada nível estrutural. Com o aumento da concentração em solução ocorre uma organização e interação intercadeias, observada pela formação de um pico de correlação.

A GA atua como um agente estabilizante efetivo na síntese de nanopartículas de ouro, mantendo-as estáveis nas dispersões e possibilitando o seu uso como sonda nas análises de XPCS. A dinâmica rastreada pelas AuNPs reflete o comportamento dinâmico das cadeias de GA e GN em que estão imersas. O decaimento das funções de autocorrelação de intensidade da GA e GN caracterizam um movimento não-difusivo, referente à relaxação de pontos de tensão formados na estrutura desses materiais. Para a GA esse processo de relaxação mostra que as AuNPs estão imobilizadas na sua estrutura e, portanto, que as distâncias entre as cadeias de GA são menores do que o diâmetro das AuNPs. A GN por sua vez apresenta um decaimento em duas etapas característico de um movimento confinado. Nesse caso, a maior rigidez estrutural delimita a formação de interstícios maiores na sua estrutura, grandes o suficiente para que as AuNPs difundam livremente dentro de um certo limite, cujo volume diminui à medida que se aumenta a concentração de GN em solução, confirmado pelos valores de $\langle \bar{r}^2 \rangle$ calculados.

A GN nas concentrações de 15 a 30% apresenta um comportamento típico de gel, cuja força é aumentada quando este permanece em repouso. Ela também possui um comportamento pseudoplástico. Avaliando o comportamento de fluxo da GN após um pré-*shear* e repouso de 20 horas, observa-se a presença de dois eventos dilatantes (um inicial e um em maiores taxas de cisalhamento) dentro do perfil pseudoplástico do polissacarídeo, característicos de polímeros associativos. Essa característica dilatante é ocasionada por um reforço estrutural promovido pelo aumento de interações

intermoleculares via ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas e/ou interações hidrofóbicas.

Através dos valores do módulo do platô (G_{el}), determinado pelas varreduras de frequência, foi possível estimar o $\langle \bar{r}^2 \rangle$ de nanopartículas difundindo nesse meio. Obteve-se uma boa correlação entre os valores de $\langle \bar{r}^2 \rangle$ calculados por XPCS e por reologia, demonstrando uma conexão precisa entre a dinâmica em escala microscópica com o comportamento reológico macroscópico. Essa associação direta entre as duas técnicas foi demonstrada apenas em poucos trabalhos e, segundo o nosso conhecimento, é a primeira vez relatada em um sistema polimérico natural com essa complexidade estrutural. Pelo comparativo entre as duas técnicas também se sugere que as AuNPs mantêm uma interação estável com a GA mesmo quando dispersas em altas concentrações de GN e que o diâmetro efetivo das nanopartículas é resultante do diâmetro das AuNPs somado à espessura do elipsoide (Nível 1) da GA, considerando o recobrimento por uma monocamada.

Os resultados apresentados neste trabalho demonstram a grande complexidade que envolve as gomas de acácia em geral e evidenciam a heterogeneidade estrutural recorrente entre as gomas provenientes de diferentes espécies. Acompanhando-se a literatura dos últimos anos envolvendo esse tema certifica-se de que houve uma significativa evolução na caracterização desses materiais, porém, a grande variabilidade recorrente impõe a necessidade de se analisar detalhadamente cada uma delas de modo a poder explorar as suas propriedades específicas.

REFERÊNCIAS

- AKIYAMA, Y.; EDA, S.; KATO, K. Gum arabic is a kind of arabinogalactan-protein. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 48, n. 1, p. 235–237, 1984.
- AL-ASSAF, S.; PHILLIPS, G. O.; AOKI, H.; SASAKI, Y. Characterization and properties of *Acacia senegal* (L.) Willd. var. *senegal* with enhanced properties (*Acacia* (sen) SUPER GUM™): Part 1—Controlled maturation of *Acacia senegal* var. *senegal* to increase viscoelasticity, produce a hydrogel form and convert a poor into a good emulsifier. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 3, p. 319–328, 2007.
- AL-ASSAF, S.; PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. Studies on *Acacia* exudate gums: part II. Molecular weight comparison of the *Vulgares* and *Gummiferae* series of *Acacia* gums. **Food Hydrocolloids**, v. 19, n. 4, p. 661–667, 2005a.
- AL-ASSAF, S.; PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. Studies on acacia exudate gums. Part I: the molecular weight of gum exudate. **Food Hydrocolloids**, v. 19, n. 4, p. 647–660, 2005b.
- AL-ASSAF, S.; SAKATA, M.; MCKENNA, C.; AOKI, H.; PHILLIPS, G. Molecular associations in acacia gums. **Structural Chemistry**, v. 20, n. 2, p. 325–336, 2009.
- AMARNATH, C. A.; PALANIAPPAN, S.; RANNOU, P.; PRON, A. *Acacia* stabilized polyaniline dispersions: preparation, properties and blending with poly(vinyl alcohol). **Thin Solid Films**, v. 516, n. 10, p. 2928–2933, 2008.
- AMIJI, M. M. Pyrene fluorescence study of chitosan self-association in aqueous solution. **Carbohydrate Polymers**, v. 26, p. 211–213, 1995.
- ANDERSON, D. M. W.; DEA, I. C. M. Chemotaxonomic aspects of the chemistry of *Acacia* gum exudates. **Phytochemistry**, v. 8, n. 1, p. 167–176, 1969.
- ANDERSON, D. M. W.; DEA, I. C. M.; KARAMALLA, K. A.; SMITH, J. F. Studies on uronic acid materials : Part XXIV. An analytical study of different forms of the gum from *Acacia senegal* willd. **Carbohydrate Research**, v. 6, p. 97–103, 1968.
- ANDERSON, D. M. W.; RAHMAN, S. Studies on uronic acid materials : Part XX. The viscosity-molecular weight relationship for *Acacia* gums. **Carbohydrate Research**, v. 4, p. 298–304, 1967.
- ANDERSON, D. M. W.; STODDART, J. F. Studies on uronic acid materials : Part XV. The use of molecular-sieve chromatography in studies on *Acacia senegal* gum (gum arabic). **Carbohydrate Research**, v. 2, p. 104–114, 1966.

ANGELINI, R.; MADSEN, A.; FLUERASU, A.; RUOCCO, G.; RUZICKA, B. Aging behavior of the localization length in a colloidal glass. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 460, p. 118–122, 2014.

AOKI, H.; KATAYAMA, T.; OGASAWARA, T.; SASAKI, Y.; AL-ASSAF, S.; PHILLIPS, G. O. Characterization and properties of *Acacia senegal* (L.) Willd. var. *Senegal* with enhanced properties (*Acacia (sen)* SUPER GUM™): Part 5. Factors affecting the emulsification of *Acacia senegal* and *Acacia (sen)* SUPER GUM™. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 3, p. 353–358, 2007.

