

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALINE GREIN

ESTUDO DE PROPRIEDADES EM SOLUÇÃO E DE SUPERFÍCIE DE SISTEMAS  
POLISSACARÍDICOS A PARTIR DE GOMA DE ACÁCIA E GOMA DE  
ACÁCIA/CELULOSE BACTERIANA

CURITIBA

2012

ALINE GREIN

ESTUDO DE PROPRIEDADES EM SOLUÇÃO E DE SUPERFÍCIE DE SISTEMAS  
POLISSACARÍDICOS A PARTIR DE GOMA DE ACÁCIA E GOMA DE  
ACÁCIA/CELULOSE BACTERIANA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química, sub-área Físico-Química.

Orientadora: Profa. Dra. Izabel Cristina Riegel  
Co-Orientador: Prof. Dr. Cesar Augusto Tischer  
Colaboradora: Dra. Fernanda F. Simas Tosin

CURITIBA  
2012

Aos meus pais, Antonio e Ivanete, pelo apoio  
incondicional em todos os momentos.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e pela força para poder superar todos os desafios e momentos difíceis.

A Prof. Dra. Izabel Cristina Riegel, que me acolheu no mestrado, me apresentou à goma de acácia e me despertou para a extraordinária química dos colóides. Muito obrigada pela amizade, pela orientação, confiança, incentivo, disposição e por todo o conhecimento transmitido.

Ao Prof. Dr. Cesar Augusto Tischer, pela orientação, confiança e por todo o conhecimento transmitido.

A Dra. Fernanda F. Simas Tosin, que engrandeceu o trabalho com o seu conhecimento e experiência com as gomas. Muito obrigada pela amizade, pela colaboração e disponibilidade e também pelo seu entusiasmo com a pesquisa, que contagia a todos.

A Prof. Dra. Maria Rita Sierakowski e ao Prof. Dr. Rilton Alves de Freitas por toda a ajuda, sugestões e discussões nas reuniões de grupo do BioPol.

Ao Prof. Dr. Marcio Eduardo Vidotti Miyata, pelo apoio e incentivo, por toda a ajuda e pela amizade.

A todos os amigos do laboratório de biopolímeros, “família BioPol”, pela convivência, ajuda e por todos os momentos de descontração.

Aos amigos do grupo de pesquisa, os “gomeiros”, Paty, Bruno, Jaki, Carol Novak, Carol Silva e Mari, pela parceria, por toda a ajuda com os experimentos e pela amizade construída.

A todos os amigos do Departamento de Química, em especial às meninas do LEAP, pela convivência, pelas conversas de corredor, momentos de descontração, pelo incentivo e amizade.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica (CME) da UFPR, pela infraestrutura disponibilizada para as análises de MEV.

Ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) – Campinas – SP, pela infraestrutura disponibilizada para as análises de SAXS e ao Dr. Mateus Borba Cardoso por todo o ensinamento e auxílio na realização das análises e tratamento dos dados de SAXS e pelo aceite em participar da avaliação deste trabalho.

A Prof. Dra. Rosangela Itri, pela disponibilidade e grande ajuda nas análises dos dados de SAXS.

Em especial à minha família, meus pais Antonio e Ivanete, meus irmãos Ana Claudia e Diego, minha avó Amália, pelo incentivo, compreensão, conselhos, pelo apoio em todos os momentos e por vibrarem comigo a cada nova conquista.

Ao meu namorado Hector, pelo companheirismo, compreensão, amor, dedicação e pelo abraço de conforto e palavras de incentivo nos momentos certos.

A todos os meus amigos, dos tempos de infância, do colégio e da graduação, pelo carinho, pelas conversas, conselhos, “ombros amigos”, pelas risadas, enfim, por todos os momentos de convivência e pela sólida amizade.

A CAPES e ao Programa REUNI, pelo auxílio financeiro.

Ao CNPq (projetos 577232/2008-8 e 477467/2010-5) e Rede Nanobiotec/CAPES-Brasil pelo apoio financeiro.

A empresa Membracel Produtos Biotecnológicos Ltda. pelas membranas de celulose bacteriana cedidas.

A EMBRAPA Clima Temperado pelos esforços em promover a valorização da cadeia produtiva da acácia-negra no Brasil.

A todos, que de alguma forma, foram importantes e contribuíram para a realização deste trabalho e para o meu crescimento intelectual e pessoal, o meu muito obrigada!

“Deus nos faz perfeitos e não escolhe os  
capacitados, capacita os escolhidos.  
Fazer ou não fazer algo, só depende da  
nossa vontade e perseverança”

Albert Einstein

## RESUMO

A goma de acácia, também conhecida como goma arábica, é um polissacarídeo obtido a partir dos exsudatos do tronco das árvores de acácia principalmente das espécies *Acacia senegal* e *Acacia seyal*, sendo os países africanos os maiores produtores. No Brasil é plantada para fins comerciais outra espécie do gênero *Acacia*, a *Acacia mearnsii* De Wild, conhecida popularmente como acácia negra, visando principalmente à extração de tanino e à obtenção de carvão vegetal. A goma exsudada destas árvores ainda não é aproveitada comercialmente. No presente trabalho realizou-se um estudo físico-químico da goma de acácia negra (GNF) comparativamente com uma goma de acácia comercial (GAC) pelas técnicas de tensiometria, fluorimetria e espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS). Verificou-se que a GNF apresenta menores valores de concentração de adsorção crítica (CAC) e concentração micelar crítica (CMC) e uma melhor capacidade emulsificante do que a GAC. Na presença de sais em solução, observou-se uma maior capacidade de agregação para ambas as amostras, resultando em uma maior área molecular e um maior valor de raio de giro (Rg). Estas diferenças das propriedades observadas para as duas amostras (GAC e GNF) estão, possivelmente relacionadas, com as diferenças observadas na composição monossacarídica, teor proteico, massa molar ponderal média ( $\bar{M}_w$ ) e grau de polidispersão entre as amostras analisadas, sendo que a GNF apresentou um maior teor proteico, e um menor de ácidos urônicos do que a GAC. Visando agregar valor à goma de acácia obtida de plantações brasileiras e potencializar a utilização da celulose bacteriana, um biopolímero muito utilizado em membranas curativas para o tratamento de feridas e queimaduras, prospectou-se o desenvolvimento de um compósito formado a partir da adsorção da goma de acácia em membranas de celulose bacteriana por um método bastante simples. Observou-se que foi possível promover a adsorção da goma sobre a celulose bacteriana e que este processo é reversível.

Palavras-chave: goma de acácia, celulose bacteriana, compósitos, emulsificação.

## ABSTRACT

Acacia gum, also known as arabic gum, is a polysaccharide obtained from the exudates of Acacia trees, mainly from *A. senegal* e *A. seyal* species, being the Africa countries the major manufacturers. In Brazil, acacia trees are grown for commercial uses, where it is commonly known as black wattle (acacia negra), for extraction of tannin from their bark and charcoal production. The exudates are not commercially exploited yet. In the present work, some physico-chemical properties of black wattle (GNF) were determined and compared to the properties of a commercial arabic gum (GAC) by tensiometry, fluorimetry and small angle X-ray diffraction (SAXS). The analysis showed that the critical adsorption concentration (CAC) and critical micelle concentration (CMC) values for the GNF are lower than for the GAC, moreover the emulsifying properties of the GNF were better than the obtained for the GAC. At salt solutions, both samples were more aggregated, resulting in lower values of molecular area and radius of gyration ( $R_g$ ). These differences are possibly due to differences in their monosaccharide composition, protein content and molar weight ( $\bar{M}_w$ ). GNF has higher emulsifying capacity and aggregates at lower concentrations. Aiming at aggregating net value to the acacia gum obtained from Brazilian trees and improving the use of bacterial cellulose (CB), a biopolymer currently widely employed for biomedical applications, as for example the healing of injured burnt skin, we have prepared a biocomposite from acacia gum and bacterial cellulose through a very simple method. We have observed that acacia gum has efficiently adsorbed into de CB surface and that the process is reversible.

Key words: gum acacia, bacterial cellulose, composites, emulsification.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - MODELO ESTRUTURAL PROPOSTO PARA A FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DA GOMA DE ACÁCIA: ● Galp-β(1→3)-LIGADA; ○ Galp-β(1→6)-LIGADA; A = Ara; R <sub>1</sub> = Rha – GlcA; R <sub>2</sub> = Gal – 3Ara; R <sub>3</sub> = Gal – 3Ara – 3Ara.....	22
FIGURA 2 - REPRESENTAÇÃO DO MODELO WATTLE BLOSSOM PROPOSTO PARA A ESTRUTURA DO COMPLEXO AGP DA GOMA DE <i>A. senegal</i> .....	23
FIGURA 3 - CULTIVO DE <i>Acacia mearnsii</i> : (A) PLANTIO COMERCIAL PARA PRODUÇÃO DE TANINO E MADEIRA; (B) ASPECTO DOS GALHOS (C) EXSUDATO GOMOSO. ....	26
FIGURA 4 - REPRESENTAÇÃO DA ESTRUTURA DA CADEIA DE CELULOSE FORMADA POR UNIDADES CONSECUTIVAS DE CELOBIOSE ENFATIZANDO AS LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO INTRA E INTERCADEIAS.....	27
FIGURA 5 - EXEMPLOS DE APLICAÇÕES MÉDICAS DA CELULOSE BACTERIANA: (A) BIOCURATIVO APLICADO EM QUEIMADURA; (B) TUBOS PARA IMPLANTES EM VASOS SANGUÍNEOS; BIOCURATIVO COMERCIAL (MEMBRACEL PRODUTOS BIOTECNOLÓGICOS LTDA.) APLICADO EM FERIMENTO.....	29
FIGURA 6 - GOMA DE ACÁCIA COMERCIAL.....	32
FIGURA 7 - GOMA BRUTA DE <i>Acacia mearnsii</i> De Wild.....	33
FIGURA 8 - MEMBRANA DE CELULOSE BACTERIANA HIDRATADA .....	33
FIGURA 9 - FLUXOGRAMA DO PROCEDIMENTO REALIZADO PARA EXTRAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS DA GOMA DE ACÁCIA NEGRA.....	35

FIGURA 10 - ESPETRO DO PIRENO EVIDENCIANDO AS BANDAS $I_1$ e $I_3$ EM DIFERENTES MEIOS: LINHA VERMELHA CHEIA = MEIO POLAR ( $I_1/I_3 \sim 1,8$ ); LINHA AZUL PONTILHADA = MEIO APOLAR ( $I_1/I_3 \sim 0,6$ ) .....	41
FIGURA 11 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE ESTRUTURAS TIPO FRACTAL: (A) FRACTAL DE SUPERFÍCIE; (B) FRACTAL DE MASSA.....	43
FIGURA 12 - ESTRUTURA QUÍMICA DO ÓLEO DE RÍCINO: R = ÁCIDO RICINOLEICO; R' = OUTROS ÁCIDOS GRAXOS .....	45
FIGURA 13 - PROCEDIMENTO DE PREPARO DOS COMPÓSITOS CB/GOMA DE ACÁCIA COMERCIAL.....	46
FIGURA 14 - PERFIS CROMATOGRÁFICOS DAS AMOSTRAS OBTIDOS POR SEC: (A) GAC; (B) GNF. RI = ÍNDICE DE REFRAÇÃO; RALS = ESPALHAMENTO DE LUZ A ÂNGULO RETO.....	50
FIGURA 15 - ESPECTROS DE RMN $^{13}C$ DAS AMOSTRAS: (A) GAC; (B) GNF....	52
FIGURA 16 - TENSÃO SUPERFICIAL ( $\gamma$ ) EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE GOMA DE ACÁCIA EM DIFERENTES MEIOS SALINOS: (A) GAC; (B) GNF; ESTÃO INDICADOS OS VALORES DE CAC (CONCENTRAÇÃO DE ADSORÇÃO CRÍTICA) E CMC (CONCENTRAÇÃO MICELAR CRÍTICA) PARA AS AMOSTRAS EM ÁGUA.....	55
FIGURA 17 - RELAÇÃO ENTRE A RAZÃO DAS BANDAS $I_1/I_3$ DO ESPECTRO DE EMISSÃO DO PIRENO <i>VERSUS</i> A CONCENTRAÇÃO DE GOMA DE ACÁCIA EM DIFERENTES MEIOS: (A) GAC; (B) GNF .....	58
FIGURA 18 - RELAÇÃO ENTRE A RAZÃO DAS BANDAS $I_1/I_3$ DO ESPECTRO DE EMISSÃO DO PIRENO (ESCALA CORRIGIDA) <i>VERSUS</i> A CONCENTRAÇÃO DE GOMA DE ACÁCIA EM DIFERENTES MEIOS: (A) GAC; (B) GNF; CAC = CONCENTRAÇÃO AGREGAÇÃO CRÍTICA.....	59
FIGURA 19 - PERFIS DE SAXS PARA A GAC EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES.....	61

FIGURA 20 - PERFIL DE SAXS PARA A AMOSTRA GAC 5 mg.mL <sup>-1</sup> EM ÁGUA: ■ DADOS EXPERIMENTAIS; A LINHA VERMELHA REPRESENTA O AJUSTE MATEMÁTICO PARA ESTRUTURAS DO TIPO FRACTAL E O NÚMERO DESTACADO CORRESPONDE AO COEFICIENTE $\rho$ .....	62
FIGURA 21 - PERFIS DE SAXS PARA A GAC 5 mg.mL <sup>-1</sup> EM DIFERENTES MEIOS: ■ ÁGUA; ▲ NaCl 0,1 mol.L <sup>-1</sup> ; ● CaCl <sub>2</sub> 0,1 mol.L <sup>-1</sup> ; A LINHA VERMELHA REPRESENTA O AJUSTE MATEMÁTICO E OS NÚMEROS DESTACADOS CORRESPONDEM AOS COEFICIENTES $\rho$ DE CADA CURVA.....	64
FIGURA 22 - PERFIS DE SAXS PARA AS AMOSTRAS EM ÁGUA: ■ GAC 5 mg.mL <sup>-1</sup> ; ▲ GNF 5 mg.mL <sup>-1</sup> ; A LINHA VERMELHA REPRESENTA O AJUSTE MATEMÁTICO E OS NÚMEROS DESTACADOS CORRESPONDEM AOS COEFICIENTES $\rho$ DE CADA CURVA .....	65
FIGURA 23 - PERFIS DE SAXS PARA A GNF 5 mg.mL <sup>-1</sup> EM DIFERENTES MEIOS: ■ ÁGUA; ▲ NaCl 0,1 mol.L <sup>-1</sup> ; A LINHA VERMELHA REPRESENTA O AJUSTE MATEMÁTICO E OS NÚMEROS DESTACADOS CORRESPONDEM AOS COEFICIENTES $\rho$ DE CADA CURVA.....	66
FIGURA 24 - FOTOS DAS EMULSÕES FORMADAS COM A ADIÇÃO DE ÓLEO DE RÍCINO EM SOLUÇÕES DE GAC E GNF EM ÁGUA E EM NaCl 0,1 mol.L <sup>-1</sup> .....	68
FIGURA 25 - IMAGENS DE MICROSCOPIA ÓPTICA DAS EMULSÕES FORMADAS COM ADIÇÃO DE ÓLEO DE RÍCINO EM: (A) E (B) ÁGUA; (C) E (D) GAC EM ÁGUA; (E) E (F) GNF EM ÁGUA, EM DIFERENTES TEMPOS: (A) (C) (E) t = 1 min; (B) (D) (F) t = 1 h, AMPLIAÇÃO: 10x.....	70
FIGURA 26 - IMAGENS OBTIDAS POR MEV: (A) MEMBRANA DE CELULOSE BACTERIANA; (B) COMPÓSITO GAC5L; MAGNIFICAÇÃO = 10.000x.....	71
FIGURA 27 – CURVAS PADRÃO DAS GOMAS DE ACÁCIA: (A) GAC, $\lambda$ = 287 nm; (B) GNF, $\lambda$ = 275 nm .....	73

- FIGURA 28 - REPRESENTAÇÃO LINEAR DAS ISOTERMAS DE ADSORÇÃO:  
GAC: (A) LANGMUIR, (B) FREUNDLICH; GNF (C) LANGMUIR, (D)  
FREUNDLICH .....75
- FIGURA 29 - CURVA DE LIBERAÇÃO DA GOMA DE ACÁCIA COM O TEMPO  
DE IMERSÃO DOS COMPÓSITOS PREPARADOS EM  
DIFERENTES PROPORÇÕES: (A) GAC/CB; (B) GNF/CB.....76
- FIGURA 30 - AMPLIAÇÃO DO INÍCIO DA CURVA DE LIBERAÇÃO DA GOMA  
DE ACÁCIA COM O TEMPO DE IMERSÃO DOS COMPÓSITOS  
PREPARADOS EM DIFERENTES PROPORÇÕES: (A) GAC/CB;  
(B) GNF/CB .....76

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA E TEOR PROTEICO DA GOMA DE ACÁCIA COMERCIAL E DAS FRAÇÕES DA GOMA DE ACÁCIA NEGRA .....	49
TABELA 2 - VALORES DE MASSA MOLAR PONDERAL MÉDIA ( $M_w$ ) e GRAU DE POLIDISPERSÃO ( $M_w/M_n$ ) DAS AMOSTRAS DE GOMA DE ACÁCIA.....	51
TABELA 3 - VALORES DE CAC, CMC, $\gamma$ NESTAS CONCENTRAÇÕES E ÁREA MOLECULAR DE GAC EM ÁGUA E EM SOLUÇÕES SALINAS .....	56
TABELA 4 - VALORES DE CAC, CMC, $\gamma$ NESTAS CONCENTRAÇÕES E ÁREA MOLECULAR DE GNF EM ÁGUA E EM SOLUÇÕES SALINAS .....	56
TABELA 5 - VALORES DE CONCENTRAÇÃO DE AGREGAÇÃO CRÍTICA (CAC) OBTIDOS POR FLUORIMETRIA PARA A GAC E GNF .....	60
TABELA 6 - VALORES DE RAIO DE GIRO ( $R_g$ ) PARA AS AMOSTRAS GAC E GNF EM DIFERENTES MEIOS .....	67
TABELA 7 - DADOS OBTIDOS NO ESTUDO DE ADSORÇÃO DAS GOMAS DE ACÁCIA EM MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA.....	74
TABELA 8 – TAXA DE LIBERAÇÃO DA GOMA DE ACÁCIA ( $\Delta A/\Delta t$ ) NOS 30 MINUTOS INICIAIS DE IMERSÃO PARA TODOS OS COMPÓSITOS .....	77
TABELA 9 – QUANTIDADE DE GOMA DE ACÁCIA LIBERADA DOS COMPÓSITOS APÓS 24 h DE IMERSÃO.....	78

## LISTA DE ABREVIATURAS

AG	- arabinogalactana
AGP	- arabinogalactana-proteína
Ara	- arabinose
CAC	- concentração de adsorção crítica
CB	- celulose bacteriana
CMC	- concentração micelar crítica
$\delta$	- deslocamento químico
dn/dc	- relação do índice de refração em relação à concentração
<i>f</i>	- furanosídico
$\gamma$	- tensão superficial
$\Gamma$	- excesso superficial
Gal	- galactose
GAC	- goma de acácia comercial
GAC5L	- compósito celulose bacteriana/goma de acácia comercial
GAC5LHL	- compósito celulose bacteriana/goma de acácia comercial após lavagem
GC-MS	- cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa
GlcA	- ácido glucurônico
GNA	- fração da goma de acácia negra extraída com álcali
GNF	- fração da goma de acácia negra extraída com água
GNQ	- fração da goma de acácia negra extraída com água quente
GP	- glicoproteína
I	- intensidade de espalhamento
LALS	- espalhamento de luz a baixo ângulo

MEV	- microscopia eletrônica de varredura
m/m	- relação entre massa e massa
$\bar{M}_n$	- massa molar numérica média
$\bar{M}_w$	- massa molar ponderal média
$\bar{M}_w/\bar{M}_n$	- grau de polidispersão
$N_a$	- número de Avogadro
$\rho$	- piranosídico
PEO	- poli(óxido de etileno)
ppm	- partes por milhão
$q$	- vetor de espalhamento
q.s.p	- quantidade suficiente para
RALS	- espalhamento de luz a ângulo reto
Rg	- raio de giro
Rha	- ramnose
RI	- índice de refração
RMN	- ressonância magnética nuclear
SANS	- espalhamento de nêutrons a baixo ângulo
SAXS	- espalhamento de raios-X a baixo ângulo
SEC	- cromatografia de exclusão por tamanho
$\theta$	- ângulo de espalhamento
TFA	- ácido trifluoracético
UV-Vis	- região espectroscópica no ultravioleta e visível
v/v	- relação entre volume e volume

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	19
1.1 MOTIVAÇÃO .....	19
1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
1.2.1 Goma de Acácia .....	21
1.2.2 Celulose Bacteriana.....	26
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	31
2.1 OBJETIVO GERAL .....	31
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	32
3.1 MATERIAIS .....	32
3.1.1 Goma de acácia comercial .....	32
3.1.2 Goma de acácia negra .....	32
3.1.3 Celulose bacteriana .....	33
3.2 MÉTODOS.....	34
3.2.1 Extração dos polissacarídeos da goma de acácia negra.....	34
3.2.2 Análise química, físico-química e estrutural dos polissacarídeos da goma de acácia comercial e da goma de acácia negra.....	36
3.2.2.1 Determinação da composição monossacarídica e dosagem do teor proteico .....	36
3.2.2.2 Análise estrutural por Ressonância Magnética Nuclear (RMN <sup>13</sup> C).....	37
3.2.2.3 Determinação da homogeneidade e massa molar ponderal média .....	38
3.2.3 Análise das propriedades em solução da goma de acácia comercial e da goma de acácia negra .....	38
3.2.3.1 Preparo das soluções .....	38

3.2.3.2 Tensiometria .....	39
3.2.3.3 Fluorimetria .....	40
3.2.3.4 Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS).....	41
3.2.4 Análise da capacidade emulsificante da goma de acácia comercial e da goma de acácia negra .....	44
3.2.4.1 Preparo das emulsões .....	44
3.2.4.2 Análise da estabilidade das emulsões .....	45
3.2.5 Análise do compósito goma de acácia/celulose bacteriana.....	46
3.2.5.1 Preparo do compósito goma de acácia comercial/celulose bacteriana.....	46
3.2.5.2 Análise do compósito goma de acácia comercial/celulose bacteriana por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	47
3.2.5.3 Estudo da interação entre goma de acácia e celulose bacteriana .....	47
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>49</b>
4.1 ANÁLISE QUÍMICA, FÍSICO-QUÍMICA E ESTRUTURAL DOS POLISSACARÍDEOS DA GOMA DE ACÁCIA COMERCIAL E DA GOMA DE ACÁCIA NEGRA.....	49
4.1.1 Composição monossacarídica e teor proteico .....	49
4.1.2 Determinação da homogeneidade e massa molar ponderal média.....	50
4.1.3 Análise estrutural por Ressonância Magnética Nuclear (RMN <sup>13</sup> C).....	51
4.2 ANÁLISE DAS PROPRIEDADES EM SOLUÇÃO DA GOMA DE ACÁCIA COMERCIAL E DA GOMA DE ACÁCIA NEGRA .....	53
4.2.1 Tensiometria .....	53
4.2.2 Fluorimetria.....	58
4.2.3 Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS) .....	60
4.3 ANÁLISE DA CAPACIDADE EMULSIFICANTE DA GOMA DE ACÁCIA COMERCIAL E DA GOMA DE ACÁCIA NEGRA .....	67
4.4 ANÁLISE DO COMPÓSITO GOMA DE ACÁCIA COMERCIAL/CELULOSE BACTERIANA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) .....	71

4.5 ESTUDO DA INTERAÇÃO ENTRE AS GOMAS DE ACÁCIA E CELULOSE BACTERIANA.....	72
4.6 DISCUSSÃO GERAL.....	78
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	81
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	82

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 MOTIVAÇÃO

Polissacarídeos obtidos a partir de diversas fontes naturais (plantas, microorganismos, algas) têm sido amplamente utilizados na indústria, principalmente nas áreas alimentícia, farmacêutica e cosmética, além de movimentarem inúmeros trabalhos de pesquisa, envolvendo desde processos de extração, identificação e caracterização até o estudo de propriedades, atividades biológicas e aplicações (YANG e ZHANG, 2009; WANG *et al.*, 2006; GÉRENTE *et al.*, 2000).

Um exemplo são as gomas exsudadas de plantas, como a goma de acácia, mais conhecida como goma arábica, cujas primeiras aplicações datam cerca de 4000 anos atrás, a qual era usada pelos egípcios no processo de mumificação (GLICKSMAN e SAND, 1973; WHISTLER, 1993). Também há relatos da sua utilização como espessante em pigmentos e em aplicações sobre escoriações superficiais, úlceras, queimaduras, entre outros para aliviar a irritação (CAIUS e RADHA, 1942, citado por SANCHEZ *et al.*, 2002).

Posteriormente, a goma de acácia passou a ser amplamente utilizada na indústria alimentícia, principalmente na área de confeitaria, sendo incorporada em inúmeros produtos. Um exemplo clássico é na produção de balas e gomas de mascar, prevenindo a cristalização da sacarose, como encapsulante de aromas e como agente de revestimento e estabilizante de pigmentos (IMESON, 1992, citado por VERBEKEN, DIERCKX e DEWETTINCK, 2003). Também é utilizada em caramelos como agente emulsificante para manter uma distribuição uniforme da gordura por todo o produto e evitar o seu acúmulo na superfície (WHISTLER, 1993). Na área de bebidas a goma de acácia é amplamente utilizada como estabilizante e emulsificante de óleos flavorizantes na fabricação de refrigerantes devido à sua estabilidade em condições ácidas e alta solubilidade (WHISTLER, 1993; VERBEKEN, DIERCKX e DEWETTINCK, 2003).

