



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro de Tecnologia e Ciências

Instituto de Química

Flavio Silva de Souza

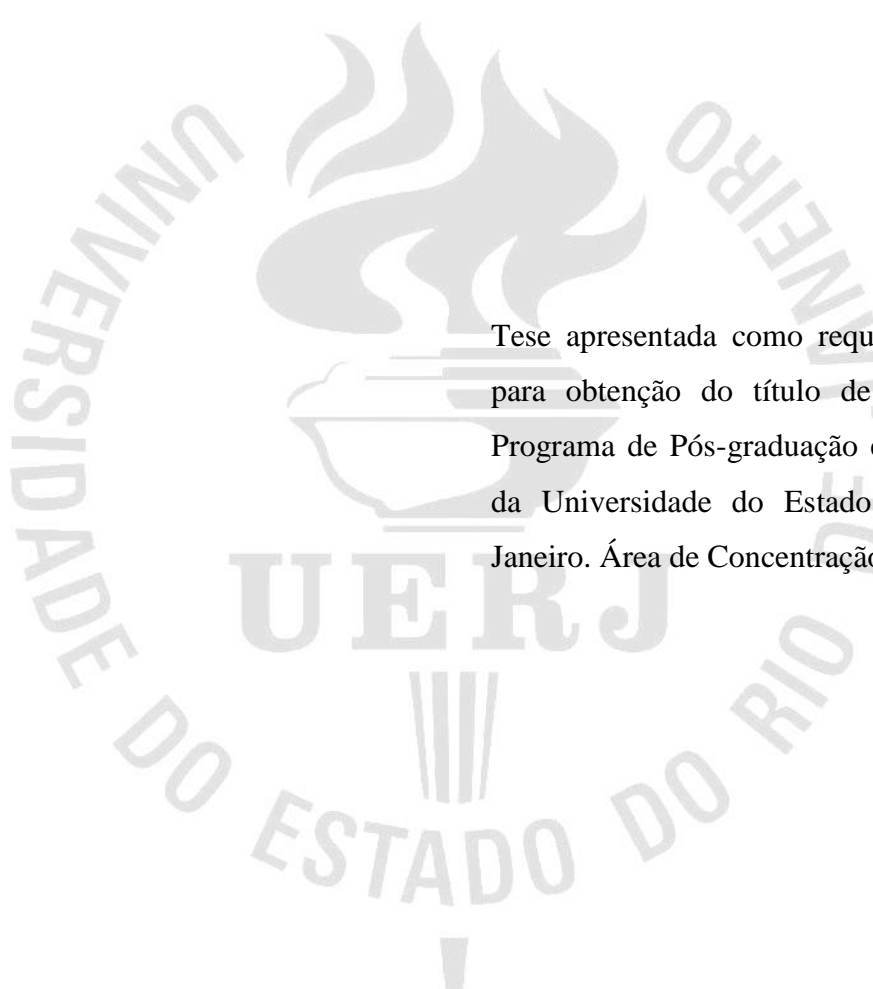
**Hidrogéis superabsorventes à base de gelanas desacetilada e altamente
acetilada preparados por diferentes métodos**

Rio de Janeiro

2017

Flavio Silva de Souza

**Hidrogéis superabsorventes à base de gelanas desacetilada e altamente acetilada
preparados por diferentes métodos**



Tese apresentada como requisito parcial,
para obtenção do título de Doutor, ao
Programa de Pós-graduação em Química,
da Universidade do Estado do Rio de
Janeiro. Área de Concentração: Polímeros

Orientadora: Prof.^a Dra. Ivana Lourenço de Mello Ferreira

Coorientador: Prof. Dr. Marcos Antonio da Silva Costa

Rio de Janeiro

2017

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CTC/Q

S729 Souza, Flavio Silva de

Hidrogéis superabsorventes à base de gelanas desacetilada e altamente acetilada preparados por diferentes métodos. /Flavio Silva de Souza. – 2017.

193 f.

Orientador: Ivana Lourenço de Mello Ferreira
Co-orientador: Marcos Antonio da Silva Costa

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Química.

1. Hidrogel- Teses. 2. Caracterização – Teses. I. Ferreira, Ivana Lourenço de Mello II. Costa, Marcos Antonio da Silva III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Química. IV. Título.

CDU 544.773.432

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese.

Assinatura

Data

Flavio Silva de Souza

**Hidrogéis superabsorventes à base de gelanas desacetilada e altamente acetilada
preparados por diferentes métodos**

Tese apresentada como requisito parcial,
para obtenção do título de Doutor, ao
Programa de Pós-graduação em Química,
da Universidade do Estado do Rio de
Janeiro. Área de Concentração: Polímeros

Aprovado em 01 de novembro de 2017.

Banca Examinadora:

Prof. Dra. Ivana Lourenço de Mello Ferreira (Orientadora)
Instituto de Química - UERJ

Prof. Dr. Marcos Antonio da Silva Costa (Coorientador)
Instituto de Química - UERJ

Prof. Dr. Alcino Palermo de Aguiar
Departamento de Engenharia Química - IME

Prof. Dr. Edwin Gonzalo Azero Rojas
Instituto de Biocências - UNIRIO

Prof. Dra. Viviane Gomes Teixeira
Instituto de Química - UFRJ

Prof. Dra. Marcia Cerqueira Delpech
Instituto de Química - UERJ.