ASPINALL, G. O. **Biogenesis of plant cell wall polysaccharides**. Elsevier, 1973.

ASPINALL, G. O.; CARLYLE, J. J.; YOUNG, R. *Acacia mearnsii* gum. **Carbohydrate Research**, v. 7, n. 4, p. 421–430, 1968.

ATKINS, P.; PAULA, J. DE. **Físico-Química**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2003.

BANDYOPADHYAY, R.; LIANG, D.; YARDIMCI, H.; SESSOMS, D. A.; BORTHWICK, M. A.; MOCHRIE, S. G. J.; HARDEN, J. L.; LEHENY, R. L. Evolution of particle-scale dynamics in an aging clay suspension. **Physical Review Letters**, v. 93, n. 22, p. 228302, 2004.

BANDYOPADHYAYA, R.; NATIV-ROTH, E.; REGEV, O.; YERUSHALMI-ROZEN, R. Stabilization of individual carbon nanotubes in aqueous solutions. **Nano Letters**, v. 2, n. 1, p. 25–28, 2002.

BANERJEE, S. S.; CHEN, D. H. Fast removal of copper ions by gum arabic modified magnetic nano-adsorbent. **Journal of Hazardous Materials**, v. 147, p. 792–799, 2007.

BARMAR, M.; KAFFASHI, B.; BARIKANI, M. Investigating the effect of hydrophobic structural parameters on the thickening properties of HEUR associative copolymers. **European Polymer Journal**, v. 41, n. 3, p. 619–626, 2005.

BEAUCAGE, G. Approximations leading to a unified exponential/power-Law approach to small-angle scattering. **Journal of Applied Crystallography**, v. 28, p. 717–728, 1995.

BEAUCAGE, G. Small-angle scattering from polymeric mass fractals of arbitrary mass-fractal dimension. **Journal of Applied Crystallography**, v. 29, n. 2, p. 134–146, 1996.

BEHROUZIAN, F.; RAZAVI, S. M. A.; KARAZHIYAN, H. Intrinsic viscosity of cress (*Lepidium sativum*) seed gum: Effect of salts and sugars. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 100–105, 2014.

BERNE, B. J.; PECORA, R. **Dynamic light scattering: with applications to chemistry, biology, and physics**. Dover Publications, 1976.

BOHREN, C. F.; HUFFMAN, D. R. **Absorption and scattering by an arbitrary particle**. Wiley-VCH Verlag GmbH, 1998.

BOLAND, D. J.; BROOKER, M. I. H.; CHIPPENDALE, G. M.; HALL, N.; HYLAND, B. P. M.; JOHNSTON, R. D.; KLEINIG, D. A.; MCDONALD, M. W.; TURNER, J. D. **Forest Trees of Australia**. 5. ed. Australia: Csiro Publishing, 2006.

BOUCHAUD, J.-P.; PITARD, E. Anomalous dynamical light scattering in soft glassy gels. **The European Physical Journal E**, v. 6, n. 3, p. 231–236, 2001.

BUFFO, R. .; REINECCIUS, G. .; OEHLERT, G. . Factors affecting the emulsifying and rheological properties of gum acacia in beverage emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 15, n. 1, p. 53–66, 2001.

BUTSTRAEN, C.; SALAÜN, F. Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum arabic and chitosan. **Carbohydrate polymers**, v. 99, p. 608–16, 2014.

CARLYLE, J. J. **The molecular structure of exudate gums, with special reference to gums of *Combretaceae***. Thesis (Doctor of Philosophy), University of Edinburgh, 1966.

CASTELLAN, G. W. **Physical Chemistry**. Addison-Wesley Publishing Company, 1964.

CASTELLANI, O.; GAILLARD, C.; VIE, V.; AL-ASSAF, S.; AXELOS, M.; PHILLIPS, G. O.; ANTON, M. Hydrocolloids with emulsifying capacity. Part 3-Adsorption and structural properties at the air-water surface. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p. 131–141, 2010.

CHABOT, V.; KIM, B.; SLOPER, B.; TZOGANAKIS, C.; YU, A. High yield production and purification of few layer graphene by gum arabic assisted physical sonication. **Scientific Reports**, v. 3, p. 1378, 2013.

CHASSENIEUX, C.; NICOLAI, T.; BENYAHIA, L. Rheology of associative polymer solutions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 16, n. 1, p. 18–26, 2011.

CHAUDHURI, A.; HALDAR, S.; CHATTOPADHYAY, A. Organization and dynamics in micellar structural transition monitored by pyrene fluorescence. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 390, n. 3, p. 728–32, 2009.

CIPELLETTI, L.; MANLEY, S.; BALL, R. C.; WEITZ, D. A. Universal aging features in the restructuring of fractal colloidal gels. **Physical Review Letters**, v. 84, n. 10, p. 2275–2278, 2000.

CIPELLETTI, L.; RAMOS, L.; MANLEY, S.; PITARD, E.; WEITZ, D. A.; PASHKOVSKI, E. E.; JOHANSSON, M. Universal non-diffusive slow dynamics in aging soft matter. **Faraday Discussions**, v. 123, n. 0, p. 237–251, 2003.

CNPEN. **Projeto Sirius**. Disponível em: <Inls.cnpem.br/sirius>. Acesso em: 25 fev. 2016.

COMBET, J.; RAWISO, M.; ROCHAS, C.; HOFFMANN, S.; BOUÉ, F. Structure of polyelectrolytes with mixed monovalent and divalent counterions: SAXS measurements and Poisson–Boltzmann analysis. **Macromolecules**, v. 44, n. 8, p. 3039–3052, 2011.