Na indústria farmacêutica também possui inúmeras aplicações atuando principalmente como emulsificante, agente suspensor e agente demulcente para

disfarçar sabores desagradáveis de medicamentos (WHISTLER, 1993; BUFFO, REINECCIUS e OEHLERT, 2001; VERBEKEN, DIERCKX e DEWETTINCK, 2003). Na área cosmética é utilizada como estabilizante em loções e cremes, melhorando a sua textura e facilitando o espalhamento sobre a pele. Em outras áreas pode-se citar o seu uso como emulsificante para tintas e pigmentos em geral (WHISTLER, 1993).

Devido à sua grande utilização na indústria, há também uma grande demanda de goma de acácia como matéria-prima. Segundo dados da Secretaria de Comércio Exterior do Brasil (SECEX), a taxa de importação de goma arábica no país tem aumentado, passando de cerca de 780 toneladas no ano 2000 para aproximadamente 1.360 toneladas no ano de 2011, correspondendo a um custo de aproximadamente US\$ 5,8 milhões (ALICEWEB).

A quantidade total de goma de acácia exportada no mundo, em 2008, foi estimada em 60.000 toneladas. Atualmente, estima-se uma capacidade de produção anual em torno de 30.000 a 40.000 toneladas, sendo os países africanos Sudão e Nigéria os maiores produtores e exportadores da goma arábica, obtidas principalmente a partir das espécies *Acacia senegal* e *Acacia seyal* (GUM ARABIC, 2012).

No Brasil, é cultivada outra espécie do gênero *Acacia*, a espécie *Acacia mearnsii* De Wild, conhecida como acácia-negra. Ela é plantada principalmente no estado do Rio Grande do Sul, para fins comerciais, visando à produção de tanino a partir da casca, e celulose, aglomerados e energia na forma de carvão vegetal a partir da madeira (HIGA e DEDECEK, 1999; CALDEIRA *et al.*, 2002 e 2004). Além disso, pode-se também obter a goma que é exsudada do tronco e dos galhos da árvore de acácia-negra durante todo o seu período de crescimento, porém, esta não é aproveitada e explorada comercialmente (SANTOS *et al.*, 2001).

Outro biomaterial de interesse é a celulose bacteriana, que tem a mesma estrutura química e arranjos cristalinos semelhantes aos da celulose vegetal, contudo livre de outros biopolímeros como contaminantes. Dentre suas aplicações, uma das mais desenvolvidas é como substituto temporário da pele, também chamados de biocurativos, utilizados em ferimentos de difícil cicatrização e queimaduras. A celulose bacteriana apresenta propriedades muito interessantes, como alta capacidade de retenção de água, propriedades mecânicas diferenciadas e alta pureza, caracterizando-se como um material bastante versátil para diversas aplicações (CZAJA *et al.*, 2006; CAI e KIM, 2010).

Considerando as diversas características e aplicações descritas na literatura tanto para a goma de acácia quanto para a celulose bacteriana e considerando que os filmes de celulose são excelentes suportes para deposição de polissacarídeos e suas blendas, no presente trabalho buscou-se prospectar o desenvolvimento de um novo biomaterial compósito preparado a partir de goma de acácia e celulose bacteriana que, supostamente, poderá contemplar aplicações como membrana curativa, por exemplo.

Espera-se que os resultados obtidos contribuam para a agregação de valor tecnológico e comercial à goma de acácia obtida de plantações brasileiras, contribuindo com os diversos esforços atuais de fomento à cadeia produtiva da acácia-negra no Brasil.

## 1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.2.1 Goma de Acácia

A goma de acácia é um polissacarídeo obtido dos exsudatos de árvores do gênero *Acácia*. A goma é exsudada dos troncos e galhos como resposta de um mecanismo de defesa do vegetal, quando este se encontra em condições de estresse causado por lesões físicas, ataque microbiano, períodos de estiagem e outros fatores ambientais (GLICKSMAN e SAND, 1973; PHILLIPS e WILLIAMS, 2000).

A goma de acácia é encontrada na natureza na forma neutra ou levemente ácida (pH ~ 4,5-5,0), sendo um polissacarídeo altamente heterogêneo e de estrutura complexa (MEER, 1980; WHISTLER, 1993; SANCHEZ *et al.*, 2002). É constituída por polissacarídeos ramificados de alta massa molar, contendo cálcio, magnésio e potássio como cátions majoritários e uma pequena fração proteica composta principalmente pelos aminoácidos hidroxiprolina, prolina e serina (AKIYAMA, EDA e KATO, 1984, citado por YADAV *et al.*, 2007; WHISTLER, 1993; VERBEKEN, DIERCKX e DEWETTINCK, 2003).

De um modo geral, a goma de acácia pertence ao grupo das arabinogalactanas, contendo unidades D-galactose, L-arabinose, L-ramnose e dois ácidos urônicos (ácido D-glucurônico e ácido 4-O-metil-glucurônico) responsáveis pelo caráter polianiônico da goma. Sua cadeia principal é formada por unidades de  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-galactopiranosose e cadeias laterais (1 $\rightarrow$ 6) ligadas com unidades de galactopiranosose terminadas em ácido  $\beta$ -D-glucopiranosil urônico e ácido 4-O-metil-glucopiranosil urônico (ANDERSON e STODDART, 1966, citado por VERBEKEN, DIERCKX e DEWETTINCK, 2003; GLICKSMAN e SAND, 1973; STREET e ANDERSON, 1983; ASPINALL, 1983).

Um modelo proposto para a estrutura da fração polissacarídica da goma de *Acacia senegal* está representado na FIGURA 1.

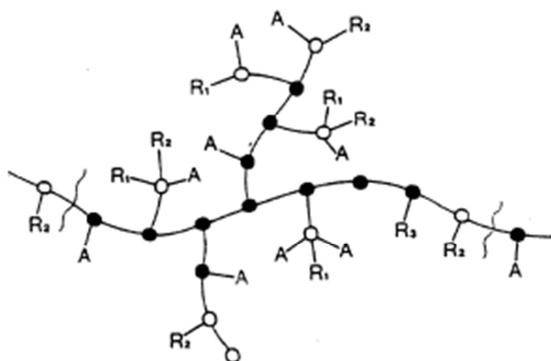


FIGURA 1 - MODELO ESTRUTURAL PROPOSTO PARA A FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DA GOMA DE ACÁCIA: ● Gal $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-LIGADA; ○ Gal $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-LIGADA; A = Ara; R<sub>1</sub> = Rha - GlcA; R<sub>2</sub> = Gal - 3Ara; R<sub>3</sub> = Gal - 3Ara - 3Ara  
 FONTE: PHILLIPS e WILLIAMS (2000)

Randall, Phillips e Williams (1989) através do fracionamento da goma de *A. senegal* por cromatografia de afinidade hidrofóbica conseguiram isolar três frações majoritárias contendo diferentes teores proteicos e massas molares distintas. A maior delas, que representa 88,4% da massa total da goma, é constituída por uma arabinogalactana (AG) com  $\bar{M}_w = 3,8 \times 10^5 \text{ g.mol}^{-1}$  e um baixo teor proteico (0,35%). A segunda fração é composta por um complexo arabinogalactana-proteína (AGP), corresponde a 10,4% da massa total, com massa molar ponderal média ( $\bar{M}_w$ ) igual a  $1,45 \times 10^6 \text{ g.mol}^{-1}$  e contém um teor proteico de 11,8%. A fração minoritária, 1,2% do total da goma, é formada por glicoproteínas (GP) com  $\bar{M}_w = 2,5 \times 10^5 \text{ g.mol}^{-1}$  e o maior teor proteico (47,3%).

Dois modelos têm sido propostos na literatura para descrever a estrutura da segunda fração (AGP) de fontes vegetais. O primeiro deles, proposto por Fincher, Stone e Clarke (1983) consiste em blocos formados por carboidratos ligados a uma cadeia polipeptídica comum numa estrutura esférica chamada de “flor de acácia”, do inglês *wattle blossom* (FIGURA 2). O segundo modelo, proposto por Qi, Fong e Lamport (1991), sugere uma estrutura mais estendida do tipo bastão chamada de *twisted hairy rope*. Outros estudos sobre os complexos AGPs foram feitos com o passar dos anos, sugerindo estruturas mais globulares e concordando com o primeiro modelo *wattle blossom* sugerido por Fincher, Stone e Clarke (1983) (BALDWIN, McCANN e ROBERTS, 1993, citado por ISLAM *et al.*, 1997; IDRIS, WILLIAMS e PHILLIPS, 1998; PICTON, BATAILLE e MULLER, 2000).

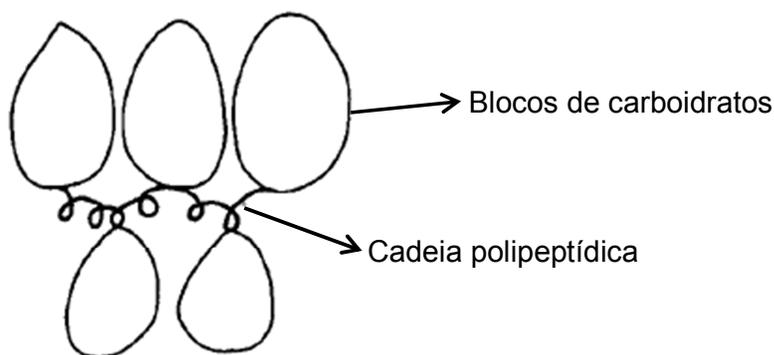


FIGURA 2 - REPRESENTAÇÃO DO MODELO *WATTLE BLOSSOM* PROPOSTO PARA A ESTRUTURA DO COMPLEXO AGP DA GOMA DE *A. senegal*  
 FONTE: ISLAM *et al.* (1997)

A composição química elementar, bem como a estrutura da goma de acácia apresentam variações de acordo com a espécie de origem, idade da árvore, tempo de exsudação, tempo de armazenamento, estação do ano e condições climáticas, diferenciando-as em algumas de suas características (ANDERSON *et al.*, 1968, citado por EL-KHEIR, YAGOUB e BAKER, 2008; OSMAN *et al.*, 1993; ISLAM *et al.*, 1997; IDRIS *et al.*, 1998; MOTHÉ e RAO, 1999).

Em geral, as propriedades da goma de acácia mais citadas são a sua biocompatibilidade, a alta solubilidade em água, até mesmo em concentrações acima de 50% (ISLAM *et al.*, 1997; WHISTLER, 1993), a baixa viscosidade de suas soluções quando comparada à outras gomas (PHILLIPS e WILLIAMS, 2000), seu

poder tensoativo, apresentando propriedades emulsificantes e estabilizantes (YADAV *et al.*, 2007; WHISTLER, 1993) e características como inodora, insípida e incolor (MEER, 1980).

Estudos recentes em diversas áreas têm demonstrado muitas aplicações interessantes para a goma de acácia. Zhang *et al.* (2007) utilizaram goma de acácia como dispersante para nanopartículas de  $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$  empregadas em processos de desulfurização e observaram uma boa dispersão e um aumento na capacidade de desulfurização após a modificação das nanopartículas. Banerjee e Chen (2007) desenvolveram um adsorvente para íons metálicos baseado em uma superfície com nanopartículas magnéticas ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) modificada com goma de acácia e comprovaram o aumento na capacidade de adsorção de íons contaminantes de metais pesados por estas partículas modificadas. Gils, Ray e Sahoo (2010) desenvolveram uma rede semi-interpenetrante composta de goma de acácia e o copolímero poli(2-hidroxiethyl metacrilato-co-ácido acrílico) para atuar como um nanoreator e realizar a redução *in situ* de nitrato de prata formando nanopartículas de prata para aplicações como antibactericida.

Andrews *et al.* (2010) estudaram a coacervação de goma de acácia e quitosana em diferentes pH's e observaram uma microestrutura porosa homogeneamente distribuída, demonstrando um material de possível aplicação para microencapsulação, por exemplo. Fang *et al.* (2010) estudaram a natureza das interações de sistemas goma de acácia/ácidos graxos como uma maneira para reduzir a absorção destes últimos pelo organismo apresentando um efeito benéfico para a saúde. Seus resultados mostraram-se eficazes, com a interação, a goma reduz a digestão lipídica, transporta os ácidos graxos pelo trato digestivo aumentando assim, a sua excreção. Liu, Low e Nickerson (2010) estudaram a eficiência e estabilidade da encapsulação de óleo de linhaça em coacervatos de goma de acácia e gelatina. Os autores obtiveram uma eficiência de 84% na encapsulação do óleo e os coacervatos mantiveram a estabilidade com relação à oxidação durante 25 dias de estocagem.

Borodina *et al.* (2011) prepararam um filme biocompatível de alginato de cálcio incorporado com microesferas de goma de acácia carregadas com vitamina E, com possibilidade de aplicação em liberação controlada de drogas para tratamentos dérmicos. Os estudos de liberação demonstraram que o filme contendo as microesferas de goma de acácia manteve o processo de liberação da vitamina E por

mais tempo, chegando a 96 horas, enquanto que o filme contendo a vitamina E incorporada de forma livre foi liberada em apenas 5 horas. Qv, Zeng e Jiang (2011) encapsularam o carotenóide luteína em coacervatos de goma de acácia/gelatina e obtiveram uma melhora na sua estabilidade em quatro aspectos, com relação ao aumento de temperatura, tempo de retenção e impactos causados pela luz e umidade.

Apesar da goma de acácia ser conhecida e estudada há muito tempo, sua complexidade estrutural, a diversidade de aplicações e a grande variedade de espécies do gênero acácia, mais de 900 espécies espalhadas pelas áreas tropicais e subtropicais ao redor do mundo, muitas delas ainda não foram exploradas e, portanto, não possuem importância comercial, abrindo espaço para novas pesquisas e investigações (WHISTLER, 1993; ISLAM *et al.*, 1997; BOLAND *et al.*, 2006).

A *Acacia mearnsii* (acácia-negra), apresentada na FIGURA 3, é uma espécie originária do sudeste da Austrália (BOLAND *et al.*, 2006) e foi introduzida no Brasil, primeiramente no município de Estrela - RS, onde se iniciou os plantios comerciais e então difundiu-se por vários municípios, tornando-se uma importante atividade econômica para o estado do Rio Grande do Sul (SCHNEIDER e TONINI, 2003). Estima-se que a área plantada de acácia-negra no Brasil está entre 140-200 mil hectares, sendo que, aproximadamente 60% das plantações pertencem aos pequenos proprietários (TONIETTO e STEIN, 1997, citado por GRIGOLETTI *et al.*, 2003).

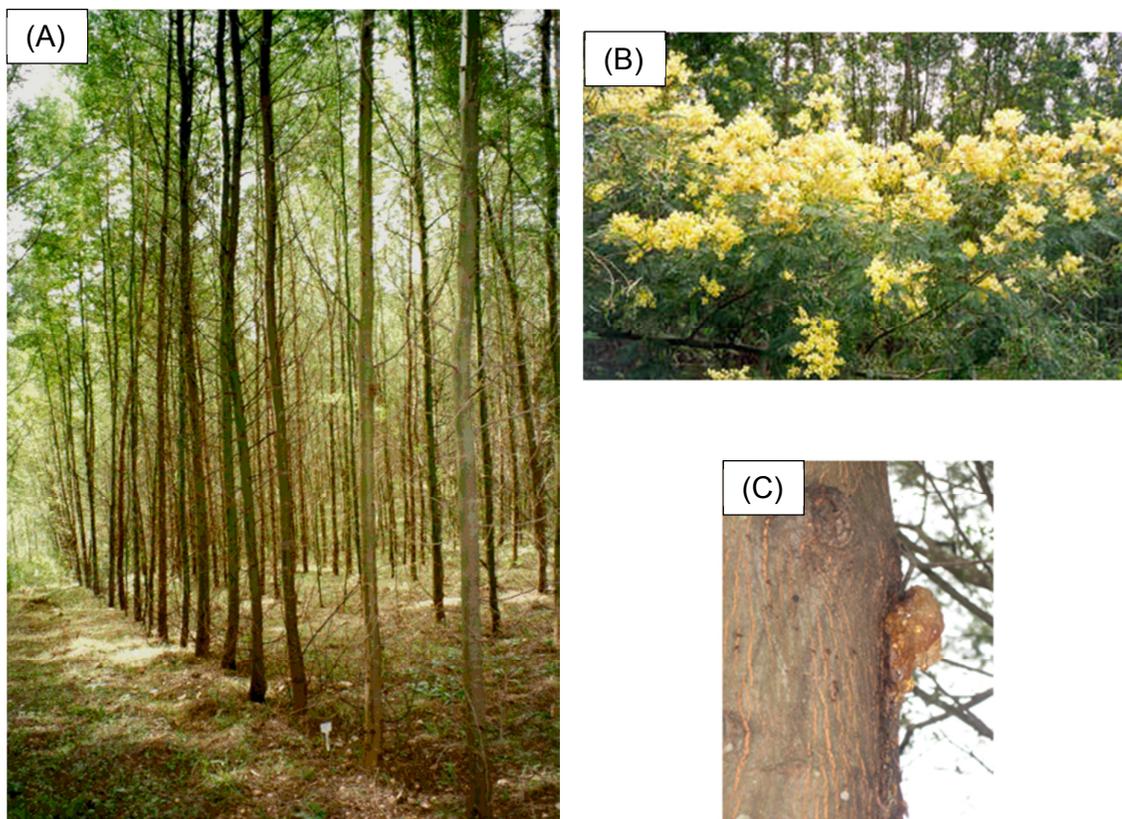


FIGURA 3 - CULTIVO DE *Acacia mearnsii*: (A) PLANTIO COMERCIAL PARA PRODUÇÃO DE TANINO E MADEIRA; (B) ASPECTO DOS GALHOS; (C) EXSUDATO GOMOSO  
FONTE: GRIGOLETTI *et al.* (2003)

Considerando uma área plantada de 170 mil hectares e que a densidade de plantio é de 2500 árvores por hectare (GRIGOLETTI *et al.*, 2003), estima-se que existam em torno de 425 milhões de árvores de acácia negra plantadas no Brasil. Segundo Whistler (1993), uma árvore de acácia produz, em média, de 20 – 2000 g de goma de acácia por ano, variando conforme a espécie e condições climáticas, sendo, portanto, um indicativo promissor da capacidade de produção de goma de acácia negra no Brasil.

### 1.2.2 Celulose Bacteriana

A celulose bacteriana (CB) produzida pela espécie *Acetobacter xylinum* é um homopolissacarídeo linear formado por monômeros de glucose unidos por ligações

$\beta(1\rightarrow4)$  (ROSS, MAYER e BENZIMAN, 1991). A análise conformacional da celulose indicou que a celobiose, formada por dois monômeros de glucose adjacentes, é a unidade estrutural mínima da celulose (FENGEL e WEGENER, 1989, citado por RAMOS, 2003). As cadeias de celulose unem-se formando microfibrilas através de uma rede de ligações de hidrogênio intra e inter-cadeias, formando uma estrutura bastante rígida e estável, representada na FIGURA 4 (ROSS, MAYER e BENZIMAN, 1991; IGUCHI, YAMANAKA, BUDHIONO, 2000; CZAJA *et al.*, 2006).

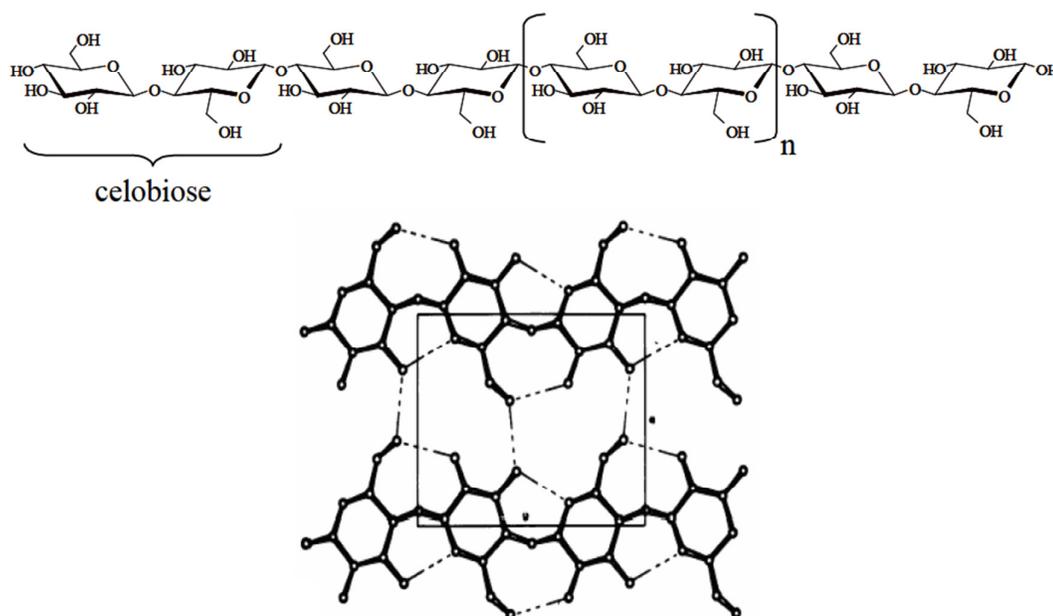


FIGURA 4 - REPRESENTAÇÃO DA ESTRUTURA DA CADEIA DE CELULOSE FORMADA POR UNIDADES CONSECUTIVAS DE CELOBIOSE ENFATIZANDO AS LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO INTRA E INTERCADEIAS  
 FONTE: ROSS, MAYER E BENZIMAN (1991), PITARELO (2007)

Este arranjo de ligações torna a celulose uma estrutura compacta e muito estável, possui caráter hidrofílico na sua superfície, mas o seu interior é hidrofóbico, tornando-a insolúvel em água. Suas fibras são constituídas por regiões ordenadas, chamadas cristalitos que se alternam com regiões amorfas, completamente desordenadas, nas quais as moléculas encontram-se distribuídas ao acaso (KLEMM *et al.*, 2005; SETYAWATI, 2007).

A estrutura da CB é similar à da celulose vegetal, mas diferem em relação ao grau de polimerização (número de monômeros de glucose), cujos valores para a celulose de madeira encontram-se na faixa de 300 a 1.700, já para a fibra de algodão e outras plantas variam de 800 a 10.000, similares aos valores encontrados

para a celulose bacteriana. O grau de cristalinidade também varia, apresentando maiores valores para a CB, ficando em torno de 60 a 80%. A CB também é caracterizada por sua alta pureza e por seu alto teor de água retida (~90%) (KLEMM *et al.*, 2005; CZAJA *et al.*, 2006).

A celulose bacteriana tem sido objeto de muitos estudos, pois apresenta características como alta resistência mecânica, alta capacidade de retenção de água, alta porosidade; alta cristalinidade, moldabilidade *in situ* e biocompatibilidade, as quais a tornam propícia para ser utilizada em uma grande variedade de aplicações (VANDAMME *et al.*, 1998; CZAJA *et al.*, 2007).

Devido às suas propriedades mecânicas e por apresentar uma alta velocidade de propagação do som, a CB tem sido usada na fabricação de diafragmas acústicos (NISHI, *et al.*, 1990, citado por IGUCHI, YAMANAKA e BUDHIONO, 2000) e em membranas de separação (SHIBAZAKI, *et al.*, 1993, citado por IGUCHI, YAMANAKA e BUDHIONO, 2000). Também tem sido usada como substrato para a engenharia de tecidos por possuir uma alta resistência à tensão na forma úmida, capacidade de moldabilidade *in situ* e biocompatibilidade (SVENSSON, *et al.*, 2005).

Uma das aplicações mais significativas é como membrana biocurativa, também chamada de substitutos temporários da pele, utilizadas no tratamento de queimaduras, úlceras e feridas de difícil cicatrização, apresentando inúmeras características favoráveis, como capacidade de manter um ambiente úmido sobre o ferimento, permitir trocas gasosas devido à sua estrutura nanoporosa, isolar as terminações nervosas expostas pelo ferimento, entre várias outras ressaltadas na revisão publicada por Czaja, *et al.* (2007). Algumas aplicações médicas da celulose bacteriana estão apresentadas na FIGURA 5.