- CORNELSEN, P. A.; QUINTANILHA, R. C.; VIDOTTI, M.; GORIN, P. A. J.; SIMAS-TOSIN, F. F.; RIEGEL-VIDOTTI, I. C. Native and structurally modified gum arabic: exploring the effect of the gum's microstructure in obtaining electroactive nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 119, p. 35–43, 2015.
- CZAKKEL, O.; MADSEN, A. Evolution of dynamics and structure during formation of a cross-linked polymer gel. **Europhysics Letters**, v. 95, n. 2, p. 28001, 2011.
- DA SILVA, B. C. **Estudo físico-químico das propriedades emulsificantes dos polissacarídeos de goma de acácia-negra oriunda de plantações brasileiras**. Dissertação (Mestrado em Química, Universidade Federal do Paraná, 2014).
- DA SILVA, B. C.; DE OLIVEIRA, M.; FERREIRA, J. G. L.; SIERAKOWSKI, M. R.; SIMAS-TOSIN, F. F.; ORTH, E. S.; RIEGEL-VIDOTTI, I. C. Polyelectrolyte complexes from gum arabic and gelatin: Optimal complexation pH as a key parameter to obtain reproducible microcapsules. **Food Hydrocolloids**, v. 46, p. 201–207, 2015.
- DAVIDSON, R. L. **Handbook of water soluble gums and resins**. New York: McGraw-Hill, 1980.
- DE BARROS, H.; CARDOSO, M. B.; DE OLIVEIRA, C.; CAVICHIOLO FRANCO, C. R.; DE LIMA BELAN, D.; VIDOTTI, M.; RIEGEL-VIDOTTI, I. C. Stability of gum arabic-gold nanoparticles in physiological simulated pHs and their selective effect on cell lines. **RSC Advance**, v. 6, n. 12, p. 9411–9420, 2016.
- DELGOBO, C. L.; GORIN, P. A. J.; JONES, C.; IACOMINI, M. Gum heteropolysaccharide and free reducing mono- and oligosaccharides of *Anadenanthera colubrina*. **Phytochemistry**, v. 47, n. 7, p. 1207–1214, 1998.
- DELGOBO, C. L.; GORIN, P. A. J.; TISCHER, C. A.; IACOMINI, M. The free reducing oligosaccharides of angico branco (*Anadenanthera colubrina*) gum exudate: an aid for structural assignments in the heteropolysaccharide. **Carbohydrate Research**, v. 320, n. 3, p. 167–175, 1999.
- DEVI, D. K.; PRATAP, S. V.; HARITHA, R.; SIVUDU, K. S.; RADHIKA, P.; SREEDHAR, B. Gum acacia as a facile reducing, stabilizing, and templating agent for palladium nanoparticles. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 121, n. 3, p. 1765–1773, 2011.
- DICKINSON, E. Mixed biopolymers at interfaces: Competitive adsorption and multilayer structures. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1966–1983, 2011.
- DICKINSON, E.; GALAZKA, V. B.; ANDERSON, D. M. W. Emulsifying behaviour of gum arabic. Part 1: Effect of the nature of the oil phase on the emulsion droplet-size distribution. **Carbohydrate Polymers**, v. 14, n. 4, p. 373–383, 1991.
- DOWLING, K. C.; THOMAS, J. K. A novel micellar synthesis and photophysical characterization of water-soluble acrylamide-styrene block copolymers. **Macromolecules**, v. 23, p. 1059–1064, 1990.

- DREISS, C. A.; JACK, K. S.; PARKER, A. P. On the absolute calibration of bench-top small-angle X-ray scattering instruments: a comparison of different standard methods. **Journal of Applied Crystallography**, v. 39, n. 1, p. 32–38, 2006.
- DUDUKOVIC, N. A.; ZUKOSKI, C. F. Nanoscale dynamics and aging of fibrous peptide-based gels. **The Journal of Chemical Physics**, v. 141, n. 16, 2014.
- FAN, J.; SHI, Z.; GE, Y.; WANG, J.; WANG, Y.; YIN, J. Gum arabic assisted exfoliation and fabrication of Ag-graphene-based hybrids. **Journal of Materials Chemistry**, v. 22, n. 27, p. 13764–13772, 2012.
- FERREIRA, J. G. L.; GREIN-IANKOVSKI, A.; OLIVEIRA, M. A. S.; SIMAS-TOSIN, F. F.; RIEGEL-VIDOTTI, I. C.; ORTH, E. S. A tailored biocatalyst achieved by the rational anchoring of imidazole groups on a natural polymer: furnishing a potential artificial nuclease by sustainable materials engineering. **Chemical Communications**, v. 51, n. 28, p. 6210–6213, 2015.
- FILISSETTI-COZZI, T. M.; CARPITA, N. C. Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. **Analytical Biochemistry**, v. 197, p. 157–162, 1991.
- FINCHER, G. B.; STONE, B. A.; CLARKE, A. E. Arabinogalactan-proteins - structure, biosynthesis and function. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 34, p. 47–70, 1983.
- FLINDT, C.; AL-ASSAF, S.; PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. Studies on acacia exudate gums. Part V. Structural features of Acacia seyal. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 687–701, 2005.
- FLORY, P. J.; FOX, T. G. Treatment of intrinsic viscosities. **Journal of the American Chemical Society**, v. 73, n. 5, p. 1904–1908, 1951.
- FUKASAWA, T.; SATO, T. Versatile application of indirect Fourier transformation to structure factor analysis: from X-ray diffraction of molecular liquids to small angle scattering of protein solutions. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 13, n. 8, p. 3187–3196, 2011.
- FUOSS, R. M.; STRAUSS, U. P. Electrostatic interaction of polyelectrolytes and simple electrolytes. **Journal of Polymer Science**, v. 3, p. 602–603, 1948.
- GARDEL, M. L.; VALENTINE, M. T.; WEITZ, D. A. Microrheology. In: BREUER, K. S. (Ed.). **Microscale Diagnostic Techniques**. Springer Berlin Heidelberg, 2005. p. 1–49.
- GILS, P. S.; RAY, D.; SAHOO, P. K. Designing of silver nanoparticles in gum arabic based semi-IPN hydrogel. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 46, p. 237–244, 2010.
- GLATTER, O.; KRATKY, O. **Small angle X-ray scattering**. London: Academic Press, 1982.

GOH, K. K. T.; MATIA-MERINO, L.; HALL, C. E.; MOUGHAN, P. J.; SINGH, H. Complex rheological properties of a water-soluble extract from the fronds of the black tree fern, *Cyathea medullaris*. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 11, p. 3414–3421, 2007.

GOODWIN, J. **Colloids and interfaces with surfactants and polymers**. Wiley, 2009.

GREIN, A. **Estudo de propriedades em solução e de superfície de sistemas polissacarídicos a partir de goma de acácia e goma de acácia/celulose bacteriana**. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal do Paraná, 2012.

GREIN, A.; DA SILVA, B. C.; WENDEL, C. F.; TISCHER, C. A.; SIERAKOWSKI, M. R.; MOURA, A. B. D.; IACOMINI, M.; GORIN, P. A. J.; SIMAS-TOSIN, F. F.; RIEGEL-VIDOTTI, I. C. Structural characterization and emulsifying properties of polysaccharides of *Acacia mearnsii* de Wild gum. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, p. 312–320, 2013.

GRIGOLETTI, A.; SANTOS, A. F.; HIGA, A. R.; MORA, A. L.; SIMON, A. A.; AUER, C. G.; IEDE, E. T.; CURCIO, G. R.; RODIGHERI, H. R.; DEDECK, R. A.; HIGA, C. R. V.; KEIL, S. S.; PENTEADO, S. C. R. **Cultivo de acácia-negra**. Embrapa Florestas - Sistemas de Produção, 2003.