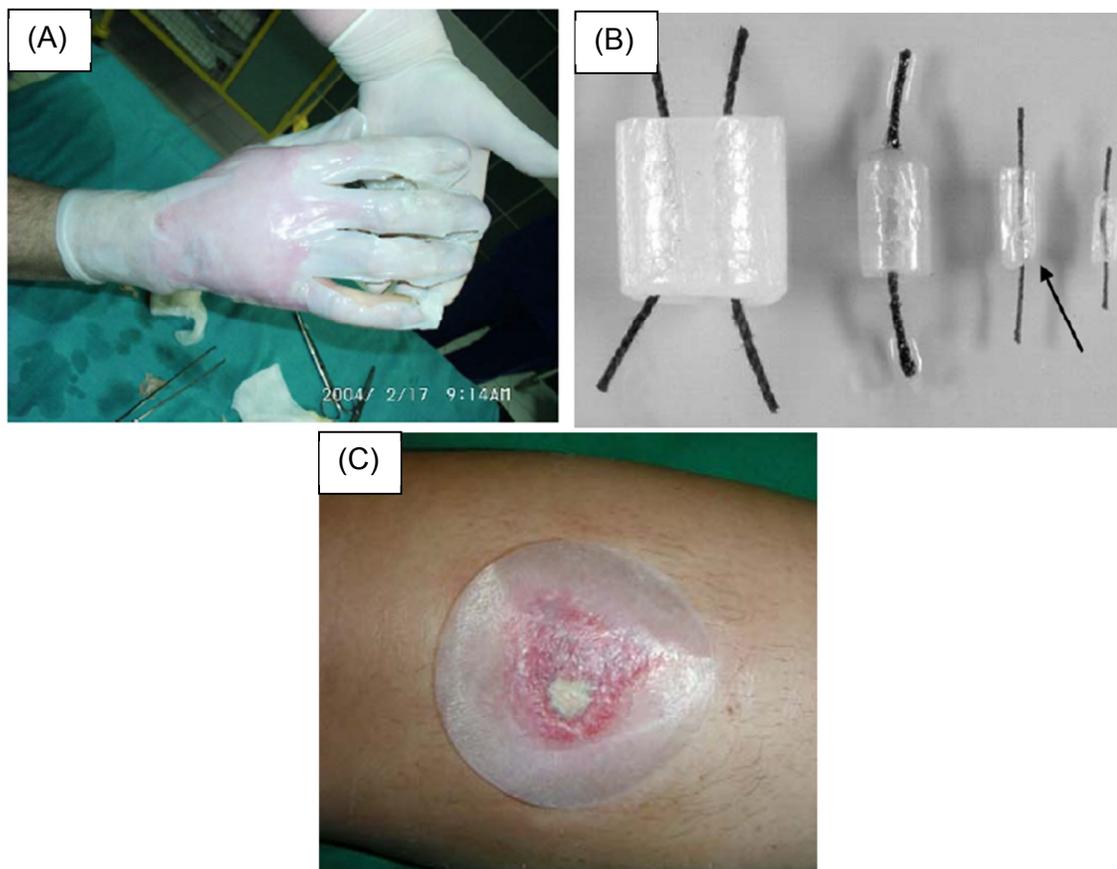


FIGURA 5- EXEMPLOS DE APLICAÇÕES MÉDICAS DA CELULOSE BACTERIANA: (A) BIOCURATIVO APLICADO EM QUEIMADURA; (B) TUBOS PARA IMPLANTES EM VASOS SANGUÍNEOS; BIOCURATIVO COMERCIAL (MEMBRACEL PRODUTOS BIOTECNOLÓGICOS LTDA.) APLICADO EM FERIMENTO  
 FONTES: (A) CZAJA, *et al.* (2006), (B) KLEMM, *et al.* (2001), (C) MEMBRACEL (2012)

Para melhor se adaptar às mais diversas aplicações, várias pesquisas têm sido feitas no âmbito de preparar novos compósitos, incorporando aditivos na estrutura da CB combinando, assim, suas propriedades e obtendo novos produtos com propriedades diferenciadas (HEßLER e KLEMM, 2009; CHENG, CATCHMARK e DEMIRCI, 2009).

Santa Maria *et al.* (2009) impregnaram nanopartículas de prata em membrana de celulose bacteriana usada como biocurativo com a finalidade de atuar como bactericida e evitar infecções. Patel e Suresh (2008) utilizaram celulose bacteriana com paládio metálico imobilizado para a dehalogenação de poluentes recalcitrantes como os clorofenóis. Saibuatong e Phisalaphong (2010) desenvolveram um biocurativo nanoestruturado composto por celulose bacteriana e aloe vera, que possui propriedades benéficas para a cura de feridas.

Bäckdahl *et al.* (2006) investigaram as propriedades mecânicas da celulose bacteriana e suas interações com células musculares lisas *in vitro* visando aplicações na engenharia de tecidos de vasos sanguíneos e concluíram que sua utilização nesta área é bastante promissora por apresentar uma resposta à tensão semelhante à artéria carótida, podendo ser usado como suporte para tal.

Cheng, Catchmark e Demirci (2009) avaliaram os efeitos de diferentes aditivos na produção de CB utilizando as técnicas de difração de raios-X e microscopia eletrônica de varredura (MEV) para avaliar o grau de cristalinidade e estrutura dos compostos. Observaram que com a adição de carboximetilcelulose o entrelaçamento das fibras foi mantido, porém com uma estrutura mais flexível, a cristalinidade teve um decréscimo significativo com relação à CB sem aditivos, implicando em uma maior capacidade de retenção de água.

Cai e Kim (2010) desenvolveram um compósito de celulose bacteriana através da imersão da membrana de CB úmida em solução de poli(etilenoglicol) seguido de secagem por liofilização. Por imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi verificado que as moléculas de PEG aderiram e penetraram na rede de fibras da celulose, causando alterações em algumas de suas propriedades como estabilidade térmica, resistência mecânica e biocompatibilidade para crescimento celular, mostrando-se como possível candidato para aplicações biomédicas como membranas biocurativas e como substrato para a engenharia de tecidos. Seguindo essa mesma metodologia de preparo, também foram desenvolvidos compósitos de CB com colágeno (CAI e YANG, 2011) e com quitosana (KIM, *et al.*, 2011), ambos apresentando-se também como bons candidatos para aplicações biomédicas.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar um estudo físico-químico da goma de acácia negra (*A. mearnsii* De Wild) obtida de plantações brasileiras, comparativamente com a goma de acácia comercial e prospectar o desenvolvimento de um novo biomaterial a partir da incorporação da goma de acácia em membranas de celulose bacteriana.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair e caracterizar as frações polissacarídicas da goma de acácia negra (*A. mearnsii* De Wild) e comparar os resultados com os de uma goma de acácia comercial;
- Avaliar as propriedades em solução da goma de acácia negra e da goma de acácia comercial pelas técnicas de tensiometria, fluorimetria e espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS);
- Avaliar a capacidade de emulsificação da goma de acácia negra comparativamente com a goma de acácia comercial;
- Preparar compósitos a partir da goma de acácia comercial e celulose bacteriana e avaliar algumas de suas propriedades físico-químicas.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAIS

##### 3.1.1 Goma de acácia comercial

A goma de acácia comercial (GAC) utilizada no projeto foi obtida da empresa Sigma-Aldrich (G9752) a qual é descrita no rótulo como “goma arábica proveniente de árvore de acácia”. Antes do seu uso, a goma de acácia comercial foi dialisada contra água Milli-Q e liofilizada.



FIGURA 6 - GOMA DE ACÁCIA COMERCIAL

##### 3.1.2 Goma de acácia negra

A goma bruta exsudada de árvores de *Acacia mearnsii* De Wild foi coletada em uma propriedade na cidade de São Leopoldo – RS, localizada na região do Vale do Rio dos Sinos e estocada em temperaturas em torno de  $-4^{\circ}\text{C}$  até ser submetida ao processo de extração.



FIGURA 7 - GOMA BRUTA DE *Acacia mearnsii* De Wild

### 3.1.3 Celulose bacteriana

A celulose bacteriana hidratada foi fornecida pela empresa Membracel Produtos Tecnológicos Ltda. (MEMBRACEL, 2012), sediada em Almirante Tamandaré, PR. As amostras apresentam-se como membranas translúcidas com aproximadamente 1 cm de espessura e foram recebidas com seu conteúdo de umidade original resultado do processo de produção e esterilização, armazenadas imersas em água destilada à temperatura de  $\sim 4$  °C.



FIGURA 8 - MEMBRANA DE CELULOSE BACTERIANA HIDRATADA

## 3.2 MÉTODOS

### 3.2.1 Extração dos polissacarídeos da goma de acácia negra

O processo de extração dos polissacarídeos foi adaptado do método proposto por Simas *et al.* (2008).

Aproximadamente 15 g da goma de acácia bruta foi solubilizada em 1,5 L de água destilada à temperatura ambiente (22 °C), sob agitação *overnight*, resultando em uma dispersão contendo fragmentos insolúveis. Após filtração e centrifugação (7000 rpm / 20 °C / 15 min), o resíduo insolúvel obtido foi novamente submetido ao procedimento descrito acima. O extrato foi então retirado e ao material resultante adicionou-se 1 L de água e manteve-se sob agitação à temperatura de 60 °C *overnight*. Este procedimento foi realizado duas vezes consecutivas separando-se o extrato do resíduo por filtração e centrifugação, como descrito anteriormente. O resíduo resultante após extrações aquosas (a temperatura ambiente e a quente) foi submetido à uma extração alcalina com hidróxido de potássio (KOH) 1% (1 L) na presença de 200 ppm de boroidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>) à temperatura ambiente, *overnight*. Após este tratamento, todo o resíduo foi solubilizado. O extrato alcalino foi então neutralizado com ácido acético até pH ~5.

Todos os extratos obtidos (aquosos e alcalino) foram dialisados exaustivamente (*cut-off*: 12000-14000 Da) contra água Milli-Q, concentrados em evaporador rotatório sob pressão reduzida a 40 °C e liofilizados. Os extratos resultantes dos processos de extração aquosa a 22 °C, à temperatura de 60 °C e em condições alcalinas foram denominados de goma nativa fria (GNF), goma nativa quente (GNQ) e goma nativa alcalina (GNA), respectivamente, e apresentaram rendimentos de 27%, 7% e 26%, em relação à massa úmida da goma de acácia bruta. A FIGURA 9 apresenta o fluxograma do procedimento de extração descrito.

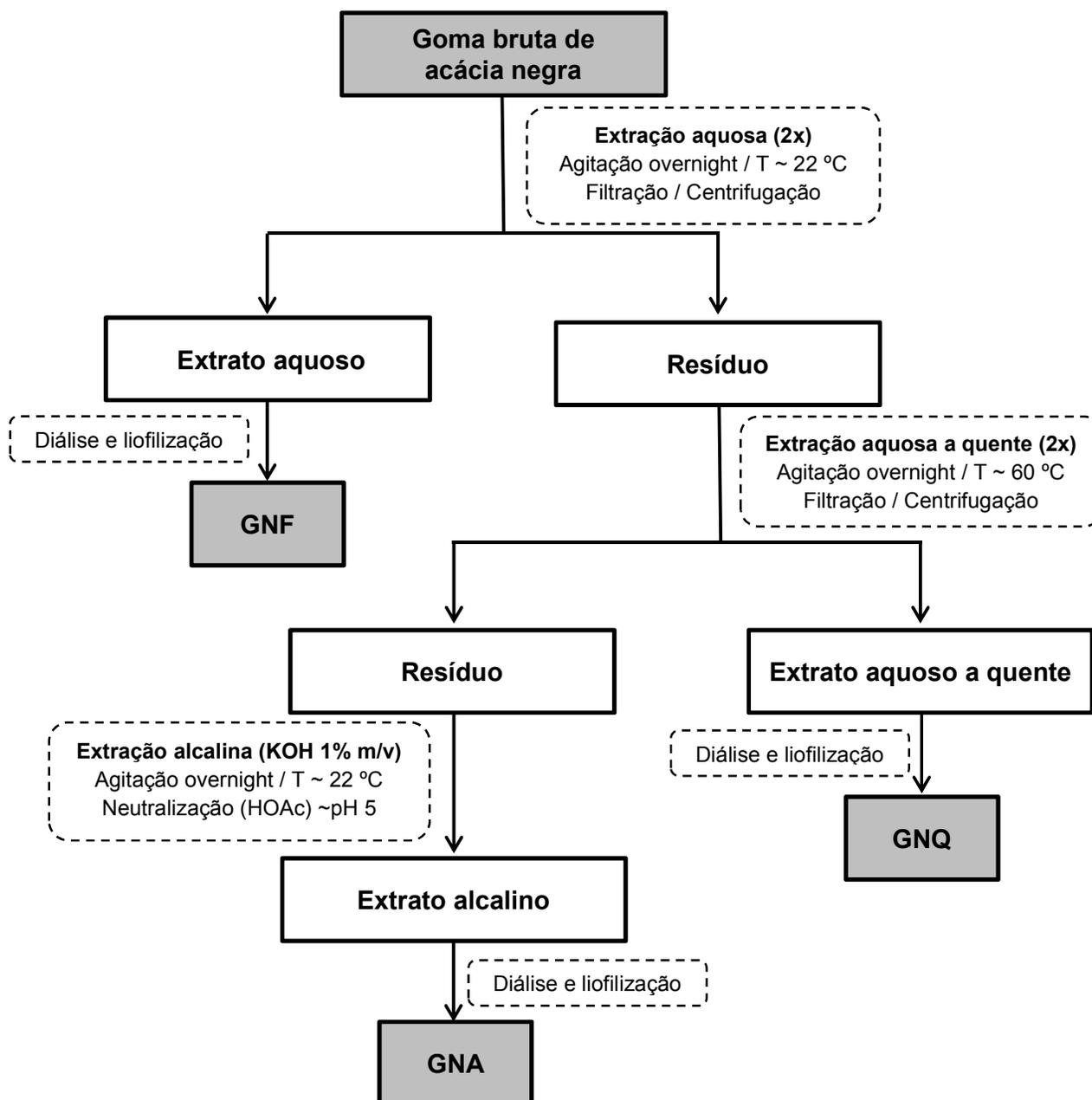


FIGURA 9- FLUXOGRAMA DO PROCEDIMENTO REALIZADO PARA EXTRAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS DA GOMA DE ACÁCIA NEGRA

### 3.2.2 Análise química, físico-química e estrutural dos polissacarídeos da goma de acácia comercial e da goma de acácia negra

As análises química e estrutural das gomas foram realizadas previamente através de uma parceria formada com o Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFPR – Grupo de Química de Carboidratos, com a colaboração da Dra. Fernanda Fogagnoli Simas Tosin e do Prof. Dr. Philip A. J. Gorin.

#### 3.2.2.1 Determinação da composição monossacarídica e dosagem do teor proteico

Para a análise da composição monossacarídica, aproximadamente 2 mg de cada amostra (GAC, GNF, GNQ e GNA) foram hidrolisadas com ácido trifluoroacético (TFA) 1 mol.L<sup>-1</sup> durante 8 horas, a 100 °C. Após a hidrólise o ácido foi removido por evaporação e o material resultante foi solubilizado em pequeno volume de água e submetido à redução com boroidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>) por 12 horas, a temperatura ambiente (WOLFROM e THOMPSON, 1963a). A solução foi então tratada com resina catiônica até pH 4,0 para remoção dos íons Na<sup>+</sup>, filtrada e seca em evaporador rotatório. Posteriormente, foi lavada exaustivamente com metanol e novamente seca. Os derivados alditóis obtidos foram acetilados com uma mistura de anidrido acético:piridina (1:1, v/v) (WOLFROM e THOMPSON, 1963b) por 12 horas, a temperatura ambiente. Após este período, o processo foi interrompido pela adição de gelo moído ao sistema. Os acetatos de alditóis obtidos foram extraídos com clorofórmio e a fase clorofórmica foi lavada sucessivas vezes com uma solução aquosa de sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>) a 5% (m/v), para a remoção da piridina residual. Adicionou-se sulfato de sódio anidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 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 °C sendo programada para aumentar 40 °C.min<sup>-1</sup> até atingir a temperatura constante de 220 °C, tendo hélio como gás de arraste.

A dosagem de ácido urônico foi realizada pelo método colorimétrico descrito por Filisetti Cozzi e Carpita (1991). Em 400  $\mu\text{L}$  de amostra foram adicionados 40  $\mu\text{L}$  de uma solução de ácido sulfâmico-sulfamato de potássio 4  $\text{mol.L}^{-1}$  (pH 1,6) e 2,4 mL de uma solução de tetraborato de sódio em ácido sulfúrico a 75  $\text{mmol.L}^{-1}$ . 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  $\mu\text{L}$  de *m*-hidroxibifenil (0,15% m/v em NaOH 0,5% m/v) e as leituras da absorbância em  $\lambda = 525 \text{ nm}$  foram feitas em um espectrofotômetro da marca Biospectro, modelo SP-220. A sensibilidade do método é de 0,97 a 38,8  $\mu\text{g}$  de ácido urônico. A curva padrão foi construída utilizando-se ácido glucurônico.

A dosagem de proteínas totais foi realizada pelo método descrito por Hartree (1972). Em 1 mL de amostra foram adicionados 0,9 mL do reagente A (solução de 2 g de tartarato duplo de sódio e potássio e 100 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dissolvido em 500 mL de NaOH 1  $\text{mol.L}^{-1}$  em água destilada q.s.p. 1L). A solução foi mantida em banho de água a 50°C por 10 minutos, sendo em seguida resfriada à temperatura ambiente. Adicionou-se 0,1 mL do reagente B (2 g de tartarato duplo de sódio e potássio e 1 g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dissolvidos em 90 mL de água destilada, sobre os quais se adicionam 10 mL de NaOH 1  $\text{mol.L}^{-1}$ ) 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 em banho de água a 50 °C por 10 minutos, sendo em seguida resfriada a temperatura ambiente. As leituras foram feitas em  $\lambda = 650 \text{ nm}$  em um espectrofotômetro da marca Biospectro, modelo SP-220 e utilizou-se albumina de soro bovino (SIGMA) como padrão. A sensibilidade do método é de 10-100  $\mu\text{g}$  de proteína.

### 3.2.2.2 Análise estrutural por Ressonância Magnética Nuclear (RMN -<sup>13</sup>C)

Os espectros de RMN <sup>13</sup>C das amostras GAC e GNF foram adquiridos em espectrômetro BRUKER 400 MHz, modelo DRX Avance, a temperatura de 50 °C. As amostras foram solubilizadas em D<sub>2</sub>O e os deslocamentos químicos foram expressos em  $\delta$  ppm, baseando-se no padrão interno de acetona ( $\delta$  30,2).

### 3.2.2.3 Determinação da homogeneidade e massa molar ponderal média

A análise da homogeneidade e a determinação da massa molar das amostras de goma de acácia foram realizadas por cromatografia de exclusão por tamanhos (SEC) em um equipamento da marca Viscotek. O sistema conta com tripla detecção: detector de índice de refração (RI Viscotek VE 3580) e um módulo de dupla detecção (Viscotek 270 Dual Detector), contendo os detectores de espalhamento de luz ( $\lambda = 632,8 \text{ nm}$ ) a baixo ângulo ( $7^\circ$ ) denominado LALLS (do inglês Low Angle Laser Light Scattering) e a ângulo reto ( $90^\circ$ ) denominado RALLS (do inglês Right Angle Laser Light Scattering) e o detector de viscosidade. Utilizou-se coluna Shodex OHPak SB-806 HQ, com número de pratos teóricos  $\geq 12.000$  e limite de exclusão  $2 \times 10^7 \text{ g.mol}^{-1}$ .

As soluções dos padrões e das amostras de GAC e GNF a uma concentração de  $2 \text{ mg.mL}^{-1}$  foram preparadas em solução de  $\text{NaNO}_3$   $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ , contendo 200 ppm de  $\text{NaN}_3$ . As amostras foram filtradas em membranas de éster de celulose (MILLIPORE), de porosidade  $0,22 \mu\text{m}$ .

Empregou-se um volume de injeção de  $100 \mu\text{L}$ , tendo como fase móvel  $\text{NaNO}_3$   $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ , com 200 ppm de  $\text{NaN}_3$ , a um fluxo de  $0,6 \text{ mL.min}^{-1}$ . O sistema foi calibrado com os padrões cromatográficos de PEO, poli(óxido de etileno) ( $\bar{M}_w = 22 \times 10^3 \text{ g.mol}^{-1}$ ) e dextrana ( $\bar{M}_w = 70 \times 10^3 \text{ g.mol}^{-1}$ ). O tratamento dos dados obtidos foi realizado com o software OmniSEC (VISCOTEK).

### 3.2.3 Análise das propriedades em solução da goma de acácia comercial e da goma de acácia negra

#### 3.2.3.1 Preparo das soluções

As soluções de goma de acácia comercial (GAC) e goma de acácia negra (GNF) foram solubilizadas em água Milli-Q sob suave agitação durante 1-2 horas e

em seguida hidratadas *overnight* a uma temperatura de aproximadamente 4 °C (RENARD, 2006).

Foram também preparadas soluções de goma de acácia variando-se a força iônica do meio e também com relação ao raio do cátion envolvido, para isso, as amostras de GAC e GNF foram solubilizadas em soluções de NaCl 0,1 mol.L<sup>-1</sup>, NaCl 0,2 mol.L<sup>-1</sup> e CaCl<sub>2</sub> 0,1 mol.L<sup>-1</sup>, seguindo o mesmo procedimento de preparo.

### 3.2.3.2 Tensiometria

As medidas de tensão superficial das soluções de GAC e GNF em água Milli-Q, em NaCl 0,1 mol.L<sup>-1</sup> e 0,2 mol.L<sup>-1</sup> e em CaCl<sub>2</sub> 0,1 mol.L<sup>-1</sup>, foram realizadas em um tensiômetro DataPhysics OCA 15+, com seringa de 500 µL Hamilton e agulhas de diâmetro externo 1,65 mm e 0,91 mm e comprimento de 38,1 mm.

O método adotado para as medidas de tensão superficial foi o da gota pendente. Este método consiste na formação de uma gota da solução a ser analisada na extremidade de uma agulha verticalmente posicionada. A gota se mantém suspensa em equilíbrio mecânico e o balanço entre as forças de superfície e a força da gravidade determina o perfil desta gota (ARASHIRO e DEMARQUETTE, 1999). Uma câmera captura a imagem da gota formada que é visualizada na tela do computador e o software SCA20 traça o perfil desta gota e, através do ajuste matemático baseado na equação de Laplace-Young (1), calcula os valores de tensão superficial:

$$\gamma = \left( \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \cdot \Delta P , \quad (1)$$

em que  $\gamma$  corresponde à tensão superficial, dada em mN.m<sup>-1</sup>, R1 e R2 aos raios de curvatura e  $\Delta P$  à diferença de pressão na interface.

Os resultados apresentados foram considerados como a média de dez medidas realizadas a uma temperatura de 20 °C.

### 3.2.3.3 Fluorimetria

A espectroscopia de fluorescência foi utilizada como ferramenta visando investigar a capacidade de agregação da goma de acácia (GAC e GNF) em diferentes condições do meio.

O uso de sondas fluorescentes no estudo de processos de agregação/micelização tem aumentado devido à sua alta sensibilidade e relativa simplicidade experimental (JONES e LEROUX, 1999; NEUMANN, SCHMITT e IMAZAKI, 2003; RODRIGUES *et al.*, 2008; FELIPPE *et al.*, 2011). Dentre as mais utilizadas destaca-se o pireno, uma molécula poliaromática apolar que possui baixa solubilidade em água ( $\sim 10^{-7}$  mol.L<sup>-1</sup>) e apresenta uma relevante característica de fluorescência: uma dependência linear, no seu espectro de emissão, entre as intensidades da primeira banda I<sub>1</sub> (373 nm) e da terceira banda I<sub>3</sub> (383 nm) com a constante dielétrica local (FIGURA 10) (KALYANASUNDARAM e THOMAS, 1977; AMIJI, 1995). Portanto, esta razão entre as duas bandas (razão I<sub>1</sub>/I<sub>3</sub>) é um ótimo indicador da polaridade do meio em que o pireno se encontra e pode servir como um sensor de hidrofobicidade, sendo que uma diminuição na razão I<sub>1</sub>/I<sub>3</sub> indica a migração do pireno para um ambiente mais apolar, sugerindo um processo de agregação do polissacarídeo similar ao processo de formação de micelas em soluções de surfactantes. Esta razão I<sub>1</sub>/I<sub>3</sub> apresenta valores típicos na faixa de 1,8 para solventes polares (água) e aproximadamente 0,6 para solventes orgânicos apolares (cicloexano) (DOWNLING e THOMAS, 1990; WINNIK e REGISMOND, 1996).

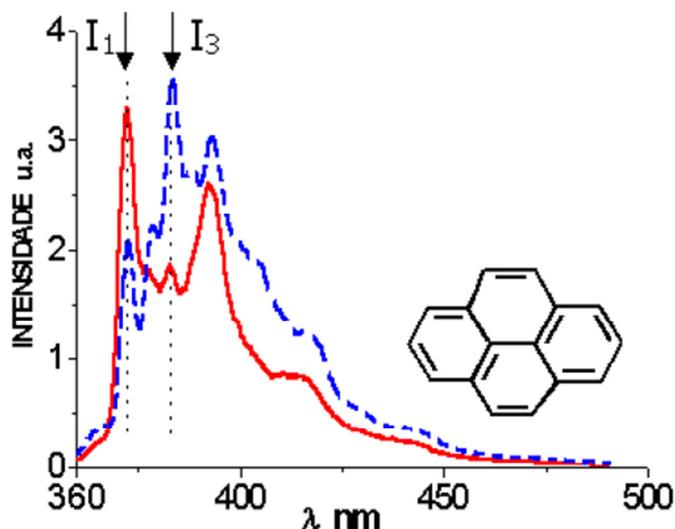


FIGURA 10 - ESPETRO DO PIRENO EVIDENCIANDO AS BANDAS  $I_1$  e  $I_3$  EM DIFERENTES MEIOS: LINHA VERMELHA CHEIA = MEIO POLAR ( $I_1/I_3 \sim 1,8$ ); LINHA AZUL PONTILHADA = MEIO APOLAR ( $I_1/I_3 \sim 0,6$ )  
 FONTE: MARTINS (2006)

Para o estudo de agregação da GAC e GNF foram preparados 3 mL de cada solução de GAC e GNF em água, em solução de NaCl  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$  ou  $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$  ou  $\text{CaCl}_2$   $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ , de acordo com o procedimento descrito no item 3.2.3.1 e adicionou-se, sob agitação, 0,005 mL de uma solução etanólica de pireno ( $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ ) em cada solução de goma (concentração final de pireno  $\sim 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ ), seguido de repouso por 5 horas.