GRÜBEL, G.; MADSEN, A.; ROBERT, A. X-Ray Photon Correlation Spectroscopy (XPCS). In: BORSALI, R.; PECORA, R. (Eds.). **Soft Matter Characterization**. Springer Netherlands, 2008. p. 953–995.

GRÜBEL, G.; ZONTONE, F. Correlation spectroscopy with coherent X-rays. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 362, n. 1-2, p. 3–11, 2004.

GUO, H.; BOURRET, G.; CORBIERRE, M. K.; RUCAREANU, S.; LENNOX, R. B.; LAAZIRI, K.; PICHE, L.; SUTTON, M.; HARDEN, J. L.; LEHENY, R. L. Nanoparticle motion within glassy polymer melts. **Physical Review Letters**, v. 102, n. 7, p. 75702, 2009.

GUO, H.; BOURRET, G.; LENNOX, R. B.; SUTTON, M.; HARDEN, J. L.; LEHENY, R. L. Entanglement-controlled subdiffusion of nanoparticles within concentrated polymer solutions. **Physical Review Letters**, v. 109, n. 5, p. 55901, 2012.

GUO, H.; RAMAKRISHNAN, S.; HARDEN, J. L.; LEHENY, R. L. Connecting nanoscale motion and rheology of gel-forming colloidal suspensions. **Physical Review E**, v. 81, n. 5, p. 50401, 2010.

GUO, H.; RAMAKRISHNAN, S.; HARDEN, J. L.; LEHENY, R. L. Gel formation and aging in weakly attractive nanocolloid suspensions at intermediate concentrations. **The Journal of Chemical Physics**, v. 135, n. 15, 2011.

GUO, H.; WILKING, J. N.; LIANG, D.; MASON, T. G.; HARDEN, J. L.; LEHENY, R. L. Slow, nondiffusive dynamics in concentrated nanoemulsions. **Physical Review E**, v. 75, n. 4, p. 41401, 2007.

HARTREE, E. F. Determination of protein - modification of lowry method that gives a linear photometric response. **Analytical Biochemistry**, v. 48, p. 422–427, 1972.

HERZIG, E. M.; ROBERT, A.; VAN 'T ZAND, D. D.; CIPELETTI, L.; PUSEY, P. N.; CLEGG, P. S. Dynamics of a colloid-stabilized cream. **Physical Review E**, v. 79, n. 1, p. 11405, 2009.

HIEMENZ, P. C. **Polymer Chemistry**. New York: Marcel Dekker, INC, 1984.

HOARE, D. G.; KOSHLAND, D. E. J. A method for the quantitative modification and estimation of carboxylic acid groups in proteins. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 242, n. 10, p. 2447–2453, 1967.

HOLMBERG, K.; JÖNSSON, B.; KRONBERG, B.; LINDMAN, B. Surfactant–polymer systems. In: **Surfactants and Polymers in Aqueous Solution**. John Wiley & Sons, Ltd, 2002. p. 277–303.

HU, Y.; WANG, S. Q.; JAMIESON, A. M. Rheological and rheoptical studies of shear-thickening polyacrylamide solutions. **Macromolecules**, v. 28, n. 6, p. 1847–1853, 1995.

HUGGINS, M. L. Theory of solutions of high polymers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 64, p. 1712–1719, 1942.

IDRIS, O. H. M.; WILLIAMS, P. A.; PHILLIPS, G. O. Characterisation of gum from *Acacia senegal* trees of different age and location using multidetection gel permeation chromatography. **Food Hydrocolloids**, v. 12, p. 379–388, 1998.

ILAVSKY, J.; JEMIAN, P. R. Irena: tool suite for modeling and analysis of small-angle scattering. **Journal of Applied Crystallography**, v. 42, n. 2, p. 347–353, 2009.

ISLAM, A. M.; PHILLIPS, G. O.; SLJIVO, A.; SNOWDEN, M. J.; WILLIAMS, P. A. A review of recent developments on the regulatory, structural and functional aspects of gum arabic. **Food Hydrocolloids**, v. 11, p. 493–505, 1997.

ITC. **International Trade Centre - Trade map**. Disponível em:
<<http://www.trademap.org/>>.

JAMIESON, A. M.; SIMHA, R. Newtonian viscosity of dilute, semidilute, and concentrated polymer solutions. In: **Polymer Physics**. John Wiley & Sons, Inc., 2010. p. 15–87.

JAYME, M. L.; DUNSTAN, D. E.; GEE, M. L. Zeta potentials of gum arabic stabilised oil in water emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 13, p. 459–465, 1999.

JÓ, T. A.; PETRI, D. F. S.; BELTRAMINI, L. M.; LUCYSZYN, N.; SIERAKOWSKI, M. R. Xyloglucan nano-aggregates: Physico-chemical characterisation in buffer solution and potential application as a carrier for camptothecin, an anti-cancer drug. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 2, p. 355–362, 2010.

KALYANASUNDARAM, K.; THOMAS, J. K. Environmental effects on vibronic band intensities in pyrene monomer fluorescence and their application in studies of micellar systems. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, p. 2039–2044, 1977.

KAPLAN, M.; STEPHEN, A. M. Application of gas-liquid chromatography to the structural investigation of polysaccharides—II. **Tetrahedron**, v. 23, n. 1, p. 193–198, 1967.

KAUR, L.; SINGH, J.; SINGH, H. Characterization of gum ghatti (*Anogeissus latifolia*): a structural and rheological approach. **Journal of food science**, v. 74, n. 6, p. E328–32, 2009.

KENNEDY, J. F.; KNILL, C. J. Physical techniques for the study of food biopolymers. **Polymer International**, v. 34, p. 236, 1994.

KIM, S.; WILLETT, J. L.; CARRIERE, C. J.; FELKER, F. C. Shear-thickening and shear-induced pattern formation in starch solutions. **Carbohydrate Polymers**, v. 47, n. 4, p. 347–356, 2002.

KJØNIKSEN, A. L.; HIORTH, M.; ROOTS, J.; NYSTRÖM, B. Shear-induced association and gelation of aqueous solutions of pectin. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 107, n. 26, p. 6324–6328, 2003.

KJØNIKSEN, A.-L.; HIORTH, M.; NYSTRÖM, B. Association under shear flow in aqueous solutions of pectin. **European Polymer Journal**, v. 41, n. 4, p. 761–770, 2005.

KOHN, R.; KOVÁČ, P. Dissociation constants of D-galacturonic and D-glucuronic acid and their O-methyl derivatives. **Chemical Papers**, v. 32, n. 4, p. 478–485, 1978.

KONG, H.; YANG, J.; ZHANG, Y.; FANG, Y.; NISHINARI, K.; PHILLIPS, G. O. Synthesis and antioxidant properties of gum arabic-stabilized selenium nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 65, p. 155–62, 2014.

LARSON, R. G. **The structure and rheology of complex fluids**. New York: Oxford University Press, 1999.

LEHENY, R. L. XPCS: Nanoscale motion and rheology. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 17, n. 1, p. 3–12, 2012.

LEHENY, R. L.; ROGERS, M. C.; CHEN, K.; NARAYANAN, S.; HARDEN, J. L. Rheo-XPCS. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 20, n. 4, p. 261–271, 2015.

LI, H.; ROBERTSON, A. D.; JENSEN, J. H. Very fast empirical prediction and rationalization of protein pKa values. **Proteins**, v. 61, n. 4, p. 704–721, 2005.

LI, X. B.; FANG, Y. P.; AL-ASSAF, S.; PHILLIPS, G. O.; NISHINARI, K.; ZHANG, H. B. Rheological study of gum arabic solutions: Interpretation based on molecular self-association. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 2394–2402, 2009.

- LIU, J.; LI, J.; MA, Y.; CHEN, F.; ZHAO, G. Synthesis, characterization, and aqueous self-assembly of octenylsuccinate oat β -glucan. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 51, p. 12683–12691, 2013.
- LIU, S.; LOW, N. H.; NICKERSON, M. Entrapment of flaxseed oil within gelatin-gum arabic capsules. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 87, n. 7, p. 809–815, 2010.
- LOPEZ-TORREZ, L.; NIGEN, M.; WILLIAMS, P.; DOCO, T.; SANCHEZ, C. *Acacia senegal* vs. *Acacia seyal* gums – Part 1: Composition and structure of hyperbranched plant exudates. **Food Hydrocolloids**, v. 51, p. 41–53, 2015.
- MAHENDRAN, T.; WILLIAMS, P. A.; PHILLIPS, G. O.; AL-ASSAF, S.; BALDWIN, T. C. New insights into the structural characteristics of the arabinogalactan - protein (AGP) fraction of gum arabic. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 9269–9276, 2008.
- MARTELL, A. E.; HANCOCK, R. D. **Metal complexes in aqueous solutions**. New York: Plenum Press, 1996.
- MARTÍNEZ, M.; BELTRÁN, O.; RINCÓN, F.; LEÓN DE PINTO, G.; IGARTUBURU, J. M. New structural features of *Acacia tortuosa* gum exudate. **Food chemistry**, v. 182, p. 105–110, 2015.
- MASON, T. G.; WEITZ, D. A. Optical measurements of frequency-dependent linear viscoelastic moduli of complex fluids. **Physical Review Letters**, v. 74, n. 7, p. 1250–1253, 1995.
- MAURER-MENESTRINA, J.; SASSAKI, G. L.; SIMAS, F. F.; GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M. Structure of a highly substituted β -xylan of the gum exudate of the palm *Livistona chinensis* (Chinese fan). **Carbohydrate Research**, v. 338, n. 18, p. 1843–1850, 2003.
- MAYS, J. W.; HADJICHRISTIDIS, N. Polymer characterization using dilute solution viscometry. In: BARTH, H. G.; MAYS, J. W. (Eds.). **Modern methods of polymer characterization**. Wiley, 1991. p. 227–259.
- MENESTRINA, J. M.; IACOMINI, M.; JONES, C.; GORIN, P. A. J. Similarity of monosaccharide, oligosaccharide and polysaccharide structures in gum exudate of *Anacardium occidentale*. **Phytochemistry**, v. 47, n. 5, p. 715–721, 1998.
- MISHRA, M. K.; KOBAYASHI, S. **Star and hyperbranched polymers**. CRC Press, 1999.
- MOTHE, C. G.; RAO, M. A. Rheological behavior of aqueous dispersions of cashew gum and gum arabic: effect of concentration and blending. **Food Hydrocolloids**, v. 13, p. 501–506, 1999.

MÜLLER, I. **Avaliação da produtividade da *Acacia mearnsii* De Wild. (Acácia Negra) em função de diferentes espaçamentos.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção), Universidade Federal de Santa Maria, 2006.

NAKAJIMA, A. Solvent effect on the vibrational structures of the fluorescence and absorption spectra of pyrene. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 44, n. 12, p. 3272–3277, 1971.

NAKAJIMA, N.; IKADA, Y. Mechanism of amide formation by carbodiimide for bioconjugation in aqueous media. **Bioconjugate Chemistry**, v. 6, n. 1, p. 123–130, 1995.

NARAYANAN, T. Synchrotron small-angle X-ray scattering. In: BORSALI, R.; PECORA, R. (Eds.). **Soft-Matter Characterization**. Springer Netherlands, 2008.

NIE, S.-P.; WANG, C.; CUI, S. W.; WANG, Q.; XIE, M.-Y.; PHILLIPS, G. O. The core carbohydrate structure of *Acacia seyal* var. *seyal* (Gum arabic). **Food Hydrocolloids**, v. 32, n. 2, p. 221–227, 2013a.

NIE, S.-P.; WANG, C.; CUI, S. W.; WANG, Q.; XIE, M.-Y.; PHILLIPS, G. O. A further amendment to the classical core structure of gum arabic (*Acacia senegal*). **Food Hydrocolloids**, v. 31, n. 1, p. 42–48, 2013b.

NISHIDA, K.; KAJI, K.; KANAYA, T.; SHIBANO, T. Added salt effect on the intermolecular correlation in flexible polyelectrolyte solutions: small-angle scattering study. **Macromolecules**, v. 35, n. 10, p. 4084–4089, 2002.

NODA, I.; TSUGE, T.; NAGASAWA, M. The intrinsic viscosity of polyelectrolytes. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 74, p. 710–719, 1970.

PACE, C. N.; GRIMSLEY, G. R.; SCHOLTZ, J. M. Protein ionizable groups: pK values and their contribution to protein stability and solubility. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 20, p. 13285–13289, 2009.

PAMIES, R.; HERNÁNDEZ CIFRE, J. G.; DEL CARMEN LÓPEZ MARTÍNEZ, M.; DE LA TORRE, J. Determination of intrinsic viscosities of macromolecules and nanoparticles. Comparison of single-point and dilution procedures. **Colloid and Polymer Science**, v. 286, n. 11, p. 1223–1231, 2008.

PAN, Y.; CHENG, R. A novel interpretation of concentration dependence of viscosity of dilute polymer solution. **Chinese Journal of Polymer Science**, v. 18, n. 1, p. 57–67, 2000.

PAPAGIANNPOULOS, A.; WAIGH, T. A.; FLUERASU, A.; FERNYHOUGH, C.; MADSEN, A. Microrheology of polymeric solutions using x-ray photon correlation spectroscopy. **Journal of physics. Condensed matter : an Institute of Physics journal**, v. 17, p. L279–85, 2005.