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro de fluorescência HITACHI F4500 (DQUI-UFPR), em modo de emissão, a temperatura ambiente ( $\sim 22 \text{ }^\circ\text{C}$ ), com comprimento de onda de excitação de 343 nm, e varredura de 360 a 500 nm (AMIJI, 1995).

#### 3.2.3.4 Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS)

O SAXS (do inglês *Small Angle X-Ray Scattering*) é uma ferramenta muito útil no estudo de partículas coloidais, pois permite a determinação de características estruturais, tamanho, forma e possíveis interações em sistemas com dimensões entre 1 e 100 nm.

A técnica utiliza um feixe de raios-X ( $\lambda \approx 1,5 \text{ \AA}$ ) que interagem com os elétrons do material e o número de fótons espalhados pela amostra é contado como função do ângulo de espalhamento ( $\theta$ ), sendo que, quanto maior for a partícula, seu espalhamento estará concentrado em menores intervalos de  $\theta$  (GLATTER e KRATKY, 1982; MARTINS, 2006). O espalhamento a baixos ângulos é elástico e o módulo do vetor de espalhamento ( $q$ ) é dependente do ângulo de espalhamento ( $\theta$ ), descrito matematicamente pela equação:

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

em que  $\lambda$  é o comprimento de onda utilizado (GLATTER e KRATKY, 1982).

A intensidade do espalhamento  $I(q)$  de SAXS para um determinado sistema é resultante da multiplicação dos fatores forma  $P(q)$  e estrutura  $S(q)$  conforme a equação abaixo:

$$I(q) = n\Delta\rho^2V^2P(q)S(q) \quad (3)$$

em que  $n$  é o número de partículas,  $\Delta\rho$  é a variação de contraste entre o centro espalhador e o meio e  $V$  corresponde ao volume do centro espalhador.  $P(q)$  corresponde à forma e ao tamanho das partículas e está relacionado com o espalhamento de uma partícula simples isolada e  $S(q)$  é chamado de fator estrutura e é proveniente de interações a longo alcance interpartículas. Em sistemas diluídos, não interagentes,  $S(q)$  se aproxima de 1, e considera-se que somente o fator forma  $P(q)$  contribui para o espalhamento facilitando a interpretação dos dados (GLATTER e KRATKY, 1982). Nestes casos, a intensidade de espalhamento é expressa pela equação de Guinier:

$$I(q) = I(0)e^{\frac{-q^2Rg^2}{3}} \quad (4)$$

em que  $Rg$  é o raio de giro da partícula, que corresponde ao quadrado da distância média das extremidades da partícula ao seu centro de gravidade. Pode-se obter o raio de giro através da inclinação da reta do gráfico de Guinier ( $\ln I \times q^2$ ), sendo que esta expressão é válida somente na região que satisfaz a condição  $q.Rg \leq 1,3$  (GLATTER e KRATKY, 1982; FEIGIN e SVERGUN, 1987).

No limite de altos valores de  $q$ , no qual se obtém informações de detalhes da molécula, da sua estrutura mais interna, o espalhamento é resultante da interface das partículas. Para amostras que possuem uma interface bem definida entre as partículas e o meio, é possível obter parâmetros bem definidos de superfície, volume e massa das partículas. Neste caso, seu perfil de espalhamento segue uma lei de potência na região de Porod, sendo  $I(q) \propto q^{-p}$ , com  $p = 4$ , em que  $p$  se refere ao decaimento exponencial da curva. Quando se trata de partículas com domínios irregulares, outras leis de escala são observadas nesta região, por exemplo, uma curva que apresenta valores de  $3 \leq p < 4$ , corresponde a partículas com geometria do tipo fractal de superfície (FIGURA 11(A)), no qual apenas a superfície da partícula torna-se irregular. Uma dependência com  $p < 3$  corresponde a partículas do tipo fractal de massa (FIGURA 11(B)), em que toda a partícula apresenta-se porosa e irregular, e os perfis que apresentam uma relação com  $p \sim 2$  correspondem à cadeias poliméricas gaussianas. (STRIBECK, 2007; GIACOMELLI, 2009).

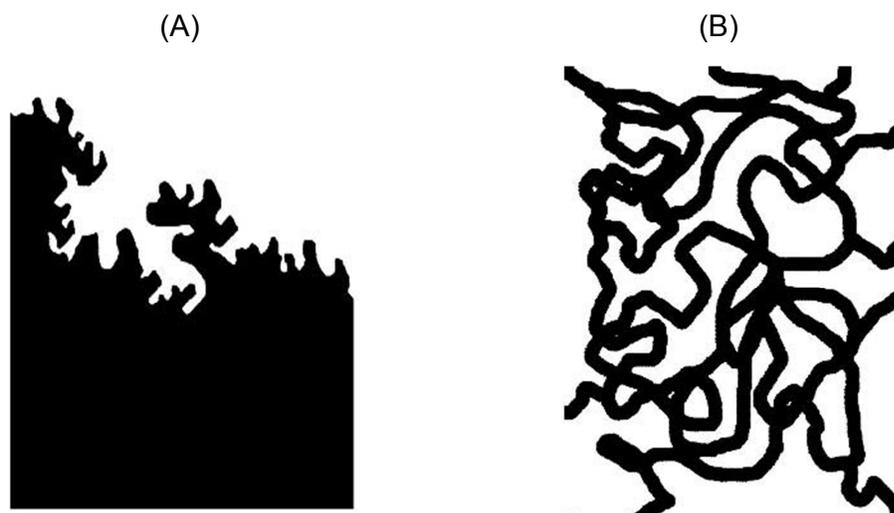


FIGURA 11 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE ESTRUTURAS TIPO FRACTAL: (A) FRACTAL DE SUPERFÍCIE; (B) FRACTAL DE MASSA  
FONTE: STRIBECK (2007)

Os experimentos de SAXS foram realizados no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS, Campinas – SP) na linha D1B. O comprimento de onda da radiação incidente utilizado foi de  $\lambda = 1,55 \text{ \AA}$  e a distância da amostra ao detector foi de 1589,170 mm. A calibração da distância foi realizada usando behenato de prata como padrão. O tempo de exposição das amostras ao feixe de raios-X foi de 100 a 400 s. Todas as correções de intensidade necessárias foram realizadas. As

amostras foram introduzidas com uma seringa em porta amostra de aço inoxidável com janelas de mica mantidos sob vácuo e todas as medidas foram realizadas a temperatura ambiente.

Os perfis de espalhamento resultantes foram coletados e corrigidos subtraindo-se o espalhamento do solvente puro. A modelagem dos pontos experimentais foi realizado com o programa SASfit (KOHLBRECHER, 2006), utilizando modelos teóricos disponíveis no programa.

#### 3.2.4 Análise da capacidade emulsificante da goma de acácia comercial e da goma de acácia negra

A goma de acácia é bastante conhecida por sua capacidade emulsificante. Segundo a literatura, esta capacidade emulsificante está relacionada com o seu teor proteico e com a presença de complexos arabinogalactana-proteínas (AGPs) na sua estrutura (FAUCONNIER *et al.*, 2000).

Sendo assim, analisou-se a capacidade emulsificante da goma de acácia comercial (GAC) comparativamente com a goma de acácia nativa (GNF) verificando possíveis diferenças na estabilidade das respectivas emulsões formadas e procurando correlacionar os resultados com os respectivos teores proteicos encontrados na análise química.

##### 3.2.4.1 Preparo das emulsões

Para o preparo das emulsões foram utilizados 2 mL das soluções de goma de acácia (GAC e GNF) na concentração de  $10 \text{ mg.mL}^{-1}$  em água Milli-Q e também em solução de NaCl  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ , preparadas conforme o procedimento descrito no item 3.2.3.1. Acrescentou-se, a temperatura ambiente e sob agitação vigorosa, 10% (v/v) de óleo de rícino, gota a gota ( $\sim 0,033 \text{ mL}$  a cada 5 s) e manteve-se o sistema sob agitação durante 10 minutos.

O óleo de rícino (*castor oil*), extraído das sementes da planta *Ricinus communis*, contém uma alta concentração (85-90%) de ácido ricinoleico e cerca de 10% de ácidos graxos não-hidroxilados, majoritariamente o ácido oleico e linoleico (SILVA, 2009). Esta alta concentração de ácido ricinoleico na composição confere propriedades específicas ao óleo de rícino possuindo uma ampla gama de aplicações já exploradas há muitos anos. Apesar de não ser comestível é um óleo vegetal bastante versátil e amplamente utilizado como material de partida para o preparo de outros derivados ampliando a sua possibilidade de aplicações.

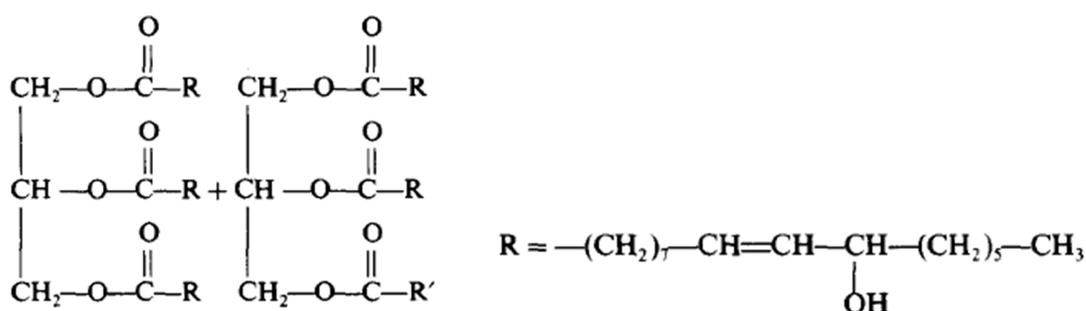


FIGURA 12 - ESTRUTURA QUÍMICA DO ÓLEO DE RÍCINO: R = ÁCIDO RICINOLEICO; R' = OUTROS ÁCIDOS GRAXOS  
 FONTE: QIPENG, SHIXIA e QINGYU (1990)

Na indústria química é utilizado no processo de fabricação de cosméticos e produtos de higiene pessoal, na fabricação de tintas, vernizes, lubrificantes (OGUNNIYI, 2006), elastômeros (QIPENG, SHIXIA e QINGYU, 1990), espumas, plastificantes, surfactantes, entre inúmeras outras aplicações (OGUNNIYI, 2006).

Na medicina é utilizado em laxantes, no tratamento de doenças de pele, em cirurgias oftálmicas, além de inúmeras outras finalidades citadas na medicina popular, para o tratamento de diversas enfermidades (SCARPA e GUERCI, 1982; CASTOR OIL, 2012).

#### 3.2.4.2 Análise da estabilidade das emulsões

Acompanhou-se a estabilidade das emulsões a tempos pré-determinados, até 24 horas após cessada a agitação.

O aspecto visual das emulsões (presença ou ausência de turbidez) foi registrado por uma câmera fotográfica Sony modelo DSC-W120, 7.2 megapixels. Alíquotas foram retiradas e depositadas sobre placas de vidro, deixadas secar ao ar e sob temperatura controlada (20°C) e observadas em microscópio óptico Olympus, modelo CH30 RF100, após 48 horas.

### 3.2.5 Análise do compósito goma de acácia/celulose bacteriana

#### 3.2.5.1 Preparo do compósito goma de acácia comercial/celulose bacteriana

O compósito foi preparado através da imersão da celulose bacteriana hidratada em solução de goma de acácia comercial na concentração  $5 \text{ mg.mL}^{-1}$  a temperatura ambiente, seguido de secagem por liofilização, sendo denominado de compósito GAC5L. Para verificar a estabilidade da adsorção, o compósito preparado foi submetido posteriormente a uma etapa de lavagem, imersão em água sob suave agitação, sendo denominado de compósito GAC5LHL. Na FIGURA 13 está esquematizado o procedimento de preparo descrito anteriormente.

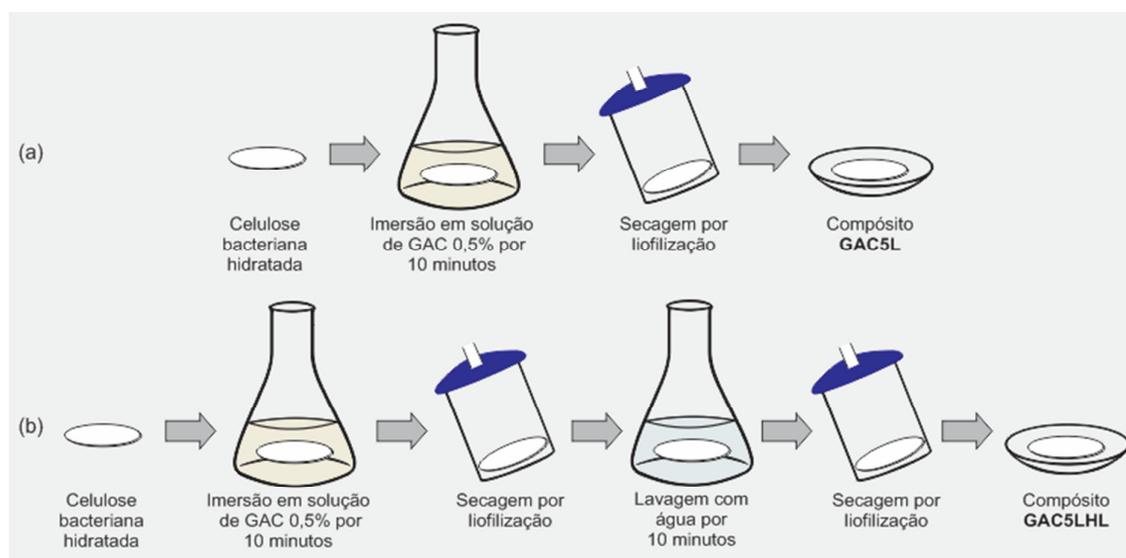


FIGURA 13 - PROCEDIMENTO DE PREPARO DOS COMPÓSITOS CB/GOMA DE ACÁCIA COMERCIAL

### 3.2.5.2 Análise do compósito goma de acácia comercial/celulose bacteriana por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens de microscopia eletrônica de varredura dos compósitos foram obtidas em um microscópio JEOL JSM-6360LV, do Centro de Microscopia Eletrônica (CME) da UFPR. As amostras foram recobertas com ouro e empregou-se uma tensão de aceleração de 10 kV. As dimensões das fibrilas de celulose bacteriana foram medidas com o programa ImageJ, desenvolvido por Rasband (1997).

### 3.2.5.3 Estudo da interação entre goma de acácia e celulose bacteriana

A interação entre goma de acácia comercial (GAC) e nativa (GNF) com a celulose bacteriana (CB) foi avaliada através de estudos de adsorção e desorção.

Foram preparadas soluções de goma de acácia (GAC e GNF) em diferentes concentrações de modo a se obter proporções crescentes de goma de acácia:celulose bacteriana (m/m) iniciando em proporções iguais (1:1) até obter uma proporção de goma de acácia:celulose bacteriana 5:1. As concentrações foram calculadas estimando-se a massa da membrana de celulose seca, considerando uma porcentagem de 99,5% de água na membrana úmida.

As membranas de CB foram imersas em 20 mL de cada solução de goma de acácia (GAC e GNF), a uma temperatura controlada de 20°C e mantidas por 4 dias para assegurar uma completa adsorção atingindo uma condição de equilíbrio.

As concentrações inicial e final (após 4 dias de adsorção) das soluções de goma de acácia foram determinadas utilizando um espectrofotômetro UV-vis Biospectro, modelo SP-220, nos comprimentos de onda  $\lambda = 287$  nm para a GAC e  $\lambda = 275$  nm para a GNF comparando-se os valores com as respectivas curvas padrão.

Com os resultados obtidos foram construídas as isotermas de adsorção descritas pelos modelos de Langmuir e Freundlich.

O modelo da isoterma de Langmuir assume que o processo de adsorção ocorre com uma distribuição uniforme das partículas na superfície formando uma monocamada, que há um equilíbrio dinâmico entre os processos de adsorção e

desorção e não existe interação entre as partículas adsorvidas, a energia envolvida no processo de adsorção é a mesma para todos os sítios. A equação de Langmuir na forma linearizada está representada abaixo:

$$\frac{1}{n} = \frac{1}{n_{m\acute{a}x}} + \left( \frac{1}{K n_{m\acute{a}x}} \right) \frac{1}{c}, \quad (5)$$

sendo  $n$  a quantidade de matéria adsorvida por grama de substrato adsorvente,  $n_{m\acute{a}x}$  a quantidade de adsorvato por grama de substrato adsorvente necessários para formar uma monocamada sobre a superfície,  $K$  a constante de equilíbrio e  $c$  a concentração de equilíbrio (MYERS, 1999).

O modelo da isoterma de Freundlich admite que a energia envolvida no processo de adsorção não é constante, mas varia exponencialmente com a extensão de superfície recoberta, considerando um processo de adsorção em multicamadas. A equação de Freundlich na forma linearizada está representada abaixo:

$$\log n = \log k + N \log c, \quad (6)$$

sendo,  $n$  a quantidade de matéria adsorvida por grama de substrato adsorvente,  $k$  e  $N$  são constantes que dependem da natureza do adsorvato e  $c$  é a concentração de equilíbrio (MYERS, 1999).

Após realizada a adsorção das gomas de acácia comercial e acácia negra nas membranas de celulose bacteriana iniciou-se o estudo de desorção, analisando o processo de liberação da goma no decorrer do tempo.

Cada compósito goma de acácia/celulose bacteriana foi imerso em 30 mL de água Milli-Q e mantidos sob suave agitação. O processo de liberação foi analisado retirando alíquotas no decorrer do tempo e analisando em um espectrômetro UV-vis Biospectro, modelo SP-220, nos comprimentos de onda  $\lambda = 287$  nm para a GAC e  $\lambda = 275$  nm para a GNF.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ANÁLISE QUÍMICA, FÍSICO-QUÍMICA E ESTRUTURAL DOS POLISSACARÍDEOS DA GOMA DE ACÁCIA COMERCIAL E DA GOMA DE ACÁCIA NEGRA

#### 4.1.1 Composição monossacarídica e teor proteico

As frações obtidas a partir da goma nativa bem como a goma de acácia comercial foram analisadas e comparadas quanto ao seu rendimento (frações da goma de acácia negra), composição monossacarídica e ao percentual de proteínas. Os rendimentos obtidos para as frações de acácia negra foram de 27, 7 e 26% para as frações GNF, GNQ e GNA, respectivamente, calculados em relação à massa de goma inicial em base úmida. Quanto à composição monossacarídica (TABELA 1), todas as amostras apresentaram um percentual de ramnose (Rha), arabinose (Ara), galactose (Gal) e ácidos urônicos e quanto ao teor proteico, os valores variaram de 3,6 a aproximadamente 7%. Por conter arabinose e galactose como componentes monossacarídicos majoritários e pela presença de proteínas, estes resultados sugerem a presença de estruturas tipo arabinogalactanas-proteínas (AGPs).

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA E TEOR PROTEICO DA GOMA DE ACÁCIA COMERCIAL E DAS FRAÇÕES DA GOMA DE ACÁCIA NEGRA

AMOSTRA	COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA (%)				PROTEÍNA <sup>b</sup> (%)
	Rha	Ara	Gal	Ácido Urônico <sup>a</sup>	
GAC	13	31	39	17 ± 0,7	3,6 ± 0,0
GNF	7	43	46	4 ± 0,5	6,7 ± 0,9
GNQ	6	53	39	2 ± 0,1	4,3 ± 0,5
GNA	8	44	34	14 ± 0,5	5,0 ± 1,1

<sup>a</sup> Dosado pelo método colorimétrico de Filisetti-Cozzi e Carpita, 1991; <sup>b</sup> Dosado pelo método colorimétrico de Hartree, 1972.

#### 4.1.2 Determinação da homogeneidade e da massa molar ponderal média

A determinação dos parâmetros físico-químicos massa molar ponderal média ( $\bar{M}_w$ ), massa molar numérica média ( $\bar{M}_n$ ) e grau de polidispersão ( $\bar{M}_w/\bar{M}_n$ ) das amostras GAC e GNF foram determinados por cromatografia de exclusão por tamanho. Os perfis de eluição estão apresentados na FIGURA 14.

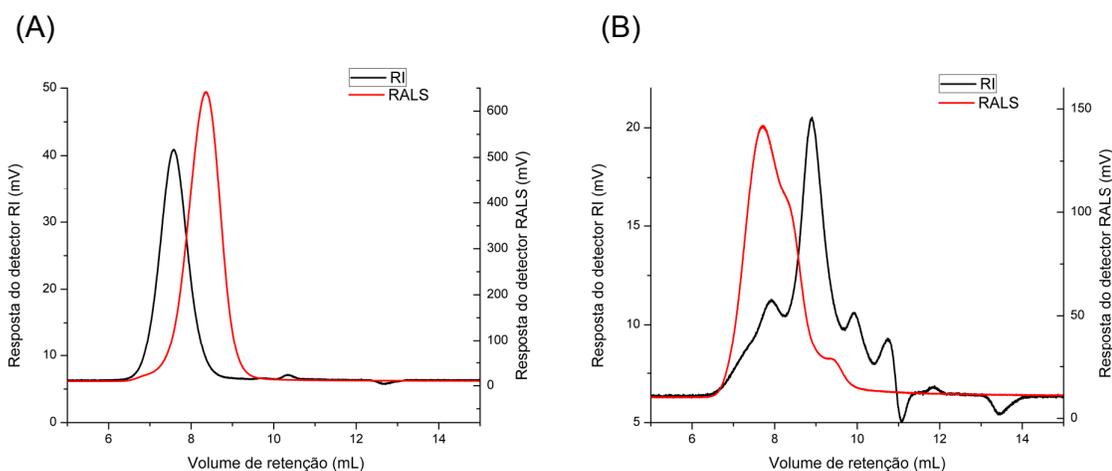


FIGURA 14 - PERFIS CROMATOGRÁFICOS DAS AMOSTRAS OBTIDOS POR SEC: (A) GAC; (B) GNF. RI = ÍNDICE DE REFRAÇÃO; RALS = ESPALHAMENTO DE LUZ A ÂNGULO RETO

Observou-se pelos perfis cromatográficos que ambas as amostras eluíram em volumes de retenção entre 7 e 10 mL (FIGURA 14). A amostra GAC (FIGURA 14(A)) apresentou um perfil mais homogêneo do que a amostra GNF (FIGURA 14(B)), que apresentou uma distribuição larga, com a contribuição de três populações, observada pelo detector de espalhamento de luz (RALS), ou até quatro populações distintas, observada pelo detector de índice de refração (RI), indicando uma amostra mais polidispersa. O segundo pico da fração GNF, que eluiu em aproximadamente 8,3 mL, representa a principal contribuição para a concentração da amostra, de acordo com o detector de RI.

Posteriormente, calculou-se com o *software* OmniSEC a massa molar ponderal média ( $\bar{M}_w$ ), a massa molar numérica média ( $\bar{M}_n$ ) e grau de polidispersão ( $\bar{M}_w/\bar{M}_n$ ) das amostras através dos perfis cromatográficos obtidos, utilizando o

incremento de índice de refração ( $dn/dc = 0,136$ ) calculado previamente. Os dados estão apresentados na TABELA 2.

TABELA 2 - VALORES DE MASSA MOLAR PONDERAL MÉDIA ( $\bar{M}_w$ ) e GRAU DE POLIDISPERSÃO ( $\bar{M}_w/\bar{M}_n$ ) DAS AMOSTRAS DE GOMA DE ACÁCIA

AMOSTRA	$\bar{M}_w$ (g.mol <sup>-1</sup> )	$\bar{M}_w/\bar{M}_n$
GAC	931.700	1,7
GNF	318.424	8,4

A amostra GAC apresentou um valor de  $\bar{M}_w$  maior do que para a GNF que, por sua vez, apresentou um grau de polidispersão mais elevado conforme observado pelo seu perfil cromatográfico mais heterogêneo. Os valores encontrados estão dentro da faixa de valores relatada na literatura, que variam consideravelmente de acordo com a espécie de origem e com as condições climáticas conforme comentado na introdução (IDRIS, WILLIAMS e PHILLIPS, 1998; AL-ASSAF, PHILLIPS e WILLIAMS, 2005; AOKI, *et al.*, 2007a)

#### 4.1.3 Análise estrutural por Ressonância Magnética Nuclear (RMN <sup>13</sup>C)

A caracterização por RMN <sup>13</sup>C também indicou semelhanças estruturais entre as frações, porém, as frações nativas apresentaram algumas diferenças com relação à goma comercial. Na FIGURA 15 são mostrados os espectros obtidos para a GAC (FIGURA 15(A)) e GNF (FIGURA 15(B)), visto que os espectros de GNA e GNQ apresentaram-se muito semelhantes ao obtido para a fração GNF.

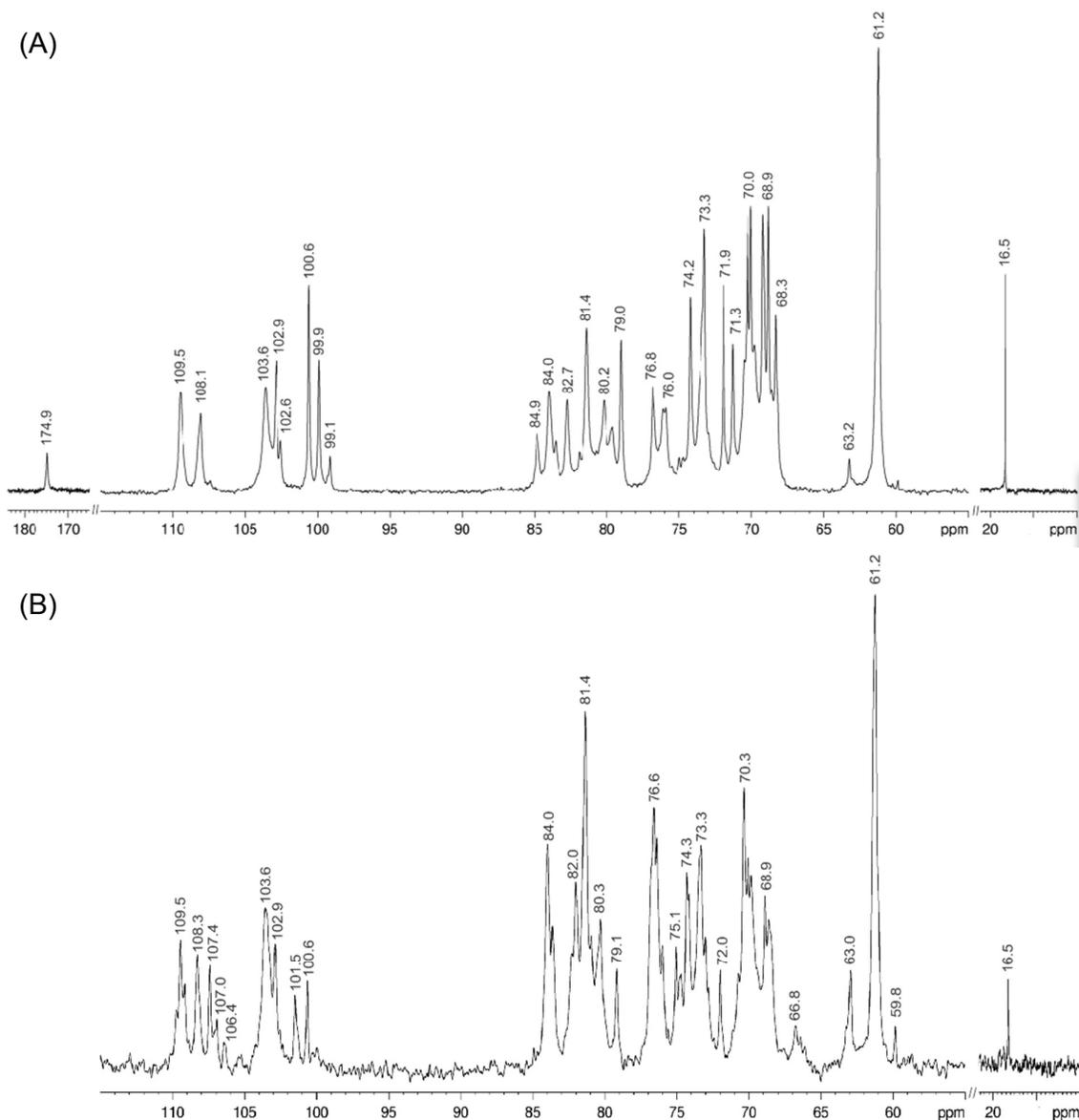


FIGURA 15 - ESPECTROS DE RMN  $^{13}\text{C}$  DAS AMOSTRAS: (A) GAC; (B) GNF  
Solvente  $\text{D}_2\text{O}$ , a  $50^\circ\text{C}$ . Deslocamentos químicos expressos em  $\delta$  (ppm)

A grande quantidade de sinais na região anomérica ( $\delta$  110,0-98,0) de ambas as amostras indicam a sua considerável complexidade estrutural. Em relação à goma comercial (GAC), as frações nativas apresentaram uma maior quantidade de sinais referentes às unidades de  $\alpha$ -L-Araf ( $\delta$  109,5-106,4). Na GAC (FIGURA 15(A)) as unidades de  $\alpha$ -L-Araf ( $\delta$  109,5 e  $\delta$  108,1) estão presentes como terminais não redutores e unidades 3-O-substituídas (TISCHER, GORIN e IACOMINI, 2002). Os sinais adicionais referentes às unidades de  $\alpha$ -L-Araf no espectro de GNF (FIGURA 15(B)) indicam que nesta fração estas unidades podem estar presentes em outros

ambientes químicos como, por exemplo, na forma de 5-O-substituídas, em que os sinais em  $\delta$  107,4 e  $\delta$  66,8 podem ser atribuídos ao C-1 e ao C-5, respectivamente, de tais unidades (PETKOWICZ *et al.*, 1998). Os sinais em  $\delta$  103,6 e  $\delta$  102,9 podem ser atribuídos ao C-1 de unidades de  $\beta$ -Galp (cadeia principal) e  $\beta$ -Glc pA, respectivamente (DELGOBO *et al.*, 1999). Comparando nossos resultados com os obtidos para a mesma goma arábica comercial (TISCHER, GORIN e IACOMINI, 2002), outros sinais de C-1 em  $\delta$  100,6,  $\delta$  99,9 e  $\delta$  99,1 podem ser atribuídos a unidades de  $\alpha$ -Rhap,  $\alpha$ -Galp (e/ou  $\beta$ -Arap), e  $\beta$ -Araf, respectivamente. O sinal de baixa frequência em  $\delta$  16,5 em ambos os espectros é característico de grupos  $-\text{CH}_3$  (C-6) de unidades de Rha (GORIN e MAZUREK, 1975). O sinal em  $\delta$  174,9, evidente apenas no espectro da GAC (FIGURA 15(A)), foi atribuído ao grupamento  $-\text{CO}_2\text{H}$  de unidades de ácido urônico (GORIN e MAZUREK, 1975). O sinal em  $\delta$  61,2 foi atribuído ao C-6 não substituído das unidades de Galp e por estar alargado pode estar sobreposto ao sinal de C-5 não substituído de unidades de  $\alpha$ -L-Araf (DELGOBO *et al.*, 1999). O sinal em  $\delta$  59,8, presente apenas no espectro da GNF (FIGURA 15 (B)) é característico de grupamentos  $-\text{OCH}_3$  sugerindo a presença de unidades de 4-OMe-Glc pA nesta fração.

## 4.2 ANÁLISE DAS PROPRIEDADES EM SOLUÇÃO DA GOMA DE ACÁCIA COMERCIAL E DA GOMA DE ACÁCIA NEGRA

### 4.2.1 Tensiometria

Substâncias ativas na interface, também chamadas de substâncias tensoativas, quando dissolvidas em um solvente tem a capacidade de adsorverem preferencialmente na interface (água-ar, por exemplo) alterando as propriedades físicas desta interface, diminuindo assim a tensão superficial da solução. Esta propriedade tensoativa está relacionada com o caráter anfifílico destas substâncias (EASTOE, 2003).

A goma de acácia possui esta propriedade e já está bem estabelecido na literatura que a fração arabinogalactana-proteína (AGP), presente na estrutura da

goma, é a responsável pela característica emulsificante da goma de acácia devido ao seu caráter anfifílico. A fração proteica é predominantemente hidrofóbica enquanto que a porção polissacarídica é hidrofílica, contém grupamentos ácidos carregados negativamente, interagindo com a solução aquosa e contribuindo assim para a atividade interfacial da goma (LI *et al.*, 2009; AL-ASSAF *et al.*, 2009 ; ISLAM *et al.*, 2007; AOKI *et al.*, 2007b).

Devido à fração GNF da goma de acácia negra apresentar o maior teor proteico dentre as frações nativas (TABELA 1), resultando, possivelmente, numa maior atividade interfacial e por apresentar um satisfatório rendimento de extração (item 4.1.1), optou-se por adotar esta fração (GNF) no estudo comparativo à GAC em todas as análises subsequentes.

Pode-se observar este efeito tensoativo na FIGURA 16, cujos gráficos relacionam a tensão superficial ( $\gamma$ ) com a concentração. Nota-se uma diminuição nos valores de tensão superficial da solução com o aumento da concentração de goma de acácia em todos os meios e para ambas as amostras (GAC e GNF). É possível distinguir dois valores de concentração específicos, em que há uma variação abrupta na inclinação da curva e que são atribuídos a fenômenos de superfície decorrentes da propriedade tensoativa da goma de acácia. O valor da concentração que corresponde à primeira mudança de inclinação da curva é denominado de concentração de adsorção crítica (CAC) e representa a concentração em que as moléculas do polissacarídeo começam a adsorver na interface da solução e o segundo valor de concentração correspondente à mudança de inclinação é chamado de concentração micelar crítica (CMC) e corresponde ao momento em que toda a interface está ocupada por moléculas do polissacarídeo e um aumento subsequente na concentração favorece o início da formação de agregados micelares no interior da solução. Sendo assim, a goma de acácia tende a adsorver na interface da solução formando uma monocamada e em seguida, com o aumento da concentração, agrega-se na forma de micelas no interior da solução. Estes agregados micelares se mantêm em equilíbrio dinâmico com as moléculas livres adsorvidas na interface. Este comportamento foi observado tanto para a GAC quanto para a GNF.

Na FIGURA 16 estão apresentados os resultados obtidos para a GAC (FIGURA 16 (A)) e GNF (FIGURA 16(B)) em água e nos meios salinos. Observa-se

que com a variação da força iônica do meio há uma alteração nos valores de CAC e na CMC (TABELA 3).

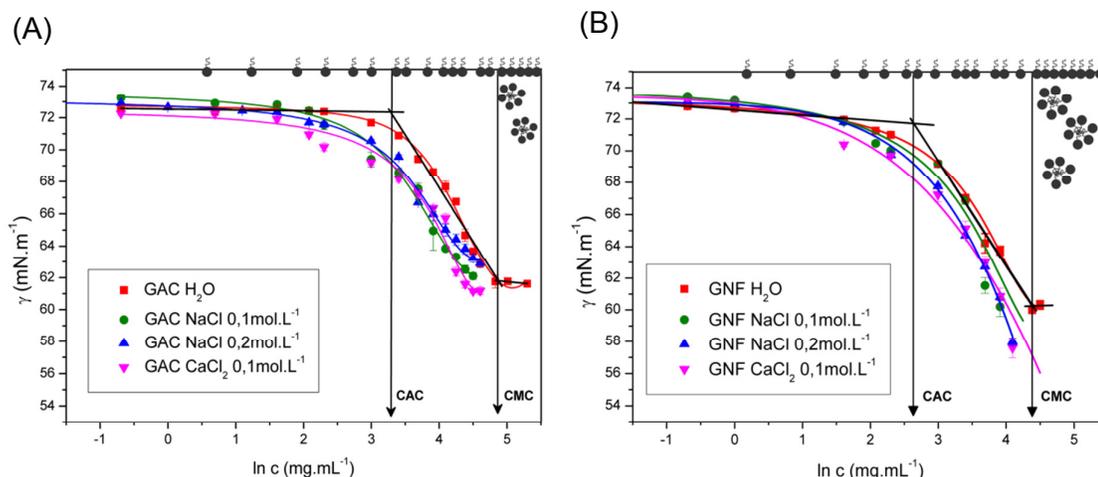


FIGURA 16 - TENSÃO SUPERFICIAL ( $\gamma$ ) EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE GOMA DE ACÁCIA EM DIFERENTES MEIOS SALINOS: (A) GAC; (B) GNF; ESTÃO INDICADOS OS VALORES DE CAC (CONCENTRAÇÃO DE ADSORÇÃO CRÍTICA) E CMC (CONCENTRAÇÃO MICELAR CRÍTICA) PARA AS AMOSTRAS EM ÁGUA

A diminuição da tensão superficial ( $\gamma$ ) com o aumento da concentração da substância tensoativa ( $c$ ) em solução é descrita pela isoterma de adsorção de Gibbs:

$$\Gamma = -\frac{1}{RT} \cdot \frac{d\gamma}{d \ln c} \quad (7)$$

que relaciona o excesso superficial de substância tensoativa na interface ( $\Gamma$ ) em  $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$  com a tensão superficial ( $\gamma$ ) em  $\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$ , em que  $R$  é a constante dos gases,  $T$  é a temperatura em Kelvin, e  $c$  é a concentração em  $\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$ . O excesso superficial representa a quantidade em mols da substância que está em excesso na interface em relação à quantidade que teria se a solução fosse homogênea até na interface, e relacionando-se ao excesso superficial com o número de Avogadro ( $N_a$ ) pode-se determinar a área ocupada por uma molécula na interface da solução através da seguinte equação:

$$A = \frac{1}{Na\Gamma} \quad (8)$$

onde A é a área molecular em m<sup>2</sup>. Os resultados obtidos de concentração de adsorção crítica (CAC), concentração micelar crítica (CMC), tensão superficial nestas duas concentrações ( $\gamma_{CAC}$  e  $\gamma_{CMC}$ ) e área molecular para cada amostra estão apresentados na TABELA 3 para a GAC e na TABELA 4 para a GNF.

TABELA 3 - VALORES DE CAC, CMC,  $\gamma$  NESTAS CONCENTRAÇÕES E ÁREA MOLECULAR DE GAC EM ÁGUA E EM SOLUÇÕES SALINAS

AMOSTRA	CAC (mg.mL <sup>-1</sup> )	$\gamma_{CAC}$ (mN.m <sup>-1</sup> )	CMC (mg.mL <sup>-1</sup> )	$\gamma_{CMC}$ (mN.m <sup>-1</sup> )	ÁREA (Å <sup>2</sup> )
GAC H <sub>2</sub> O	27,0	71,3	126,5	61,8	59,7
GAC NaCl 0,1M	14,0	71,2	95,7*	62,3*	69,2
GAC NaCl 0,2M	17,1	70,8	103,8*	62,0*	74,4
GAC CaCl <sub>2</sub> 0,1M	18,8	70,2	90,5	61,1	81,0

\* valores estimados no gráfico, pois não foi possível observar o segundo ponto de inflexão da curva.

TABELA 4 - VALORES DE CAC, CMC,  $\gamma$  NESTAS CONCENTRAÇÕES E ÁREA MOLECULAR DE GNF EM ÁGUA E EM SOLUÇÕES SALINAS

AMOSTRA	CAC (mg.mL <sup>-1</sup> )	$\gamma_{CAC}$ (mN.m <sup>-1</sup> )	CMC (mg.mL <sup>-1</sup> )	$\gamma_{CMC}$ (mN.m <sup>-1</sup> )	ÁREA (Å <sup>2</sup> )
GNF H <sub>2</sub> O	14,2	70,2	81,4	56,7	61,0
GNF NaCl 0,1M	8,4	70,4	57,2*	59,8*	78,2
GNF NaCl 0,2M	9,5	69,1	61,1*	54,1*	61,6
GNF CaCl <sub>2</sub> 0,1M	7,2	69,2	62,0*	56,3*	76,0

\* valores estimados no gráfico, pois não foi possível observar o segundo ponto de inflexão da curva.

De uma maneira geral, os resultados obtidos para ambas as amostras apresentam tendências similares de comportamento frente às alterações do meio, porém, com algumas diferenças, conforme discutidas abaixo.

Em solução salina observou-se que houve uma diminuição nos valores de CAC e CMC para ambas as amostras (GAC e GNF) comparadas com as respectivas amostras solubilizadas somente em água. Isto indica que a presença de sal em solução favorece a adsorção das moléculas da goma de acácia na interface (CAC) e a posterior formação de agregados micelares (CMC). De acordo com Eastoe (2003)

a presença de eletrólitos ocasiona um decréscimo no valor de CMC para a maioria dos surfactantes, o principal efeito causado pela presença do sal é a neutralização da repulsão eletrostática entre os grupamentos favorecendo a agregação.

Analisando os valores de CAC para as duas amostras em água, nota-se que a GNF apresenta um menor valor ( $CAC = 14,2 \text{ mg.mL}^{-1}$ ), aproximadamente a metade do valor obtido para a GAC ( $CAC = 27,0 \text{ mg.mL}^{-1}$ ), esta mesma tendência é observada nas soluções salinas, para as quais os valores de CAC para a GNF são sempre menores do que os para a GAC. A mesma tendência é observada para os valores de CMC, indicando que a GNF forma agregados micelares em solução a menores concentrações de soluto do que a GAC.

Os valores de tensão superficial na CAC e CMC ( $\gamma_{CAC}$  e  $\gamma_{CMC}$ ) são muito próximos ao comparar-se as amostras em todos os meios. Pode-se notar apenas, de modo geral, que os valores de  $\gamma_{CAC}$  e  $\gamma_{CMC}$  para a GNF são sutilmente menores ( $\gamma_{CMC} \sim 55 \text{ mN.m}^{-1}$ ) do que para a GAC ( $\gamma_{CMC} \sim 60 \text{ mN.m}^{-1}$ ), podendo ser um indício de uma maior capacidade tensoativa, concordando com o parágrafo anterior.

Muñoz *et al.* (2007) obtiveram, pelo método da placa de Wilhelmy, para a espécie *Acacia tortuosa*, um valor de tensão superficial ( $\gamma$ ) de  $42,6 \text{ mN.m}^{-1}$  para uma solução de concentração  $5 \text{ mg.mL}^{-1}$  a  $25^\circ\text{C}$ . Huang, Kakuda e Cui (2001) obtiveram, pelo método do anel Du Nouy, um valor de  $\gamma$  de  $46,9 \text{ mN.m}^{-1}$  para uma goma de acácia também na concentração de  $5 \text{ mg.mL}^{-1}$  a temperatura de  $25^\circ\text{C}$ . Apesar de obtidos por métodos diferentes, ambos os valores de tensão superficial são menores do que os encontrados no nosso trabalho para a GAC e GNF na mesma concentração, que pode estar relacionado às diferenças químicas e estruturais comumente encontradas entre amostras de espécies diferentes como já comentado na introdução.

Em termos de área molecular calculada foi observado um aumento nos valores para ambas as amostras conforme o aumento da força iônica do meio se comparadas à amostra em água, sendo essa variação um pouco mais evidente para a GAC. Esse aumento pode estar relacionado com a neutralização dos grupamentos ácidos presentes na estrutura da goma pelos cátions presentes na solução, diminuindo assim a repulsão entre eles e favorecendo a formação de agregados maiores.

#### 4.2.2 Fluorimetria

A espectrofluorimetria foi utilizada para complementar a discussão sobre a capacidade de agregação das gomas de acácia através da formação de domínios hidrofóbicos.

Foram obtidos os espectros em modo de emissão do pireno em concentração crescente de goma de acácia (GAC e GNF) e nas diferentes soluções salinas. A partir destes, foram construídos os gráficos relacionando-se a razão entre as bandas  $I_1/I_3$  *versus* a concentração de goma de acácia, apresentados na FIGURA 17.

Em todas as curvas apresentadas, observa-se, em baixas concentrações, valores de  $I_1/I_3 \sim 1,8$  (próximo ao valor encontrado para o pireno em água) e segue um decréscimo nesta razão à medida que aumenta a concentração de goma de acácia em solução, este comportamento está relacionado com a migração do pireno para ambientes mais apolares, sugerindo a formação de agregados, possivelmente a partir de segmentos de cadeias, dando origem a sítios mais hidrofóbicos (com menor razão  $I_1/I_3$ ).

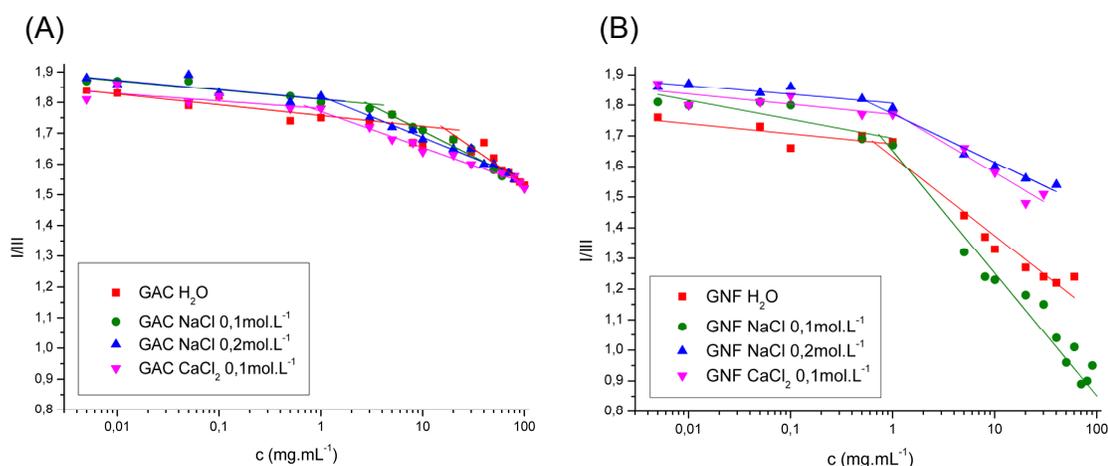


FIGURA 17 - RELAÇÃO ENTRE A RAZÃO DAS BANDAS  $I_1/I_3$  DO ESPECTRO DE EMISSÃO DO PIRENO *VERSUS* A CONCENTRAÇÃO DE GOMA DE ACÁCIA EM DIFERENTES MEIOS: (A) GAC; (B) GNF

Nota-se claramente na FIGURA 17 uma considerável diferença entre as razões  $I_1/I_3$  para as duas amostras na região de maiores concentrações, enquanto a

GAC apresenta razões  $I_1/I_3 \sim 1,55$  em concentrações de  $100 \text{ mg.mL}^{-1}$  a GNF atinge valores  $I_1/I_3 \sim 0,9$  nesta mesma concentração, isto indica a formação de domínios mais hidrofóbicos (menor razão  $I_1/I_3$ ), sugerindo uma maior agregação na goma de acácia nativa (GNF) quando observada na mesma concentração que a comercial (GAC).

Para facilitar a visualização e interpretação dos dados, expandiu-se a escala do gráfico das amostras de GAC que estão apresentados na FIGURA 18.

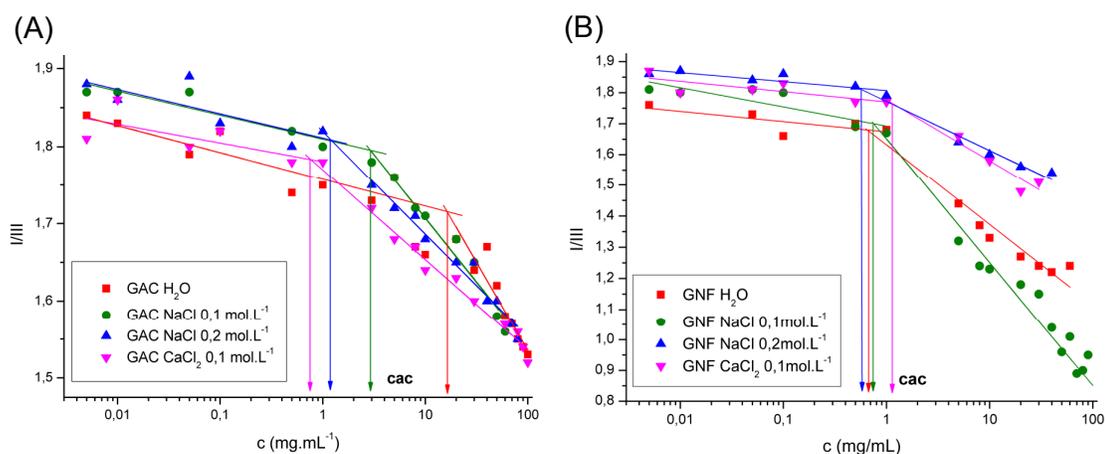


FIGURA 18 - RELAÇÃO ENTRE A RAZÃO DAS BANDAS  $I_1/I_3$  DO ESPECTRO DE EMISSÃO DO PIRENO (ESCALA CORRIGIDA) VERSUS A CONCENTRAÇÃO DE GOMA DE ACÁCIA EM DIFERENTES MEIOS: (A) GAC; (B) GNF; CAC = CONCENTRAÇÃO AGREGAÇÃO CRÍTICA

Assim como na tensiometria, também é possível obter os valores de concentração de agregação crítica (CAC) e concentração micelar crítica (CMC) de surfactantes por fluorescência (AGUIAR *et al.*, 2003), analisando o primeiro e o segundo ponto de inflexão da curva, respectivamente. No caso da goma de acácia, a complexidade de sua estrutura, já relatada na introdução, refletiu também em uma maior complexidade das curvas se comparada ao esperado para surfactantes comuns. Para análise e comparação das curvas, atribuiu-se apenas o primeiro ponto de inflexão como um valor de concentração de agregação crítica, apresentados na TABELA 5, que se deve, possivelmente, à agregação de partes da cadeia do polissacarídeo, conforme já mencionado. Portanto, no caso do estudo das gomas de acácia, os valores de CAC obtidos por tensiometria e por fluorescência não são comparáveis.

TABELA 5 - VALORES DE CONCENTRAÇÃO DE AGREGAÇÃO CRÍTICA (CAC) OBTIDOS POR FLUORIMETRIA PARA A GAC E GNF

SOLVENTE	CAC (mg.mL <sup>-1</sup> )	
	GAC	GNF
H <sub>2</sub> O	16,4	0,67
NaCl 0,1 mol.L <sup>-1</sup>	2,9	0,74
NaCl 0,2 mol.L <sup>-1</sup>	1,2	0,58
CaCl <sub>2</sub> 0,1 mol.L <sup>-1</sup>	0,75	1,1

Comparando os valores de CAC atribuídos para cada curva da FIGURA 18 verifica-se que para a amostra GAC há uma maior variação deste valor nos diferentes meios, de 16,4 mg.mL<sup>-1</sup> em água para valores em torno de 1 mg.mL<sup>-1</sup> nas soluções salinas. Já a GNF não apresentou grandes variações, em todos os meios os valores de CAC ficaram próximos de 1 mg.mL<sup>-1</sup>. Estes resultados concordam com as análises tensiométricas (item 4.2.1) e sugerem novamente que a GAC é mais sensível à presença de sais no meio devido ao seu maior teor de ácidos urônicos (TABELA 1: GAC = 17%, GNF = 4%), sendo que a presença de sais favorece a sua agregação (CAC menor) e a GNF, de um modo geral, apresenta uma maior tendência à agregação não sofrendo tanta influência dos sais presentes no meio.