PATEL, A. J.; NARAYANAN, S.; SANDY, A.; MOCHRIE, S. G. J.; GARETZ, B. A.; WATANABE, H.; BALSARA, N. P. Relationship between structural and stress relaxation in a block-copolymer melt. **Physical Review Letters**, v. 96, n. 25, p. 257801, 2006.

PEREIRA-NETTO, A. B.; PETTOLINO, F.; CRUZ-SILVA, C. T. A.; SIMAS, F. F.; BACIC, A.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. DOS A.; IACOMINI, M.; MAURER, J. B. B. Cashew-nut tree exudate gum: Identification of an arabinogalactan-protein as a constituent of the gum and use on the stimulation of somatic embryogenesis. **Plant Science**, v. 173, n. 4, p. 468–477, 2007.

PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. **Handbook of hydrocolloids**. 2. ed. CRC Press, 2000.

POPA-NITA, S.; ROCHAS, C.; DAVID, L.; DOMARD, A. Structure of natural polyelectrolyte solutions: role of the hydrophilic/hydrophobic interaction balance. **Langmuir**, v. 25, n. 11, p. 6460–6468, 2009.

QUINTANILHA, R. C.; ORTH, E. S.; GREIN-IANKOVSKI, A.; RIEGEL-VIDOTTI, I. C.; VIDOTTI, M. The use of gum Arabic as “green” stabilizer of poly(aniline) nanocomposites: A comprehensive study of spectroscopic, morphological and electrochemical properties. **Journal of Colloid & Interface Science**, v. 434, p. 18–27, 2014.

RANDALL, R. C.; PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. Fractionation and characterization of gum from *Acacia senegal*. **Food Hydrocolloids**, v. 3, p. 65–75, 1989.

RANKA, M.; VARKEY, N.; RAMAKRISHNAN, S.; ZUKOSKI, C. F. Impact of small changes in particle surface chemistry for unentangled polymer nanocomposites. **Soft Matter**, v. 11, n. 8, p. 1634–1645, 2015.

RENARD, D.; GARNIER, C.; LAPP, A.; SCHMITT, C.; SANCHEZ, C. Structure of arabinogalactan-protein from *Acacia* gum: From porous ellipsoids to supramolecular architectures. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 322–332, 2012.

RENARD, D.; GARNIER, C.; LAPP, A.; SCHMITT, C.; SANCHEZ, C. Corrigendum to “Structure of arabinogalactan-protein from *Acacia* gum: From porous ellipsoids to supramolecular architectures”. **Carbohydrate Polymers**, v. 97, p. 864–867, 2013.

RENARD, D.; LAVENANT-GOURGEON, L.; LAPP, A.; NIGEN, M.; SANCHEZ, C. Enzymatic hydrolysis studies of arabinogalactan-protein structure from *Acacia* gum: The self-similarity hypothesis of assembly from a common building block. **Carbohydrate Polymers**, v. 112, p. 648–661, 2014a.

RENARD, D.; LAVENANT-GOURGEON, L.; RALET, M. C.; SANCHEZ, C. *Acacia senegal* gum: Continuum of molecular species differing by their protein to sugar ratio, molecular weight, and charges. **Biomacromolecules**, v. 7, p. 2637–2649, 2006.

RENARD, D.; LEPVRIER, E.; GARNIER, C.; ROBLIN, P.; NIGEN, M.; SANCHEZ, C. Structure of glycoproteins from *Acacia* gum: An assembly of ring-like glycoproteins modules. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 736–747, 2014b.

RINAUDO, M. Chapter 24 - Polyelectrolytes derived from natural polysaccharides. In: BELGACEM, M. N.; GANDINI, A. (Eds.). **Monomers, polymers and composites from renewable resources**. Amsterdam: Elsevier, 2008. p. 495–516.

ROURE, I.; RINAUDO, M.; MILAS, M.; FROLLINI, E. Viscometric behaviour of polyelectrolytes in the presence of low salt concentration. **Polymer**, v. 39, p. 5441–5445, 1998.

RUBINSTEIN, M.; COLBY, R. H. **Polymer physics**. OUP Oxford, 2003.

RUTA, B.; CZAKKEL, O.; CHUSHKIN, Y.; PIGNON, F.; NERVO, R.; ZONTONE, F.; RINAUDO, M. Silica nanoparticles as tracers of the gelation dynamics of a natural biopolymer physical gel. **Soft matter**, v. 10, n. 25, p. 4547–4554, 2014.

SANCHEZ, C.; RENARD, D.; ROBERT, P.; SCHMITT, C.; LEFEBVRE, J. Structure and rheological properties of *Acacia* gum dispersions. **Food Hydrocolloids**, v. 16, p. 257–267, 2002.

SANCHEZ, C.; SCHMITT, C.; KOLODZIEJCZYK, E.; LAPP, A.; GAILLARD, C.; RENARD, D. The *Acacia* gum arabinogalactan fraction is a thin oblate ellipsoid: a new model based on small-angle neutron scattering and ab initio calculation. **Biophysical Journal**, v. 94, p. 629–639, 2008.

SANTOS, A. F.; GRIGOLETTI JR, A.; AUER, C. G.; SANTANA, D. L. Q. O complexo gomose da acácia-negra. **Circular Técnica**, v. 44, 2001.

SARIKA, P. R.; CINTHYA, K.; JAYAKRISHNAN, A.; ANILKUMAR, P. R.; NIRMALA, R. J. Modified gum arabic cross-linked gelatin scaffold for biomedical applications. **Materials Science and Engineering: C**, v. 43, p. 272-279, 2014.

SASSAKI, G. L.; SOUZA, L. M.; SERRATO, R. V; CIPRIANI, T. R.; GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M. Application of acetate derivatives for gas chromatography-mass spectrometry: novel approaches on carbohydrates, lipids and amino acids analysis. **Journal of chromatography. A**, v. 1208, p. 215–22, 2008.

SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S.; ELICEIRI, K. W. NIH image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature methods**, v. 9, p. 671–675, 2012.

SCHNEIDER, P. R.; TONINI, H. Utilização de variáveis Dummy em equações de volume para *Acacia mearnsii* De Wild. **Ciência Florestal**, v. 13, p. 121–129, 2003.

SHAW, D. J. **Colloid and surface chemistry**. Fourth ed. Burlington: Butterworth Heinemann, 1992.

SHPYRKO, O. G. X-ray photon correlation spectroscopy. **Journal of Synchrotron Radiation**, v. 21, p. 1057–1064, 2014.

SIBAJA-HERNÁNDEZ, R.; ROMÁN-GUERRERO, A.; SEPÚLVEDA-JIMÉNEZ, G.; RODRÍGUEZ-MONROY, M. Physicochemical, shear flow behaviour and emulsifying properties of *Acacia cochliacantha* and *Acacia farnesiana* gums. **Industrial Crops and Products**, v. 67, p. 161–168, 2015.