#### 4.2.3 Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS)

As análises de SAXS foram realizadas para investigar a estrutura e conformação das cadeias de goma de acácia comercial e goma de acácia nativa em solução e as alterações causadas pela presença de sais no meio.

Na FIGURA 19 estão apresentados os perfis de espalhamento para a GAC em diferentes concentrações. Observa-se um pico de correlação, característico de polieletrólitos, que se desloca para maiores valores de vetor de espalhamento ( $q$ ) com o aumento da concentração. Este mesmo perfil de espalhamento foi observado por Dror, Cohen e Yerushalmi-Rozen (2006) para uma goma de acácia comercial e

relataram que este tipo de espalhamento é característico de agregados com interações entre agregados.

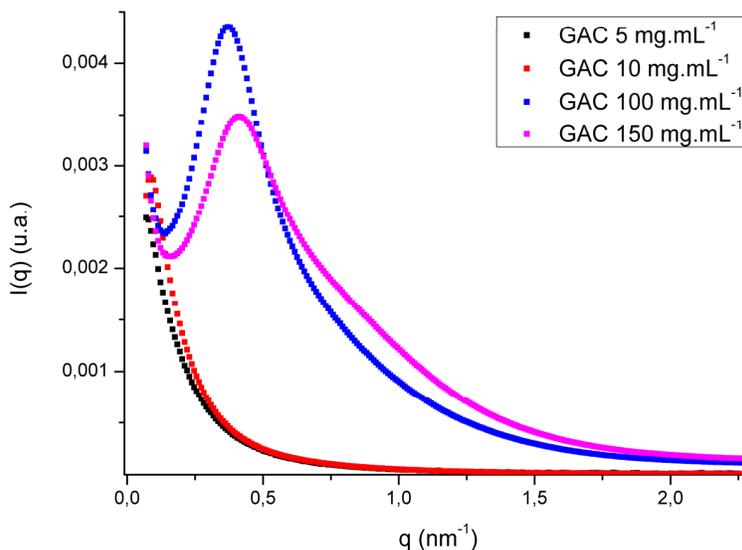


FIGURA 19 - PERFIS DE SAXS PARA A GAC EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES

Analisando a amostra em condições diluídas, GAC 5 mg.mL<sup>-1</sup> (FIGURA 20), cujo perfil de espalhamento não apresenta o pico de correlação, consegue-se obter parâmetros e informações relativas à forma da partícula. Na região de médio e alto  $q$ , observou-se que o espalhamento obtido sofre um decaimento que segue uma lei de potência ( $I(q) \propto q^{-p}$ ) com um valor de  $p$  na ordem de 2,3. Um valor em torno de 2, como comentado no item 3.2.3.4, corresponde a cadeias gaussianas e um valor de  $p < 3$  corresponde a partículas com geometria do tipo fractal de massa. Sendo assim, verificou-se, com o *software* SASfit, os modelos matemáticos referentes a estas geometrias buscando o melhor ajuste aos dados experimentais. O modelo referente a polímeros com cadeia do tipo gaussiana, denominado Gauss no *software* SASfit (KOHLEBRECHER, 2006), apresentou um desvio com relação aos valores experimentais na região de médio e alto ângulo, enquanto que o modelo referente a agregados com uma morfologia do tipo fractal, denominado Fischer-Burford, melhor ajustou-se aos dados experimentais e está representado pela linha vermelha na FIGURA 20.

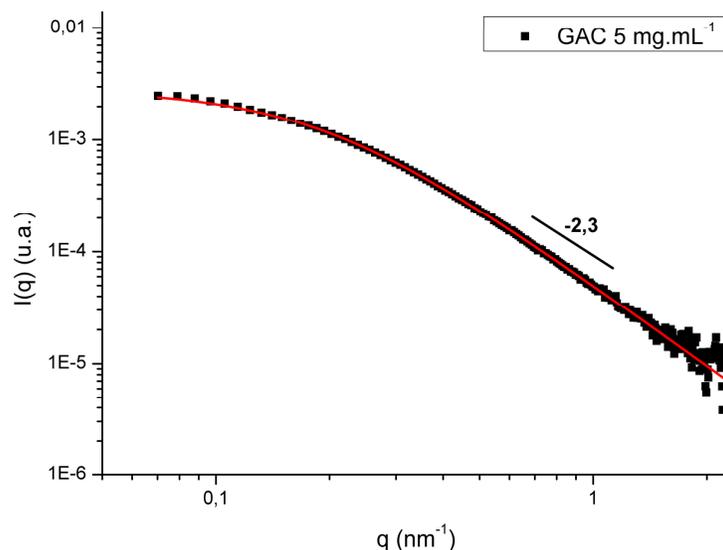


FIGURA 20 - PERFIL DE SAXS PARA A AMOSTRA GAC 5 mg.mL<sup>-1</sup> EM ÁGUA: ■ DADOS EXPERIMENTAIS; A LINHA VERMELHA REPRESENTA O AJUSTE MATEMÁTICO PARA ESTRUTURAS DO TIPO FRACTAL E O NÚMERO DESTACADO CORRESPONDE AO COEFICIENTE  $p$

Em meio salino (NaCl 0,1 mol.L<sup>-1</sup> e CaCl<sub>2</sub> 0,1 mol.L<sup>-1</sup>) verificou-se uma alteração no perfil de espalhamento indicando mudanças na conformação estrutural. Analisando os perfis apresentados na FIGURA 21, observa-se claramente um aumento na intensidade espalhada pelas amostras em solução salina, indicando a formação de objetos maiores em solução. Esta diferença de intensidades observada ainda na região de alto ângulo deve ser devido ao agregado contribuir com um certo espalhamento em  $q = 2 \text{ nm}^{-1}$  e não apenas a contribuição do espalhamento do solvente.

Em concordância, houve também um aumento nos valores do coeficiente  $p$  com o aumento da força iônica do meio, de 2,3 em água, para 2,5 em NaCl 0,1 mol.L<sup>-1</sup> e 3,3 em CaCl<sub>2</sub> 0,1 mol.L<sup>-1</sup>. Como comentado no item 3.2.3.4, um valor de  $3 \leq p < 4$  corresponde a uma morfologia mais agregada do tipo fractal de superfície, evidenciado também pelo aumento abrupto de intensidade na região de baixo  $q$  observado na curva de GAC em CaCl<sub>2</sub> 0,1 mol.L<sup>-1</sup>, que indica a formação de agregados. Nesta mesma curva, observou-se um íngreme decaimento na região de alto ângulo, devido à diferença de intensidade de espalhamento do solvente puro de referência e da solução com a amostra, podendo estar relacionado com a

capacidade de complexação de íons  $\text{Ca}^{2+}$  pelas moléculas de goma de acácia, ocasionando uma diminuição na concentração dos mesmos em solução e, conseqüentemente, uma menor intensidade de espalhamento do solvente.

Sendo assim, a presença de sais no meio ocasionou uma maior agregação da GAC, possivelmente devido à neutralização dos grupamentos carboxílicos negativamente carregados presentes na superfície da goma de acácia, causando uma diminuição na repulsão eletrostática entre eles e permitindo que as cadeias assumam uma conformação mais empacotada.

Com relação ao ajuste matemático, manteve-se o modelo de fractais Fischer-Burford que melhor se adequou aos dados experimentais, porém, a curva para a GAC em  $\text{NaCl}$   $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$  apresentou um espalhamento distinto na região de médio e alto ângulo, onde se obtém informações com relação à estrutura mais interna da macromolécula. Devido a esta ondulação no perfil de espalhamento, foi necessária a adição de mais um modelo matemático para ajustar-se corretamente aos dados experimentais, este modelo foi o de polímeros do tipo estrela, denominado Dozier2 no *software* SASfit (KOHLEBRECHER, 2006), que descreve o espalhamento de polímeros ramificados, com as ramificações partindo de um centro comum, indicando assim que a GAC neste meio assume uma certa organização estrutural bastante densa e ramificada.

Sanchez *et al.* (2008) obtiveram (por SANS) para a fração arabinogalactana (AG) da espécie *A. senegal* em  $\text{NaCl}$   $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ , um valor de  $p = 2,03$  na região de vetor de espalhamento intermediário e um aumento para  $p = 2,61$  na região de alto  $q$ , indicando uma estrutura interna mais densa e ramificada. Os autores buscaram o ajuste matemático do fator forma utilizando os modelos de esfera, polímeros com cadeia gaussiana e um modelo para estruturas muito ramificadas do tipo fractal, apesar de nenhum dos modelos apresentarem um ajuste satisfatório, dentre eles, o último foi o que melhor se aproximou à curva experimental.

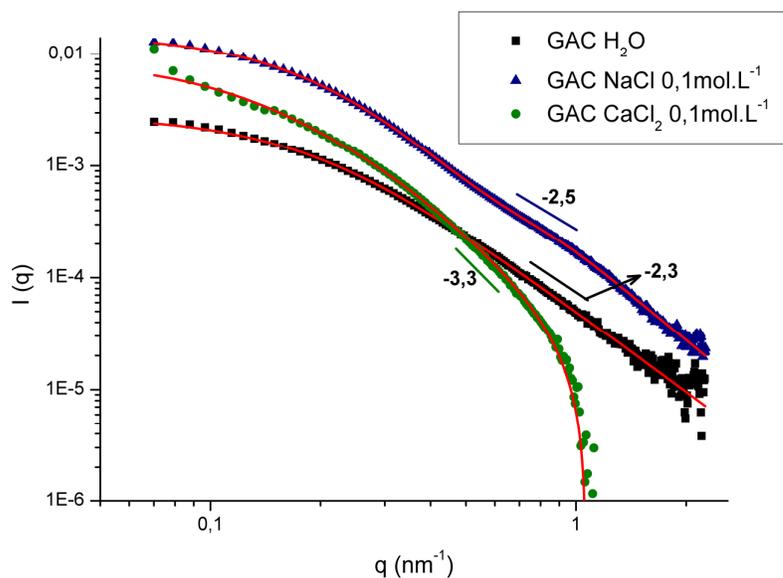


FIGURA 21 - PERFIS DE SAXS PARA A GAC  $5 \text{ mg.mL}^{-1}$  EM DIFERENTES MEIOS: ■ ÁGUA; ▲ NaCl  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ ; ●  $\text{CaCl}_2$   $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ ; A LINHA VERMELHA REPRESENTA O AJUSTE MATEMÁTICO E OS NÚMEROS DESTACADOS CORRESPONDEM AOS COEFICIENTES  $\rho$  DE CADA CURVA

Analisando o perfil de SAXS obtido para a goma de acácia nativa (GNF) em água (FIGURA 22), observa-se uma maior intensidade se comparado ao da GAC, sugerindo a presença de agregados maiores em solução, também evidenciado pelo aumento abrupto da intensidade na região de baixo  $q$ . O valor do coeficiente  $\rho$  da curva foi maior para a GNF concordando com as evidências anteriores de uma cadeia mais agregada. O modelo matemático utilizado para o ajuste das curvas também foi o modelo de fractais Fischer-Burford que melhor se adequou aos resultados experimentais.

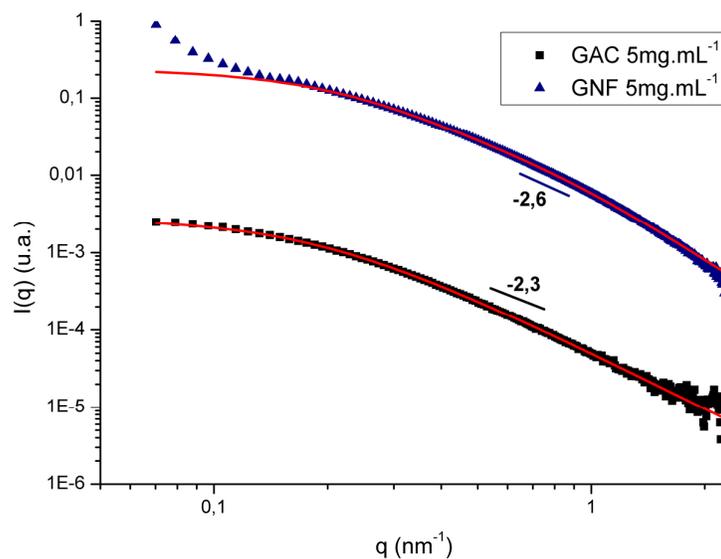


FIGURA 22 - PERFIS DE SAXS PARA AS AMOSTRAS EM ÁGUA: ■ GAC  $5 \text{ mg.mL}^{-1}$ ; ▲ GNF  $5 \text{ mg.mL}^{-1}$ ; A LINHA VERMELHA REPRESENTA O AJUSTE MATEMÁTICO E OS NÚMEROS DESTACADOS CORRESPONDEM AOS COEFICIENTES  $p$  DE CADA CURVA

Quanto ao comportamento da GNF em meio salino (FIGURA 23), observou-se um perfil bastante semelhante ao da amostra em água, apresentando também um aumento abrupto da intensidade na região de baixo  $q$ , indicando a formação de agregados. Esta menor sensibilidade à presença de sais no meio e maior tendência à agregação, possivelmente está relacionada ao menor teor de ácidos urônicos (TABELA 1) presentes na estrutura da GNF (4% de ácidos urônicos) se comparada à GAC (17% de ácidos urônicos).

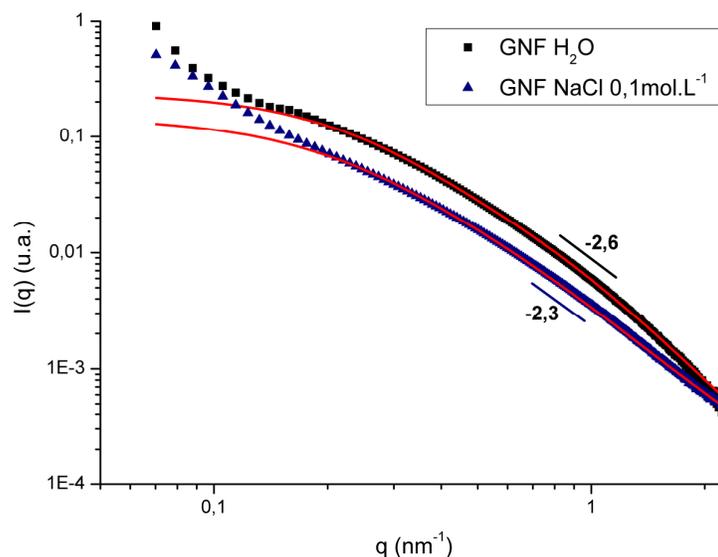


FIGURA 23 - PERFIS DE SAXS PARA A GNF  $5 \text{ mg.mL}^{-1}$  EM DIFERENTES MEIOS: ■ ÁGUA; ▲ NaCl  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ ; A LINHA VERMELHA REPRESENTA O AJUSTE MATEMÁTICO E OS NÚMEROS DESTACADOS CORRESPONDEM AOS COEFICIENTES  $\rho$  DE CADA CURVA

Os valores de  $R_g$ , para todas as amostras, foram calculados pelo ajuste matemático de fractais Fischer-Burford, realizado com o programa SASfit. Apesar de bastante sutil, observou-se um aumento no valor de  $R_g$  conforme o aumento da força iônica do meio, indicando que a presença de sal favorece a formação de agregados maiores. Este resultado está de acordo com os valores de área molecular obtidos na tensiometria (TABELA 3 e TABELA 4), nos quais observou-se um aumento da área que cada molécula ocupa na interface conforme o aumento da força iônica do meio.

Na literatura, Sanchez *et al.* (2008) encontraram um valor de  $R_g = 6,4 \text{ nm}$  para a fração arabinogalactana (AG) da espécie *Acacia senegal* solubilizada em solução de NaCl  $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$  pela técnica de SANS (Espalhamento de Nêutrons a baixo ângulo).

TABELA 6 - VALORES DE RAIOS DE GIRO (Rg) PARA AS AMOSTRAS GAC E GNF EM DIFERENTES MEIOS

SOLVENTE	Rg (nm)	
	GAC	GNF
H <sub>2</sub> O	10,0	7,5
NaCl 0,1 mol.L <sup>-1</sup>	10,6	8,9
CaCl <sub>2</sub> 0,1 mol.L <sup>-1</sup>	14,8	n.d.

n.d. – não determinado

#### 4.3 ANÁLISE DA CAPACIDADE EMULSIFICANTE DA GOMA DE ACÁCIA COMERCIAL E DA GOMA DE ACÁCIA NEGRA

Após o preparo das emulsões com as soluções de GAC e GNF em água e em solução de NaCl 0,1 mol.L<sup>-1</sup>, comparou-se a estabilidade no decorrer do tempo de cada uma delas pelo aspecto visual (presença ou ausência de turbidez) e por imagens de microscopia óptica.

Na FIGURA 24 estão apresentadas as fotos das emulsões nos tempos de 1 minuto, 1 hora e 24 horas após cessada a agitação. As amostras controle correspondem às emulsões formadas com a adição do óleo de rícino ao solvente puro (H<sub>2</sub>O e NaCl 0,1 mol.L<sup>-1</sup>), sem a presença de goma de acácia.

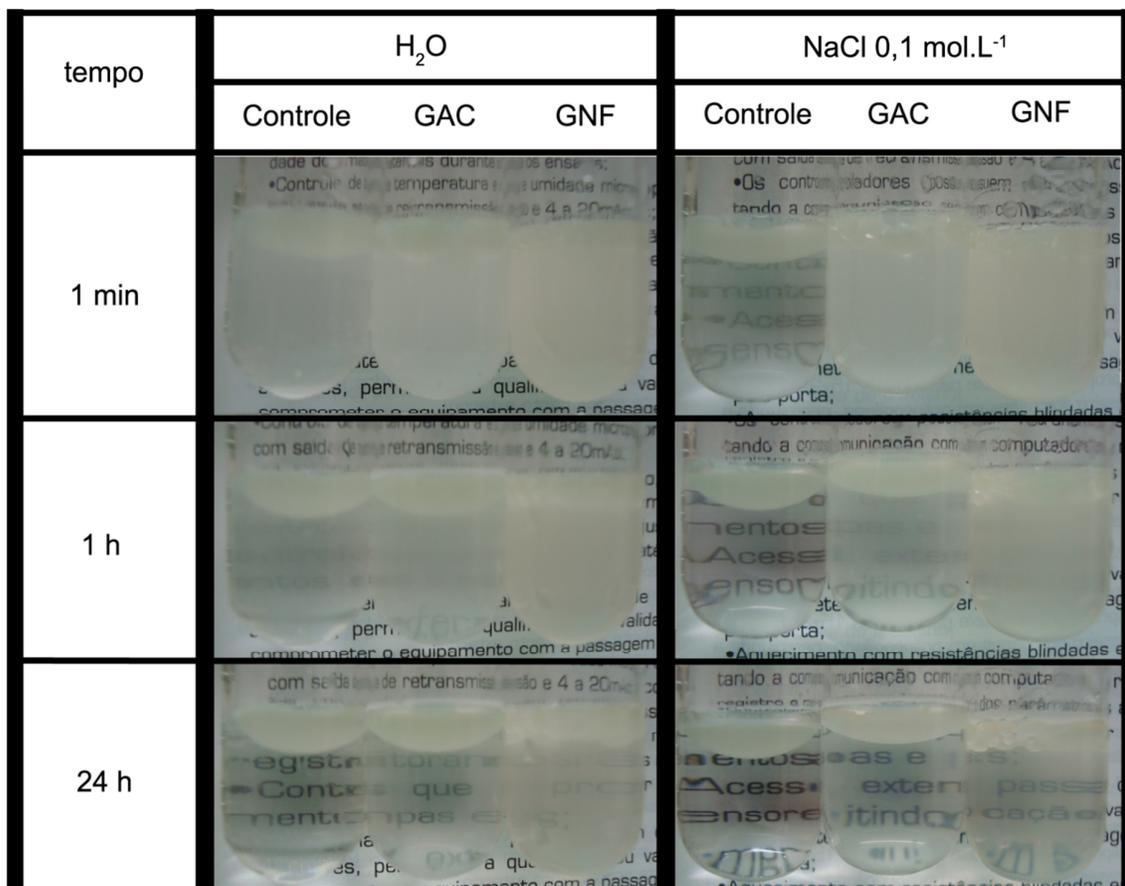


FIGURA 24 - FOTOS DAS EMULSÕES FORMADAS COM A ADIÇÃO DE ÓLEO DE RÍCINO EM SOLUÇÕES DE GAC E GNF EM ÁGUA E EM NaCl 0,1 mol.L<sup>-1</sup>

Pelo aspecto visual observaram-se claramente diferenças na turbidez das amostras no decorrer do tempo. Em água, observou-se que após 1 minuto cessada a agitação todas as amostras apresentaram-se turvas, após 1 hora a amostra controle diminuiu levemente a sua turbidez, enquanto que as amostras GAC e GNF mantiveram-se turvas. Após 24 horas, todas as amostras apresentaram-se menos turvas, mas com diferentes graus de turbidez, sendo: amostra controle < GAC < GNF, ou seja, a emulsão formada com a goma de acácia nativa (GNF) apresentou maior estabilidade do que a goma de acácia comercial (GAC).

Quanto às emulsões formadas em solução de NaCl 0,1 mol.L<sup>-1</sup>, observou-se que após 1 minuto a amostra controle já apresentou-se límpida, indicando que a presença de sal desfavorece a estabilidade da emulsão. Neste mesmo tempo as amostras GAC e GNF apresentaram-se turvas. Após 1 hora, a amostra GAC diminuiu o seu grau de turbidez, ao contrário da amostra GNF. Em 24 horas ocorreu a separação de fases e todas as amostras apresentaram-se límpidas, porém, a

sequência de estabilidade da emulsão permaneceu como a observada para a água: amostra controle < GAC < GNF.

Estes resultados indicaram que a amostra GNF apresenta uma maior capacidade de estabilização de emulsões, sugerindo, novamente, que o maior teor proteico presente nesta fração pode ser o responsável por este comportamento, concordando com os resultados de tensiometria e fluorescência apresentados anteriormente.

De acordo com Dickinson *et al.* (1988), para um determinado teor de nitrogênio na amostra, considerando que este teor representa a quantidade de proteína presente, existem dois fatores principais que podem influenciar a taxa de diminuição da tensão interfacial e conseqüentemente de promover um processo de emulsificação eficiente: a massa molar ponderal média ( $\bar{M}_w$ ) do complexo proteína-polissacarídeo e a acessibilidade do componente proteico no interior do complexo, relacionado com a sua estrutura. Frações com uma menor massa molar irão difundir mais rapidamente para a interface, ocasionando uma rápida diminuição da tensão superficial, uma vez que a molécula tenha difundido até a interface ficará adsorvida se a porção proteica for acessível para a interface e não esteja escondida no interior da molécula.

Após ocorrer a adsorção da goma de acácia na superfície da partícula de óleo, a repulsão entre duas partículas vai aumentar devido à repulsão estérica e eletrostática existente entre a porção polissacarídica da goma ocasionada pela presença de ácidos urônicos, oferecendo uma barreira para a coalescência das gotas de óleo (HUNTER, 1981, citado por AOKI *et al.*, 2007b)

Sendo assim, o fato da GNF apresentar uma melhor capacidade emulsificante, possivelmente está relacionado com o seu menor valor de  $\bar{M}_w$ , obtido por cromatografia de exclusão por tamanho (TABELA 2) e o seu maior teor de proteínas (TABELA 1), que possivelmente estão acessíveis para a interface, favorecendo a sua atividade interfacial.

As imagens de microscopia óptica das alíquotas retiradas nos tempos 1 minuto e 1 hora das emulsões formadas em solução de GAC e GNF em água estão apresentadas na FIGURA 25.