SIMAS, F. F.; GORIN, P. A. J.; GUERRINI, M.; NAGGI, A.; SASSAKI, G. L.; DELGOBO, C. L.; IACOMINI, M. Structure of a heteroxyylan of gum exudate of the palm *Scheelea phalerata* (uricuri). **Phytochemistry**, v. 65, n. 16, p. 2347–55, 2004.

SIMAS, F. F.; GORIN, P. A. J.; WAGNER, R.; SASSAKI, G. L.; BONKERNER, A.; IACOMINI, M. Comparison of structure of gum exudate polysaccharides from the trunk and fruit of the peach tree (*Prunus persica*). **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 218–228, 2008.

SIMAS, F. F.; MAURER-MENESTRINA, J.; REIS, R. A.; SASSAKI, G. L.; IACOMINI, M.; GORIN, P. A. J. Structure of the fucose-containing acidic heteroxyylan from the gum exudate of *Syagrus romanzoffiana* (Queen palm). **Carbohydrate Polymers**, v. 63, n. 1, p. 30–39, 2006.

SIMAS-TOSIN, F. F.; BARRAZA, R. R.; PETKOWICZ, C. L. O.; SILVEIRA, J. L. M.; SASSAKI, G. L.; SANTOS, E. M. R.; GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M. Rheological and structural characteristics of peach tree gum exudate. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 5, p. 486–493, 2010.

SIMAS-TOSIN, F. F.; DE SOUZA, L. M.; WAGNER, R.; PEREIRA, G. C. Z.; BARRAZA, R. R.; WENDEL, C. F.; SASSAKI, G. L.; IACOMINI, M.; GORIN, P. A. J. Structural characterization of a glucuronoarabinoxylan from pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merrill) gum exudate. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n. 1, p. 704–711, 2013.

SIMAS-TOSIN, F. F.; WAGNER, R.; SANTOS, E. M. R.; SASSAKI, G. L.; GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M. Polysaccharide of nectarine gum exudate: Comparison with that of peach gum. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 3, p. 485–487, 2009.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**. Oitava ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006.

SPRAKEL, J.; VAN DER GUCHT, J.; COHEN STUART, M. A.; BESSELING, N. A. M. Brownian particles in transient polymer networks. **Physical Review E**, v. 77, p. 61502, 2008.

SQUIRES, T. M.; MASON, T. G. Fluid mechanics of microrheology. **Annual Review of Fluid Mechanics**, v. 42, p. 413–438, 2010.

STEPHEN, A. M. *Acacia mollissima* Willd. Part I. The component sugars and aldobiuronic acid of black wattle gum. **Journal of Chemical Society**, p. 646–649, 1951.

- STREET, C. A.; ANDERSON, D. M. Refinement of structures previously proposed for gum arabic and other acacia gum exudates. **Talanta**, v. 30, p. 887–893, 1983.
- STRIBECK, N. **X-Ray scattering of soft matter**. Springer Berlin Heidelberg, 2007.
- STRIBECK, N.; SMARSLY, B. **Scattering methods and the properties of polymer materials**. Springer Berlin Heidelberg, 2005.
- SUN, S. F. Light Scattering. In: **Physical Chemistry of Macromolecules**. John Wiley & Sons, Inc., 2004. p. 320–347.
- TAN, H.; TAM, K. C.; JENKINS, R. D. Network structure of a model HASE polymer in semidilute salt solutions. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 79, p. 1486–1496, 2001.
- TARDIEU, A.; LE VERGE, A.; MALFOIS, M.; BONNETÉ, F.; FINET, S.; RIÈS-KAUTT, M.; BELLONI, L. Proteins in solution: from X-ray scattering intensities to interaction potentials. **Journal of Crystal Growth**, v. 196, n. 2-4, p. 193–203, 1999.
- TARTSCH, B. **Do you see the complete picture? “Triple Detection” in Gel Permeation Chromatography**. Disponível em: <<http://www.analytica-world.com/en/whitepapers/50029/do-you-see-the-complete-picture.html>>.
- TAYLOR, R. L.; CONRAD, H. E. Stoichiometric depolymerization of polyuronides and glycosaminoglycuronans to monosaccharides following reduction of their carbodiimide-activated carboxyl group. **Biochemistry**, v. 11, p. 1383–1388, 1972.
- TERAOKA, I. **Polymer Solutions: An Introduction to Physical Properties**. New York: Wiley Interscience, 2002.
- THE MATHWORKS. **MATLAB 8.0 and Statistics Toolbox 8.1**, Natick, Massachusetts, United States, 2012.
- THURLKILL, R. L.; GRIMSLEY, G. R.; SCHOLTZ, J. M.; PACE, C. N. pK values of the ionizable groups of proteins. **Protein Science**, v. 15, n. 5, p. 1214–1218, 2006.
- TISCHER, C. The free reducing oligosaccharides of gum arabic: aids for structural assignments in the polysaccharide. **Carbohydrate Polymers**, v. 47, n. 2, p. 151–158, 2002.
- TONIETTO, L.; STEIN, P. P. Silvicultura da acácia negra (*Acacia mearnsii* De Wild) no Brasil. **Florestar Estatístico**, v. 4, p. 11–16, 1997.
- TRIPATHI, A.; TAM, K. C.; MCKINLEY, G. H. Rheology and dynamics of associative polymers in shear and extension: theory and experiments. **Macromolecules**, v. 39, n. 5, p. 1981–1999, 2006.

VAN DER GUCHT, J.; BESSELING, N. A. M.; KNOBEN, W.; BOUTEILLER, L.; COHEN STUART, M. A. Brownian particles in supramolecular polymer solutions. **Physical Review E**, v. 67, n. 5, p. 51106, 2003.

VAN DER VEEN, F.; PFEIFFER, F. Coherent x-ray scattering. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 16, n. 28, p. 5003, 2004.

VAN HOLST, G. J.; CLARKE, A. E. Quantification of Arabinogalactan-Protein by Single Radial Gel Diffusion. **Analytical Biochemistry**, v. 148, n. 2, p. 446–450, 1985.

VANDEVELDE, M.-C.; FENYO, J.-C. Macromolecular distribution of *Acacia senegal* gum (gum arabic) by size-exclusion chromatography. **Carbohydrate Polymers**, v. 5, p. 251–273, 1985.

VERBEKEN, D.; DIERCKX, S.; DEWETTINCK, K. Exudate gums: occurrence, production, and applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 63, p. 10–21, 2003.

VIEIRA, N. A. B.; MOSCARDINI, M. S.; TIERA, V. A. D. O.; TIERA, M. J. Aggregation behavior of hydrophobically modified dextran in aqueous solution: a fluorescence probe study. **Carbohydrate Polymers**, v. 53, p. 137–143, 2003.