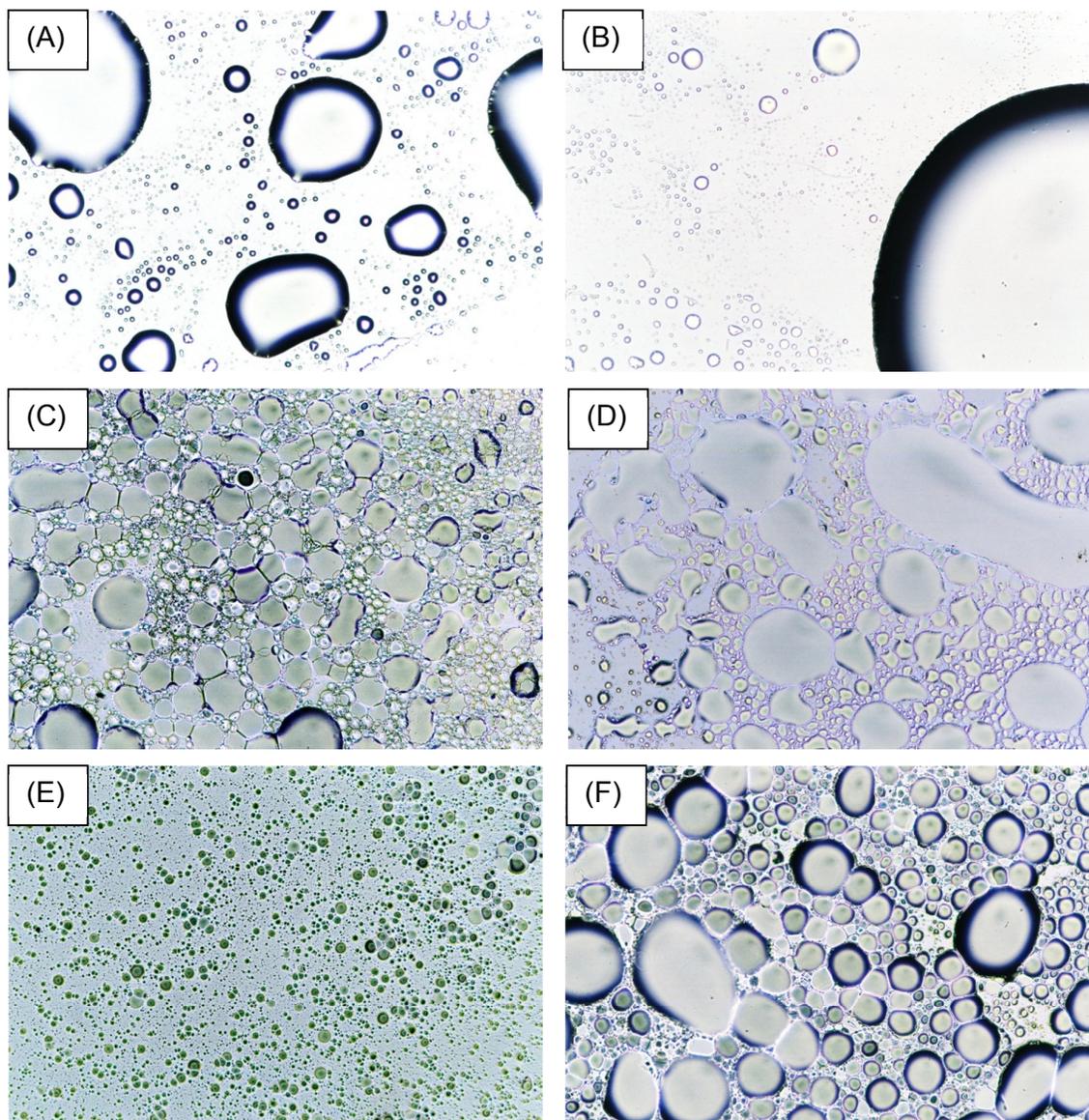


FIGURA 25 - IMAGENS DE MICROSCOPIA ÓPTICA DAS EMULSÕES FORMADAS COM ADIÇÃO DE ÓLEO DE RÍCINO EM: (A) E (B) ÁGUA; (C) E (D) GAC EM ÁGUA; (E) E (F) GNF EM ÁGUA, EM DIFERENTES TEMPOS: (A) (C) (E)  $t = 1 \text{ min}$ ; (B) (D) (F)  $t = 1 \text{ h}$ , AMPLIAÇÃO: 10x

O perfil observado nas imagens de microscopia óptica está de acordo com a tendência observada anteriormente pelo aspecto visual de turbidez. Nota-se que a emulsão formada em solução de GNF (FIGURA 25(E)) é composta por gotículas menores e com distribuição de tamanhos mais homogênea do que as formadas pela amostra GAC (FIGURA 25(C)), que por sua vez, são menores do que as formadas apenas em água (FIGURA 25(A)), com diâmetros médios de  $26 \pm 8 \mu\text{m}$ ,  $119 \pm 25 \mu\text{m}$  e  $212 \pm 172 \mu\text{m}$ , respectivamente. Com o passar do tempo essas gotículas

tendem a coalescer formando gotas maiores, após 1 h os diâmetros médios observados foram de  $136 \pm 40 \mu\text{m}$  e  $192 \pm 82 \mu\text{m}$ , para a GNF e GAC, respectivamente (FIGURA 25 (B), (D) e (E)).

#### 4.4 ANÁLISE DO COMPÓSITO GOMA DE ACÁCIA COMERCIAL/CELULOSE BACTERIANA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) permite a visualização das estruturas superficiais e subsuperficiais dos materiais e a análise da sua morfologia. As imagens de MEV dos compósitos de goma de acácia/celulose bacteriana foram feitas visando verificar mudanças na topografia da membrana decorrentes da deposição da goma sobre a celulose bacteriana.

Os compósitos foram preparados por imersão da membrana de celulose bacteriana em solução de goma de acácia comercial, conforme descrito no item 3.2.5 seguido de secagem por liofilização a fim de evitar a compactação das fibras de celulose, deixando-as mais expostas e facilitando, assim, a sua visualização por MEV.

Na FIGURA 26 são apresentadas as imagens da membrana de celulose bacteriana e do compósito celulose bacteriana/goma de acácia (GAC5L) com uma magnificação de 10.000 vezes.

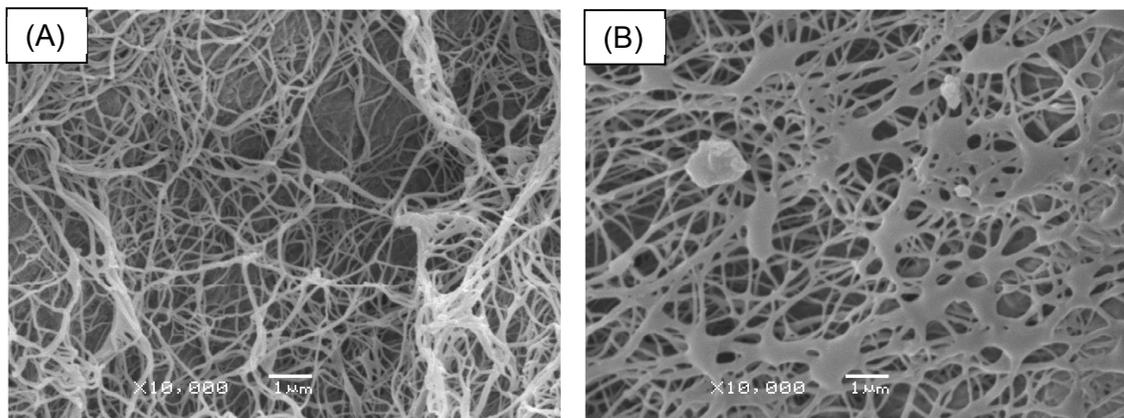


FIGURA 26 - IMAGENS OBTIDAS POR MEV: (A) MEMBRANA DE CELULOSE BACTERIANA; (B) COMPÓSITO GAC5L; MAGNIFICAÇÃO = 10.000x

Como pode ser observado na FIGURA 26(A), a CB apresenta-se como um emaranhado de microfibrilas com diâmetro médio em torno de 100 nm (medidas com o *software* Image J) e está dentro da faixa de valores encontrada na literatura (KRYSTYNOWICZ *et al.*, 2002; KOIZUMI *et al.*, 2008). Após a imersão em solução de GAC, formação do compósito (FIGURA 26(B)), as fibrilas de CB tornaram-se mais espessas, com diâmetro médio em torno de 150 nm, devido ao recobrimento da superfície pelas moléculas da goma, observado pela formação de aglomerados entre as fibrilas unindo-as entre si.

Após a lavagem do compósito (resultado não apresentado), verificou-se que as fibrilas retornaram a um diâmetro médio de 100 nm, como o observado para a membrana de celulose pura, indicando que com este procedimento é removida uma parte da camada de goma incorporada à membrana, devido à sua alta solubilidade em água.

#### 4.5 ESTUDO DA INTERAÇÃO ENTRE AS GOMAS DE ACÁCIA E CELULOSE BACTERIANA

Partindo do comportamento observado pelas imagens de MEV (item 4.4), em que se verificou que o diâmetro médio das microfibrilas diminuiu após a lavagem do compósito GAC/CB com água, realizou-se uma análise da interação entre a goma de acácia e a celulose bacteriana através de estudos de adsorção e, posteriormente, avaliando a taxa de desorção da goma de acácia com o tempo.

Para a construção das isotermas de adsorção, as membranas de celulose bacteriana foram mantidas imersas em diferentes concentrações de goma de acácia (GAC e GNF) durante quatro dias e as concentrações inicial e final de cada solução foram calculadas pelas respectivas curvas padrão (FIGURA 27), conforme descrito no item 3.2.5.3.

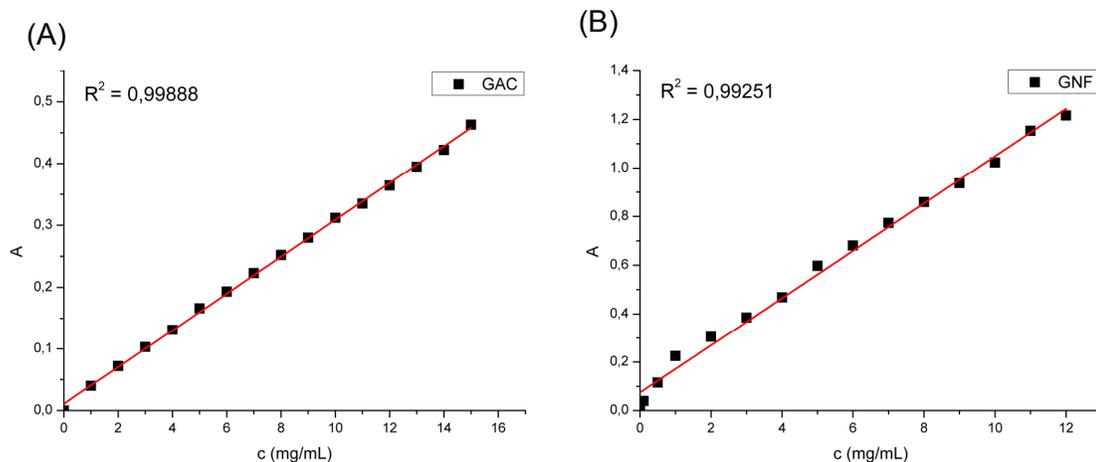


FIGURA 27 – CURVAS PADRÃO DAS GOMAS DE ACÁCIA: (A) GAC,  $\lambda = 287$  nm; (B) GNF,  $\lambda = 275$  nm

Posteriormente, a quantidade de goma de acácia adsorvida por grama de celulose bacteriana ( $Q_{ads}$ ) foi calculada de acordo com a equação:

$$Q_{ads} = \frac{(C_i - C_f) \cdot V_t}{M_{CB}}, \quad (9)$$

sendo  $Q_{ads}$  a quantidade de goma de acácia adsorvida por grama de celulose bacteriana ( $\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$ ),  $C_i$  a concentração inicial da solução de goma ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ),  $C_f$  a concentração final ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ),  $V_t$  o volume total (20 mL para todas as amostras) e  $M_{CB}$  a massa estimada da membrana de celulose bacteriana seca (mg). Os dados obtidos para todas as amostras estão apresentados na TABELA 7.

TABELA 7 - DADOS OBTIDOS NO ESTUDO DE ADSORÇÃO DAS GOMAS DE ACÁCIA EM MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA

AMOSTRA (PROPORÇÃO GOMA:CB)	$M_{CB}$ (mg)	$C_i$ (mg.mL <sup>-1</sup> )	$C_f$ (mg.mL <sup>-1</sup> )	$Q_{ads}$ (mg.mg <sup>-1</sup> )
GAC (1:1)	69,45	3,72	2,58	0,328
GAC (2:1)	52,60	5,64	4,30	0,509
GAC (3:1)	60,14	9,20	6,34	0,951
GAC (4:1)	53,03	13,5	9,03	1,69
GAC (5:1)	61,74	28,9	17,9	3,56
GNF (1:1)	50,51	2,49	2,09	0,158
GNF (2:1)	48,72	5,60	4,76	0,345
GNF (3:1)	54,97	9,45	8,02	0,520
GNF (4:1)	61,58	20,6	14,9	1,85
GNF (5:1)	42,47	26,1	21,0	2,40

Com estes resultados construíram-se os gráficos das isotermas de Langmuir e Freundlich para a GAC e para a GNF que estão apresentados na FIGURA 28. Através dos coeficientes de correlação das retas obtidas para os dois modelos verificou-se que para a GAC (FIGURA 28 (A) e (B)) o modelo de Freundlich apresentou o melhor coeficiente de correlação ( $R^2 = 0,98007$ ), diferente da GNF (FIGURA 28 (C) e (D)), cujo modelo que melhor se ajustou aos dados foi o de Langmuir ( $R_2 = 0,99718$ ). Portanto, sugere-se que a adsorção da GAC na CB ocorra em multicamadas e a da GNF em monocamadas. Possivelmente esse comportamento pode ser entendido, considerando-se a maior polidispersão de tamanho das cadeias da GNF quando comparada à GAC (TABELA 2). As cadeias menores conseguem difundir mais rapidamente no meio e ocupar os sítios de adsorção preferencialmente às cadeias de maior tamanho.

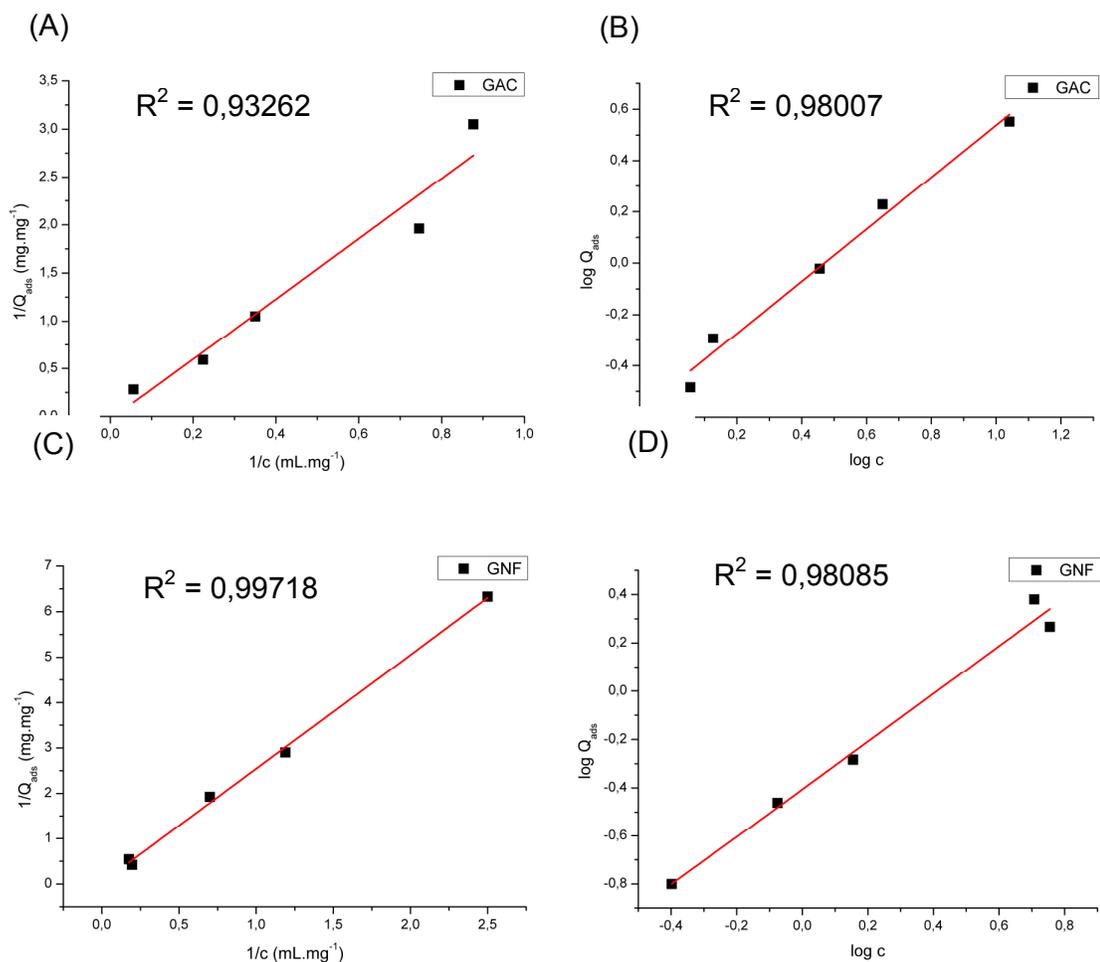


FIGURA 28 - REPRESENTAÇÃO LINEAR DAS ISOTERMAS DE ADSORÇÃO: GAC: (A) LANGMUIR, (B) FREUNDLICH; GNF (C) LANGMUIR, (D) FREUNDLICH

Para avaliar a liberação da goma adsorvida (desorção) nas membranas de celulose, os compósitos preparados foram imersos em água e a taxa de liberação da goma foi analisada através de medidas de absorvância das alíquotas retiradas no decorrer do tempo. Na FIGURA 29 estão apresentadas as medidas de absorvância obtidas com relação ao tempo de imersão para os compósitos formados com GAC (FIGURA 29 (A)) e com GNF (FIGURA 29 (B)).

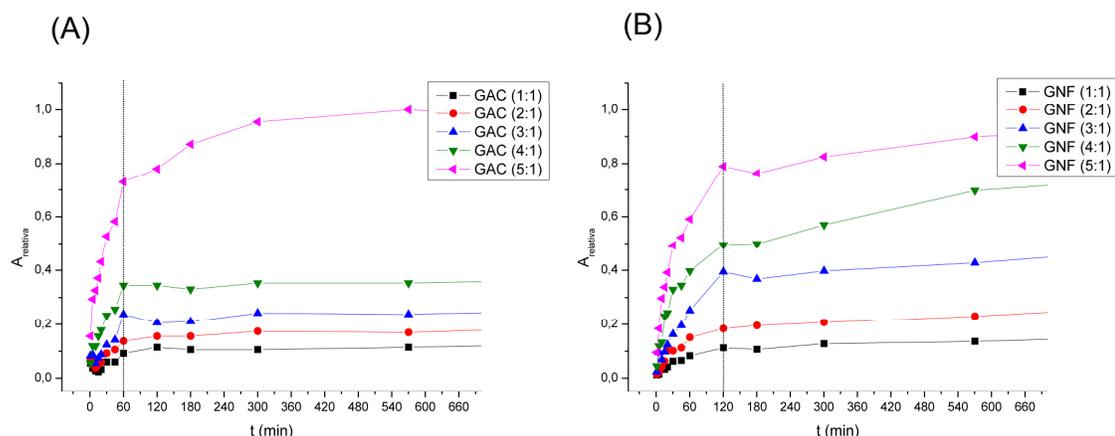


FIGURA 29 - CURVA DE LIBERAÇÃO DA GOMA DE ACÁCIA COM O TEMPO DE IMERSÃO DOS COMPÓSITOS PREPARADOS EM DIFERENTES PROPORÇÕES: (A) GAC/CB; (B) GNF/CB.

Os valores de absorbância foram normalizados.

Nota-se que, para todas as amostras, ocorre uma alta taxa de liberação da goma nos primeiros minutos de imersão, seguido de um patamar, no qual os valores de absorbância mantêm-se praticamente constantes. O patamar de absorbância constante é atingido em torno de 60 minutos para a GAC e em aproximadamente 120 minutos para a GNF. Uma ampliação da escala, para melhor visualização desta região inicial da curva, está mostrado na FIGURA 30.

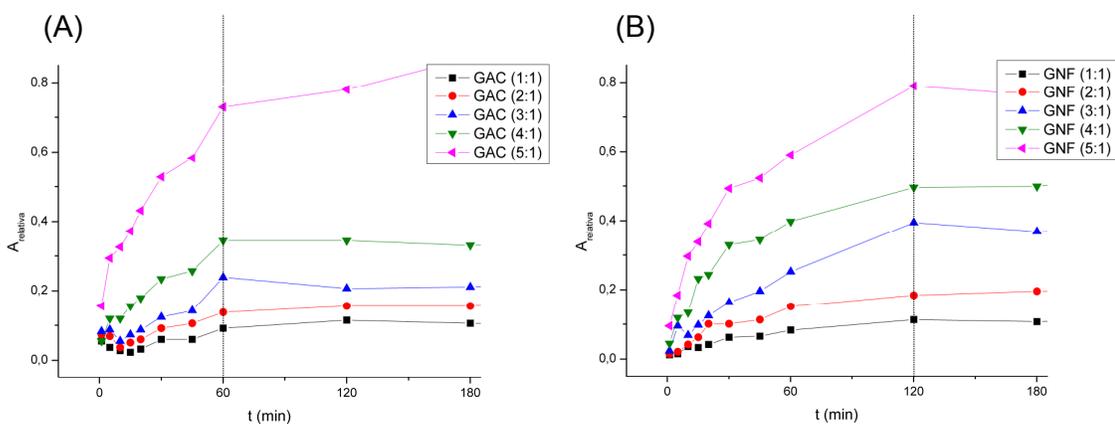


FIGURA 30 - AMPLIAÇÃO DO INÍCIO DA CURVA DE LIBERAÇÃO DA GOMA DE ACÁCIA COM O TEMPO DE IMERSÃO DOS COMPÓSITOS PREPARADOS EM DIFERENTES PROPORÇÕES: (A) GAC/CB; (B) GNF/CB

Observa-se que, considerando os 30 minutos iniciais, a taxa de liberação ( $\Delta A/\Delta t$ ) da GAC é menor que a da GNF, conforme demonstrado na TABELA 8.

Novamente, este fato pode ser atribuído à maior polidispersão de tamanhos das cadeias de GNF, cujas cadeias menores difundem mais rapidamente.

TABELA 8 – TAXA DE LIBERAÇÃO DA GOMA DE ACÁCIA ( $\Delta A/\Delta t$ ) NOS 30 MINUTOS INICIAIS DE IMERSÃO PARA TODOS OS COMPÓSITOS

COMPÓSITO	$\Delta A/\Delta t$
GAC (1:1)	0,0002
GAC (2:1)	0,0006
GAC (3:1)	0,0013
GAC (4:1)	0,0056
GAC (5:1)	0,0116
GNF (1:1)	0,0017
GNF (2:1)	0,0034
GNF (3:1)	0,0041
GNF (4:1)	0,0096
GNF (5:1)	0,0133

Os valores de absorvância nos tempos iniciais não puderam ser relacionados com a concentração, pois extrapolam o limite inferior de detecção das curvas de calibração (FIGURA 27).

Com vistas a determinar a concentração de equilíbrio do processo de desorção, os valores de absorvância foram determinados após 24 h e a porcentagem de goma de acácia liberada foi calculada relacionando com a concentração de goma adsorvida inicialmente (TABELA 9). Observa-se que, excluindo os resultados das amostras GAC (2:1) e GNF (3:1) o percentual de liberação da GNF, após um dia de imersão, é menor que a da GAC. O conhecimento destes comportamentos é muito importante visando futuras aplicações dos compósitos.

TABELA 9 – QUANTIDADE DE GOMA DE ACÁCIA LIBERADA DOS COMPÓSITOS APÓS 24 h DE IMERSÃO

COMPÓSITO	Q <sub>24h</sub> (%)
GAC (1:1)	62
GAC (2:1)	98
GAC (3:1)	59
GAC (4:1)	55
GAC (5:1)	56
GNF (1:1)	n.d.
GNF (2:1)	44
GNF (3:1)	83
GNF (4:1)	37
GNF (5:1)	53

n.d – não determinado

#### 4.6 DISCUSSÃO GERAL

Após a análise dos resultados obtidos no presente trabalho pode-se concluir que os polissacarídeos extraídos da goma de *Acacia mearnsii* De Wild (acácia-negra), assim como a goma de acácia comercial (GAC) são arabinogalactanas com a presença de ácidos urônicos e proteínas em sua estrutura. Porém, diferem com relação aos teores destes constituintes, em termos estruturais e com relação aos valores de  $\bar{M}_w$  e grau de polidispersão, ocasionando, possivelmente, os diferentes comportamentos observados nas análises físico-químicas realizadas.

Pelas análises de tensiometria e fluorimetria comprovou-se a propriedade tensoativa e a capacidade de agregação da goma de acácia. A goma de acácia negra (GNF), a qual apresentou os menores valores de concentração de adsorção crítica (CAC) e concentração micelar crítica (CMC), mostrou-se mais eficiente como emulsificante. A razão  $I_1/I_3$  do pireno, observado na presença da GNF e GAC, indicou que ocorre a formação de domínios hidrofóbicos em menores concentrações

de GNF quando comparada à GAC. Ainda, pelo fato da razão  $I_1/I_3$  ser menor na presença de GNF do que de GAC, sugere-se que os agregados formados possuem regiões mais hidrofóbicas do que os observados para a amostra goma de acácia comercial (GAC). Este comportamento pode estar relacionado ao maior teor proteico da GNF (6,7%) comparado com a GAC (3,6%).

Com a presença de eletrólitos no meio, houve uma diminuição nos valores de CAC e CMC e um aumento na área molecular, com relação aos valores em água, para ambas as amostras. Estes resultados indicam uma maior agregação da goma de acácia nestes meios, devido à neutralização dos grupamentos ácidos, diminuindo a repulsão eletrostática e favorecendo, assim, a agregação. Pela técnica de fluorimetria verificou-se que esse efeito da presença de sais é mais pronunciado para a amostra GAC, possivelmente devido ao seu maior teor de ácido urônicos (17%) comparado com a GNF (4%).

Com as análises de SAXS foi possível obter informações sobre a conformação estrutural das cadeias de goma de acácia em solução. Os valores de  $p$  obtidos pelo decaimento das curvas na região de alto ângulo indicaram estruturas tipo fractal para ambas as amostras (GAC e GNF), sendo que a GAC em água ( $p = 2,3$ ) apresentou uma estrutura do tipo fractal de massa e conforme o aumento da força iônica do meio, houve um aumento do valor do coeficiente  $p$  chegando a um valor de  $p = 3,3$  em solução de  $\text{CaCl}_2$   $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$  que corresponde à estruturas mais agregadas do tipo fractal de superfície. Do mesmo modo, o aumento da força iônica também ocasionou um aumento nos valores de raio de giro ( $R_g$ ) das amostras, devido à esta maior tendência à agregação, concordando com os maiores valores de área molecular obtidos na tensiometria nestas condições. No caso da GNF, observou-se a presença de agregados tanto em água quanto em  $\text{NaCl}$   $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$  através do aumento abrupto da intensidade na região de baixo ângulo das curvas. Com relação aos valores de coeficiente  $p$  obtidos, também se encontram na faixa esperada para estruturas do tipo fractal de massa, porém, em meio salino, não apresentou a mesma tendência de agregação (aumento no valor do coeficiente  $p$ ) que a amostra GAC, que pode estar relacionado à sua menor sensibilidade a presença de sais devido ao menor teor de ácidos urônicos, como evidenciado pela análise de fluorimetria.