WAGNER, R.; SIMAS, F. F.; PEREIRA, G. C. Z.; ANGELI, A.; BRITO, J. O.; WORANOVICZ-BARREIRA, S. M.; DELGOBO, C. L.; SASSAKI, G. L.; IACOMINI, M.; GORIN, P. A. J. Structure of a glycoylucuronomannan from the gum exudate of *Vochysia tucanorum* (family *Vochysiaceae*). **Carbohydrate Polymers**, v. 69, n. 3, p. 512–521, 2007.

WAGNER, R.; SIMAS, F. F.; SASSAKI, G. L.; IACOMINI, M.; DA SILVA, M. A.; GORIN, P. A. J. A high-viscosity glycoylucuronomannan from the gum exudate of *Vochysia thyrsoidea*: Comparison with those of other *Vochysia* spp. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, n. 3, p. 382–389, 2008.

WAGNER, R.; WORANOVICZ-BARREIRA, S. M.; IACOMINI, M.; DELGOBO, C. L.; PIMENTEL, N. M.; GORIN, P. A. J. Structure of a glycoylucuronomannan from the low-viscosity gum of *Vochysia lehmannii*. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, n. 3, p. 269–275, 2004.

WANG, B.; WANG, L.; LI, D.; ZHOU, Y.; ÖZKAN, N. Shear-thickening properties of waxy maize starch dispersions. **Journal of Food Engineering**, v. 107, n. 3-4, p. 415–423, 2011.

WEE, M. S. M.; MATIA-MERINO, L.; CARNACHAN, S. M.; SIMS, I. M.; GOH, K. K. T. Structure of a shear-thickening polysaccharide extracted from the New Zealand black tree fern, *Cyathea medullaris*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 70, p. 86–91, 2014.

- WEILL, G. Viscosity and scattering of very weakly charged polyelectrolytes. **Biophysical Chemistry**, v. 41, p. 1–8, 1991.
- WHISTLER, R. L. **Industrial Gums. Polysaccharides and their derivatives**. Third ed. San Diego: Academic Press, 1993.
- WILLIAMS, D. N.; GOLD, K. A.; HOLOMAN, T. R. P.; EHRMAN, S. H.; WILSON, O. C. Surface modification of magnetic nanoparticles using gum arabic. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 8, p. 749–753, 2006.
- WITTEN, T. A. Associating polymers and shear thickening. **Journal de Physique**, v. 49, n. 6, p. 1055–1063, 1988.
- WITTEN, T. A.; COHEN, M. H. Cross-linking in shear-thickening ionomers. **Macromolecules**, v. 18, n. 10, p. 1915–1918, 1985.
- WOJDYR, M. Fityk: a general-purpose peak fitting program. **Journal of Applied Crystallography**, v. 43, n. 5 Part 1, p. 1126–1128, 2010.
- WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. Reduction with sodium borohydride. In: WHISTLER, R. L.; WOLFROM, M. L. (Eds.). **Methods in Carbohydrate Chemistry**. 2. ed. New York: Academic Press, 1963a.
- WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. Acetylation. In: WHISTLER, R. L.; WOLFROM, M. L. (Eds.). **Methods in Carbohydrate Chemistry**. 2. ed. New York: Academic Press, 1963b.
- YALPANI, M.; HALL, L. D.; TUNG, M. A.; BROOKS, D. E. Unusual rheology of a branched, water-soluble chitosan derivative. **Nature**, v. 302, n. 5911, p. 812–814, 1983.
- YOUNG, R. J.; LOVELL, P. A. **Introduction to Polymers**. 2. ed. London: Chapman & Hall, 1991.
- ZHANG, F.; ILAVSKY, J.; LONG, G.; QUINTANA, J. G.; ALLEN, A.; JEMIAN, P. Glassy carbon as an absolute intensity calibration standard for small-angle scattering. **Metallurgical and Materials Transactions A**, v. 41, p. 1151–1158, 2010.

ANEXO – PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

CAPÍTULO DE LIVRO

SIMAS-TOSIN, F. F., GREIN-IANKOVSKI, A., VIDOTTI, M., RIEGEL-VIDOTTI, I. C. Polysaccharides as green biodegradable platforms for building-up electroactive composite materials: An Overview. In: THAKUR, V. K., THAKUR, M. K., KESSLER, M. R. (Eds). **Handbook of Composites from Renewable Materials - Biodegradable Materials**. v. 5, Wiley-Scrivener, ago. 2016.

ARTIGOS PUBLICADOS

FERREIRA, J. G. L., GREIN-IANKOVSKI, A., OLIVEIRA, M. A. S., SIMAS-TOSIN, F. F., RIEGEL-VIDOTTI, I. C., ORTH, E. S. A tailored biocatalyst achieved by the rational anchoring of imidazole groups on a natural polymer: furnishing a potential artificial nuclease by sustainable materials engineering. **Chemical Communications**, 51, 28, 6210-6213, 2015.

LOPES, T. D., RIEGEL-VIDOTTI, I. C., GREIN, A., TISCHER, C. A., FARIA-TISCHER, P. S. Bacterial cellulose and hyaluronic acid hybrid membranes: Production and characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**, 67, 401 – 408, 2014.

DE SOUZA, C. F., RIEGEL-VIDOTTI, I. C., CARDOSO, M. B., ONO, L., LUCYSZYN, N., LUBAMBO, A. F., SENS, C. V., GREIN-IANKOVSKI, A., SIERAKOWSKI, M. R. Nanometric organisation in blends of gellan/xyloglucan hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, 114, 48 – 56, 2014.

QUINTANILHA, R. C., ORTH, E. S., GREIN-IANKOVSKI, A., RIEGEL-VIDOTTI, I., VIDOTTI, M. The use of gum Arabic as “green” stabilizer of poly(aniline) nanocomposites: A comprehensive study of spectroscopic, morphological and electrochemical properties. **Journal of Colloid & Interface Science**, 434, 18-27, 2014.

ARTIGOS SUBMETIDOS

GREIN-IANKOVSKI, A., RIEGEL-VIDOTTI, I. C., SIMAS-TOSIN, F. F., NARAYANAN, S., LEHENY, R. L., SANDY, A. R. Exploring the relationship between nanoscale dynamics and macroscopic rheology in natural polymer gums. (Submetido)

ARTIGOS EM PREPARAÇÃO

GREIN-IANKOVSKI, A., FERREIRA, J. G. L., ORTH, E. S., SIERAKOWSKI, M. R., SIMAS-TOSIN, F. F., RIEGEL-VIDOTTI, I. C. Microstructure and physicochemical properties of *Acacia mearnsii* de Wild gum. (Em preparação)