Os experimentos de emulsificação também evidenciaram a maior atividade interfacial da amostra GNF com relação à GAC, pois a GNF manteve a estabilidade

da emulsão por mais tempo tanto quando solubilizada em água quanto em meio salino. Este comportamento deve estar relacionado com o seu maior teor proteico e ao seu menor valor de  $\bar{M}_w$  ( $\bar{M}_w = 318 \text{ g.mol}^{-1}$ ) comparando com o da GAC ( $\bar{M}_w = 931 \text{ g.mol}^{-1}$ ) difundindo-se mais rapidamente para a interface água-óleo evitando assim a coalescência das gotas de óleo. Este comportamento de estabilidade observado pelo aspecto visual de turbidez foi comprovado pelas imagens de microscopia óptica, que mostraram a formação de gotículas menores e com uma distribuição mais homogênea para a emulsão formada com a goma de acácia negra (GNF).

Através das imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e pelas análises de adsorção e desorção, verificou-se que é possível incorporar a goma de acácia nas membranas de celulose formando compósitos a partir de um método bastante simples de imersão.

Através do estudo da desorção da goma observou-se que ocorre uma grande quantidade de goma de acácia liberada dos compósitos durante a primeira hora, no caso da GAC, e durante as duas primeiras horas, no caso da GNF, porém, após este tempo há uma diminuição nesta taxa de liberação e em 24 horas após a imersão ainda não houve a liberação da quantidade total de goma adsorvida, assumindo-se como a condição de equilíbrio. De modo geral, a GNF mantém um maior percentual mássico adsorvido na CB do que a GAC sob as mesmas condições.

## 5 CONCLUSÕES

Os polissacarídeos extraídos da goma de *Acacia mearnsii* De Wild (acácia-negra), obtida de plantações brasileiras são arabinogalactanas (goma arábica) contendo ácidos urônicos e proteínas em sua estrutura.

Pelas análises de tensiometria e fluorimetria comprovou-se a propriedade tensoativa e a capacidade de agregação da goma de acácia-negra e que este comportamento varia com a presença de eletrólitos no meio. A presença de eletrólitos favorece a agregação destes polissacarídeos.

Através de análises de SAXS, foi possível obter informações sobre a conformação estrutural das cadeias de goma de acácia em solução que indicaram a ocorrência de estruturas tipo fractal.

Os polissacarídeos da goma de acácia-negra foram capazes de estabilizar partículas de óleo de rícino por até uma hora, evidenciado sua capacidade emulsificante.

Foi demonstrado por imagens de microscopia (MEV) e por estudos de adsorção e dessorção, que é possível incorporar a goma de acácia em membranas de celulose bacteriana, formando compósitos a partir de um método de imersão bastante simples.

Todos os resultados foram comparados ao de uma goma arábica comercial e as diferenças encontradas justificam-se pelo maior teor de proteínas e menor teor de ácidos urônicos da acácia-negra em relação à goma comercial, além de diferenças na massa molar e na polidispersão de tamanho das cadeias.

Estes resultados são importantes no sentido de empregar-se a goma de acácia-negra em substituição a gomas arábicas atualmente importadas pelo Brasil. Além disso, estudos podem ser direcionados para uma possível utilização em sistemas de liberação controlada de medicamentos, por exemplo, visando potencializar os benefícios oferecidos por membranas curativas de celulose bacteriana, agregando valor à cadeia produtiva da goma de acácia-negra no Brasil.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, J., CARPENA, P., MOLINA-BOLÍVAR, J.A., RUIZ, C.C. On the determination of the critical micelle concentration by the pyrene 1:3 ratio method. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 258, p. 116-122, 2003.

AKIYAMA, Y., EDA, S., KATO, K. Gum arabic is a kind of arabinogalactan-protein. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 48, p. 235-237, 1984.

ALICEWEB – Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior via Internet, Secretaria de Comércio Exterior do Brasil (SECEX). Disponível em: <<http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br>>. Data de acesso: 27/01/12.

AL-ASSAF, S., PHILLIPS, G.O., WILLIAMS, P.A. Studies on *Acacia* gum exudates: part II. Molecular weight comparison of the *Vulgares* and *Gummiferae* series of *Acacia* gums. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 661-667, 2005.

AL-ASSAF, S., SAKATA, M., MCKENNA, C., AOKI, H., PHILLIPS, G.O. Molecular associations in acacia gums. **Journal of Structural Chemistry**, v. 20, p. 325-336, 2009.

ANDERSON, D.M.W., STODDART, J.F. Studies on uronic acid materials. **Carbohydrate Research**, v. 2, p. 104-114, 1966.

ANDERSON, D.M.W., DEA, I.M., KARAMALLA, K.A., SMITH, J.F. Analytical studies of some unusual form of gum from *Acacia senegal*. **Carbohydrate Research**, v. 6, p. 97-103, 1968.

ANDREWS, H.E., CASTILLA, O.S., TORRES, H.V., CARTER, J.V., CALLEROS, C.L. Determination of the gum Arabic–chitosan interactions by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and characterization of the microstructure and rheological features of their coacervates. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 541-546, 2010.

AMIJI, M.M. Pyrene fluorescence study of chitosan self-association in aqueous solution. **Carbohydrate Polymers**, v. 26, p. 211-213, 1995.

AOKI, H., AL-ASSAF, S., KATAYAMA, T., PHILLIPS, G.O. Characterization and properties of *Acacia Senegal* (L.) Willd. var. *Senegal* with enhanced properties (*Acacia (sen) SUPER GUM™*): Part 2. Mechanism of maturation process. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p.328-337, 2007a.

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, p. 353-358, 2007b.

ARASHIRO, E.Y., DEMARQUETTE, N.R. Use of the pendant drop method to measure interfacial tension between molten polymers. **Materials Research**, v. 2, n. 1, p. 23-32, 1999.

ASPINAL, G.O. **The polysaccharides**, v.2. Academic Press, New York, p. 458-459, 1983.

BÄCKDAHL, H., HELENIUS, G., BODIN, A., NANNMARCK, U., JOHANSSON, B.R., RISBERG, B., GATENHOLM, P. Mechanical properties of bacterial cellulose and interactions with smooth muscle cells. **Biomaterials**, v. 27, p. 2141–2149, 2006.

BALDWIN, T.C., McCANN, M.C., ROBERTS, K. A novel hydroxyproline-deficient arabinogalactan protein secreted by suspension-cultured cells of *Daucus carota*-purification and partial characterization. **Plant Physiology**, v. 103, p. 115-123, 1993.

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.

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<sup>th</sup> ed., Csiro Publishing, Australia, 2006.

BORODINA, T., GRIGORIEV, D., MARKVICHEVA, E., MÖHWALD, H., SHCHUKIN, D. Vitamin E microspheres embedded within a biocompatible film for planar delivery. **Advanced Engineering Materials**, v. 13, n. 3, p. B123-B130, 2011.

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

CAI, Z., KIM, J. Bacterial cellulose/poly(ethylene glycol) composite: characterization and first evaluation of biocompatibility. **Cellulose**, v. 17, p. 83-91, 2010.

CAI, Z., YANG, G. Bacterial cellulose/collagen composite: characterization and first evaluation of cytocompatibility. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 120, p. 2938-2944, 2011.

CAIUS, J.F., RADHA, K.S. The gum arabic of the bazaars and shops of Bombay. **Journal of Bombay Natural History Society**, v. 41, p. 261-271, 1942.

CALDEIRA, M. V. W., NETO, R.M.R, SCHUMACHER, M.V. Avaliação da eficiência nutricional de três procedências australianas de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, n. 5, p. 615-620, 2002.

CALDEIRA, M. V. W., NETO, R.M.R., SCHUMACHER, M.V. Eficiência do uso de micronutrientes e sódio em três procedências de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n. 1, p. 39-47, 2004.

CASTOR OIL and derivatives uses and applications info. Disponível em: <<http://www.castoroil.in/uses/uses.html>>. Data de acesso: 30/01/2012.

CHENG, K.C., CATCHMARK, J.M., DEMIRCI, A. Effect of different additives on bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* and analysis of material property. **Cellulose**, v. 16, p. 1033–1045, 2009.

CZAJA, W., KRYSZYNOWICZA, A., BIELECKIA, S., BROWN JR, R.M. Microbial cellulose—the natural power to heal wounds. **Biomaterials**, v. 27, p. 145-151, 2006.

CZAJA, W.K., YOUNG, D.J., KAWECKI, M., BROWN JR, R.M. The future prospects of microbial cellulose in biomedical applications. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 1, p. 1-12, 2007.

DELGOBO, C.L., GORIN, P.A.J., TISCHER, C.A., IACOMINI, M. The free reducing polysaccharides of angico branco (*Anadenanthera colubrina*) gum exudate: an aid for structural assignments in the heteropolysaccharide. **Carbohydrate Research**, v. 320, p. 167-175, 1999.

DICKINSON, E., MURRAY, B.S., STAINSBY, G., ANDERSON, D.M.W., Surface activity and emulsifying behavior of some *Acacia* gums. **Food Hydrocolloids**, v. 2, n. 6, p. 477-490, 1988.

DOWNLING, 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.

DROR, Y., COHEN, Y., YERUSHALMI-ROZEN, R. Structure of gum arabic in aqueous solution. **Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics**, v. 44, p. 3265-3271, 2006.

EASTOE, J. **Surfactant chemistry**, 2003. e-book. Disponível em: <[http://www.chm.bris.ac.uk/eastoe/Surf\\_Chem/1%20Surfactant%20chemistry%20and%20general%20phase%20behaviour.pdf](http://www.chm.bris.ac.uk/eastoe/Surf_Chem/1%20Surfactant%20chemistry%20and%20general%20phase%20behaviour.pdf)>. Data de acesso: 28/01/2012.

EL-KHEIR, M.K.S., YAGOUB, A.E.G., BAKER, A.A.A. Emulsion stabilizing effect of gum from *Acacia senegal* (L) Willd. The role of quality and grade of gum, oil type, temperature, stirring time and concentration. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 7, n. 3, p. 395-399, 2008.

FANG, Y., AL-ASSAF, S., PHILLIPS, G.O., NISHINARI, K., WILLIAMS, P.A. Interaction of Gum Arabic with Fatty Acid Studied Using Electron Paramagnetic Resonance. **Biomacromolecules**, v. 11, p. 1398–1405, 2010.

FAUCONNIER, M-L., BLECKER, C., GROUYNE, J., RAZAFINDRALAMBO, H., VANZEVEREN, E., MARLIER, M., PAQUOT, M. Characterization of two *Acacia* gums and their fractions using a Langmuir film balance. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 2709-2712, 2000.

FEIGIN, L.A., SVERGUN, D.I. **Structure Analysis by Small Angle X-Ray and Neutron Scattering**, Plenum Press, New York, 1987.

FELIPPE, A.C., BELLETTINI, I.C., EISING, R., MINATTI, E., GIACOMELLI, F.C. Supramolecular complexes formed by the association of poly(ethyleneimine) (PEI), sodium cholate (NaC) and sodium dodecyl sulfate (SDS). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, p. 1539-1548, 2011.

FENGEL, D., WEGENER, G. **Wood: chemistry, ultrastructure, reactions**. Walter de Gruyter, Berlin, 1989.

FILISSETTI-COZZI, T.M.C.C., 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. Arabinogalactans-proteins: Structure, Biosynthesis, and Function. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 34, p. 47-70, 1983.

GÉRENTE, C., MESNIL, P.C., ANDRÈS, Y., THIBAUT, J.F., CLOIREC, P.L. Removal of metal ions from aqueous solution on low cost natural polysaccharides. Sorption mechanism approach. **Reactive & Functional Polymers**, v. 46 p. 135–144, 2000.

GIACOMELLI, F.C. **Estruturação e comportamento físico-químico de sistemas coloidais sob efeito de campo elétrico externo como perspectiva para a ciência macromolecular**. Tese. UFRGS, Porto Alegre, 2009.

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**. Academic Press, New York, 1982.

GLICKSMAN, M., SAND, R.E. In: WHISTLER, R.L., BeMILLER, J.N. **Industrial Gums, Polysaccharides and their derivatives**, 2<sup>nd</sup> ed., Academic Press, San Diego, 198-254, 1973.

GORIN, P.A.J., MAZUREK, M. Further studies on assignment of signals in <sup>13</sup>C magnetic resonance spectra of aldoses and derived methyl glycosides. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 53, p. 1212-1224, 1975.

GRIGOLETTI, A., SANTOS, A.F. dos, HIGA, A.R., MORA, A.L., SIMON, A.A., AUER, C.G., IEDE, E.T., CURCIO, G.R., RODIGHIERI, H.R., DEDECEK, R.A., HIGA, R.C.V., KEIL, S.S., PENTEADO, S.R.C. Cultivo da Acácia-Negra. **Embrapa Florestas – Sistemas de Produção**, v. 3, versão eletrônica, 2003.

Disponível em:  
<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/AcaciaNegra/CultivodaAcaciaNegra/index.htm>>. Data de acesso: 27/01/2012.

GUM ARABIC production: Gum Arabic overview with focus on Sudan. Disponível em:  
<<http://www.gum-arabic.org/Production.aspx?linkID=Overview>>.  
Data de acesso: 27/01/2012.

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

HEßLER, N.; KLEMM, D. Alteration of bacterial nanocellulose structure by in situ modification using polyethylene glycol and carbohydrate additives. **Cellulose**, v. 16, p. 899–910, 2009.

HIGA, R.C.V., DEDECEK, R.A. Acácia negra. **Embrapa – CNPF, Instrução Técnica**, v. 5, 1999.

HUANG, X., KAKUDA, Y., CUI, W. Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 533-542, 2001.

HUNTER, R.J. **Zeta potential in colloid science**. London, Academic Press, 1981.

IDRIS, O.H.M., WILLIAMS, P.A., PHILLIPS, G.O. Characterization of gum from Acacia senegal trees of different age and location using multidetection gel permeation chromatography. **Food Hydrocolloids**, v. 12, p. 378-388, 1998.

IGUCHI, M., YAMANAKA, S., BUDHIONO, A. Review Bacterial cellulose—a masterpiece of nature's arts. **Journal of materials science**, v. 35, p. 261– 270, 2000.

IMESON, A. Exudate gums. In: IMESON, A. **Thickening and gelling agents for food**. Chapman and Hall, London, p. 66-97, 1992.

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.

JONES, M.C., LEROUX, J.C. Polymeric micelles – a new generation of colloidal drug carriers. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 48, p.101-111, 1999.

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.

KIM, J., CAI, Z., LEE, H.S., CHOI, G.S., LEE, D.H., JO, C. Preparation and characterization of bacterial cellulose/chitosan composite for potential biomedical application. **Journal of Polymer Research**, v. 18, p. 739-744, 2011.

KLEMM, D., SCHUMANN, D., UDHARDT, U., MARSCH, S. Bacterial synthesized cellulose – artificial blood vessels for microsurgery. **Progress in Polymer Science**, v. 26, n. 9, p. 1561-1603, 2001.

KLEMM, D., HEUBLEIN, B., FINK, H.P., BOHN, A. Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, p. 3358-3393, 2005.

KOHLBRECHER, J. **SASfit**: A program for fitting simple structural models to small angle scattering data, 2006. Disponível em <<http://kur.web.psi.ch/sans1/SANSSoft/sasfit.html>>.

KOIZUMI, S., YUE, Z., TOMITA, Y., KONDO, T., IWASE, H., YAMAGUCHI, D., HASHIMOTO, T. Bacterium organizes hierarchical amorphous structure in microbial cellulose. **The European Physical Journal E**, v. 26, p. 137-142, 2008.

KRYSTYNOWICZ, A., CZAJA, W., WIKTOROWSKA-JEZIERSKA, A., GONÇALVES-MISKIEWICZ, M., TURKIEWICZ, M., BIELECKI, S. Factors affecting the yield and properties of bacterial cellulose. **Journal of Industrial Microbiology e Biotechnology**, v. 29, p. 189-195, 2002.

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

LIU, S., LOW, N.H., NICKERSON, M.T. Entrapment of flaxseed oil within gelatin-gum Arabic capsules. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 87, p. 809-815, 2010.

MARTINS, R.M. de. **Estrutura dinâmica da interação de éteres de celulose com surfactantes**. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

MEER, W. Gum Arabic. In: DAVIDSON, R.L. **Handbook of water soluble gums and resins**. McGraw-Hill, New York, p. 8.1-8.24, 1980.

MEMBRACEL Produtos Tecnológicos LTDA. Disponível em: <<http://www.membracel.com.br/>>. Data de acesso: 28/01/2012.

MICROTRAC, Total solutions in particle characterization. Disponível em: <<http://www.microtrac.com/>>. Data de acesso: 28/01/2012.

MOTHÉ, 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.

MUÑOZ, J., RINCÓN, F., ALFARO, M.C., ZAPATA, I., FUENTE, J. de la, BELTRÁN, O., PINTO, G.L. de. Rheological properties and surface tension of Acacia tortuosa gum exudate aqueous dispersion. **Carbohydrate Polymers**, v. 70, p. 198-205, 2007.

MYERS, D. **Surfaces, Interfaces and Colloids – Principles and Applications**, 2.ed. Wiley-VCH, New York, 1999.

NEUMANN, M.G., SCHMITT, C.C., IMAZAKI, E.T. A fluorescence study of the interactions between sodium alginate and surfactants. **Carbohydrate Research**, v. 338, p. 1109-1113, 2003.

NISHI, Y., URYU, M., YAMANAKA, S., WATANABE, K., KITAMURA, K., IGUCHI, M., MITSUHASHI, S. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. 2. Improvement of the mechanical properties of sheets and their applicability to diaphragms of electroacoustic transducers. **Journal of Materials Science**, v. 25, p. 2997-3001, 1990.

OGUNNIYI, D.S. Castor oil: A vital industrial raw material. **Bioresource Technology**, v. 97, p.1086-1091, 2006.

OSMAN, M.E., WILLIAMS, P.A., MENZIES, A.R., PHILLIPS, G.O. Characterization of Commercial Samples of Gum Arabic. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, p. 71-77, 1993.

PATEL, U.D., SURESH, S. Complete dechlorination of pentachlorophenol using palladized bacterial cellulose in a rotating catalyst contact reactor. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 319, p. 462–469, 2008.

PETKOWICZ, C.L.O., SIERAKOWSKI, M.R., GANTER, J.L.M.S., REICHER, F. Galactomannans and arabinans from seeds of *Caesalpinaceae*. **Phytochemistry**, v.49, n. 3, p. 737-743, 1998.

PHILLIPS, G.O., WILLIAMS, P.A. **Handbook of Hydrocolloids**, CRC Press, USA, p. 155-168, 2000.

PICTON, L., BATAILLE, I., MULLER, G. Analysis of a complex polysaccharide (gum arabic) by multi-angle laser light scattering coupled on-line to size exclusion chromatography and flow field fractionation, **Carbohydrate Polymers**, v. 42, p. 23-31, 2000.

PITARELO, A.P. **Avaliação da susceptibilidade do bagaço e da palha de cana-de-açúcar à bioconversão via pré-tratamento a vapor e hidrólise enzimática**. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

QI, W., FONG, C., LAMPORT, D.T.A. Gum arabic glycoprotein is a twisted hairy rope. **Plant Physiology**, v. 96, p. 848-855, 1991.

QIPENG, G., SHIXIA, F., QINGYU, Z. Polyurethanes from 2,4-toluene diisocyanate and a mixture of castor oil and hydroxyether of bisphenol-A. **European Polymer Journal**, v. 26, p. 1177-1180, 1990.

QV, X-Y., ZENG, Z-P., JIANG, J-G. Preparation of lutein microencapsulation by complex coacervation method and its physicochemical properties and stability. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1596-1603, 2011.

RAMOS, L.P. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. **Química Nova**, v. 26, n. 6, p. 863-871, 2003.

RANDALL, R.C., PHILLIPS, G.O., WILLIAMS, P.A. Fractionation and characterization of gum from *Acacia senegal*. **Food Hydrocolloids**, v. 3, n. 1, p. 65-75, 1989.

RASBAND, W. Image J, Image Processing and Analysis in Java, 1997. Disponível em: <<http://rsbweb.nih.gov/ij/index.html>>.

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.

RODRIGUES, M.R., LIMA, A., CODOGNOTO, L., VILLAVERDE, A.B., PACHECO, M.T.T., OLIVEIRA, H.P.M. Detection of polymolecular associations in hydrophobized chitosan derivatives using fluorescent probes. **Journal of Fluorescence**, v. 18, p. 973-977, 2008.

ROSS, P., MAYER, R., BENZIMAN, M. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. **Microbiological Reviews**, v. 55, n. 1, p. 35-58, 1991.

SAIBUATONG, O., PHISALAPHONG, M. Novo aloe vera–bacterial cellulose composite film from biosynthesis. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 455-460, 2010.

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.

SANTA MARIA, L.C.; SANTOS, A.L.C.; OLIVEIRA, P.C., BARUD, H.A. Synthesis and characterization of silver nanoparticles impregnated into bacterial cellulose. **Materials Letters**, v. 63, p. 797-799, 2009.

SANTOS, A.F., GRIGOLETTI, A.J., AUER, C.G., SANTANA, D.L.Q. O complexo gomose da acácia–negra. **Circular Técnica**, v. 44, p. 65, 2001.

SCARPA, A., GUERCI, A. Various uses of the castor oil plant (*Ricinus communis* L.) – A review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 5, p. 117-137, 1982.

SCHNEIDER, P.R., TONINI, H. Utilização de variáveis dummy em equações de volume para *Acacia mearnsii* De Wild. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 13, n. 2, 121-129, 2003.

SETYAWATI, M.I. **Genetically Engineered Acetobacter xylinum: Bacterial cellulose and self immobilized cell system production**. Dissertação. NTUST, Taiwan, 2007.

SHIBAZAKI, H., KUGA, S., ONABE, F., USUDA, M. Bacterial cellulose membrane as separation médium. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 50, p. 965-969, 1993.

SILVA, N.L. da, BATISTELLA, C.B., FILHO, R.M., MACIEL, M.R.W. Biodiesel production from castor oil: Optimization of alkaline ethanolysis. **Energy fuels**, v. 23, p. 5636-5642, 2009.

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.

STREET, C.A., ANDERSON, D.M.W. Refinement of structures previously proposed for gum Arabic and other Acacia gum exudates. **Talanta**, v. 30, n. 11, p. 887-893, 1983.

STRIBECK, N. **X-Ray Scattering of Soft Matter**. Springer, New York, 2007.

SVENSSON, A., NICKLASSON, E., HARRAH, T., PANILAITIS, B., KAPLAN, D.L., BRITTBURG, M., GATENHOLM, P. Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage. **Biomaterials**, v. 26, p. 419–431, 2005.

TISCHER, C.A., GORIN, P.A.J., IACOMINI, M. The free reducing oligosaccharides of gum arabic: aids for structural assignments in the polysaccharide. **Carbohydrate Polymers**, v. 47, p. 151-158, 2002.

TONIETTO, L., STEIN, P.P. Silvicultura da acácia negra (*Acacia mearnsii* De Wild) no Brasil. **Florestar Estatístico**, v. 4, n. 12, p. 11-16, 1997.

VANDAMME, E.J., DE BAETS, S., VANBAELEN, A., JORIS, K., DE WULF T.P. Improved production of bacterial cellulose and its application potential. **Polymer Degradation and Stability**, v. 59, p. 93-99, 1998.

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

WANG, W., LIU, X., XIE, Y., ZHANG, H., YU, W., XIONG, Y., XIE, W., MA, X. Microencapsulation using natural polysaccharides for drug delivery and cell implantation. **Journal of Materials Chemistry**, v. 16, p. 3252–3267, 2006.

WHISTLER, R.L. **Industrial Gums, Polysaccharides and their derivatives**, 3<sup>rd</sup>. ed., Academic Press, San Diego, p. 309-318, 1993.

WINNIK, F.M., REGISMOND, S.T.A. Fluorescence methods in the study of the interactions of surfactants with polymers. **Colloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 118, p. 1-39, 1996.

WOLFROM, M.L., THOMPSON, A. Reduction with sodium borohydride. In: WHISTLER, R.L.; WOLFROM, M.L. (eds.). **Methods in Carbohydrate Chemistry**, New York, p. 65-68, 1963(a).

WOLFROM, M.L., THOMPSON, A. Acetylation. In: WHISTLER, R.L.; WOLFROM, M.L. (eds.). **Methods in Carbohydrate Chemistry**, New York, p. 211-215, 1963(b).

YADAV, M.P., IGARTUBURU, M., YAN, Y., NOTHNAGEL E.A. Chemical investigation of the structural basis of the emulsifying activity of gum arabic. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 297-308, 2007.

YANG, L., ZHANG, L.M. Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, p. 349–361, 2009.

ZHANG, H.Y., SHAN, G., LIU, H., XING, J. Surface modification of  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nano-particles with gum arabic and its applications in adsorption and biodesulfurization. **Surface & Coatings Technology**, v. 201, p. 6917–6921, 2007.