Rio de Janeiro

2017

DEDICATÓRIA

À minha mãe, minha maior incentivadora, que me ensinou a perseguir meus objetivos através dos estudos e do respeito ao próximo.

À minha esposa Monica e a meus filhos Letícia e Miguel pelo amor, carinho, compreensão e auxílio em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar o discernimento necessário para a elaboração deste trabalho.

Aos meus orientadores e amigos Prof^a Dra. Ivana Lourenço de Mello Ferreira e Prof. Dr. Marcos Antonio da Silva Costa por toda dedicação e apoio durante o período de trabalho.

Às químicas do Laboratório de Caracterização Instrumental Rita Maria Pinho Sá pelas análises de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e Mônica Machado da Silva pelas análises de termogravimetria (TG).

Aos amigos Isaac Mallet, Elisson Brum, Felipe Linhares e Thiago Correia pelas análises de Microscopia eletrônica de varredura, comportamento reológico e resistência à compressão.

Às amigas do Laboratório de Polímeros Márcia Parente e Fabiana Almeida e ao amigo Juan Carlos pela amizade e por todos os momentos de descontração que fizeram com que a execução desse trabalho parecesse ser mais rápido do que realmente foi.

A Teadit, em especial aos amigos Gustavo Monteiro, Andria Gomes e Beatriz de Moraes Silva pelas análises de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e termogravimetria (TG).

Só nos tornamos bons quando fazemos os outros melhores

Autor desconhecido

RESUMO

SOUZA, F. S. *Hidrogéis superabsorventes à base de gelanas desacetilada e altamente acetilada preparados por diferentes métodos*. 2017. 191f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

O objetivo desse estudo foi à preparação e caracterização de hidrogéis de gelana nas formas desacetilada e altamente acetilada, sozinhos ou misturados. Diferentes metodologias de preparo dos hidrogéis foram avaliadas, variando-se as condições reacionais (pH, temperatura e agente reticulante). As amostras foram caracterizadas por termogravimetria (TG), espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) acoplada a um elemento de reflexão total atenuada (ATR), microscopia eletrônica de varredura (SEM), ensaios de resistência à compressão, espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^{13}C no estado sólido (NMR), grau de intumescimento e ensaio reológico. Os resultados de inchamento mostraram que os hidrogéis produzidos podem ser classificados como materiais superabsorventes, sendo que os maiores intumescimentos foram obtidos com as amostras preparadas com a gelana altamente acetilada (HA) em pH ácido e nas misturas que apresentavam maior proporção desse tipo de gelana. O hidrogel escolhido para uma possível aplicação em condicionamento de solos ou liberação controlada de herbicidas foi preparado com a mistura das gelanas na proporção 30:70 (LA:HA), na concentração total de polissacarídeos de 1,0 % (m/v), em pH 4. Por meio das micrografias de SEM foi possível verificar que a morfologia das amostras apresentou-se bastante diferenciada, conforme se variou o pH, a temperatura e o agente reticulante. Os espectros de infravermelho apresentaram as bandas de absorção características de cada gelana, sendo que as mesmas foram deslocadas de acordo com a formação de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares entre as cadeias de gelana. Os ensaios reológicos mostraram que todos os hidrogéis a 25°C, independente do tipo de gelana e do pH, apresentaram histerese, comportamento típico de fluidos tixotrópicos. Além disso, as amostras, também, apresentaram redução da viscosidade com o aumento da taxa de deformação, típico de fluidos não newtonianos pseudoplásticos. Os resultados obtidos nesta Tese sugerem a possibilidade de os hidrogéis preparados serem utilizados em aplicações específicas voltadas para a área da agricultura, como irrigação e liberação controlada de insumos agrícolas.

Palavras-chave: Hidrogel. Gelana desacetilada. Gelana altamente acetilada. Mecanismo de reticulação. Superabsorvente. Propriedades térmicas. Compressão

ABSTRACT

SOUZA, F. S. *Superabsorbent hydrogels made from deacetylated and highly acetylated gellan gums prepared by different methods*. 2017. 191f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

The objective of this study was to preparation and characterization of hydrogels from gellan gum in the deacetylated and highly acetylated forms. Different methods to prepare the hydrogels were tested, varying the reaction conditions (pH, temperature and crosslinker). The samples were characterized by thermogravimetric analysis (TG), Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) together with attenuated total reflectance (ATR), scanning electron microscopy (SEM), compression strength tests, solid-state ^{13}C nuclear magnetic resonance (NMR), swelling tests and rheological assays. The swelling results showed that the hydrogels could be classified as superabsorbent, with the largest swelling degrees being obtained with the samples prepared with highly acetylated gellan (HA) at acidic pH and in mixtures that contained the highest proportion of this type of gellan. The hydrogel chosen for the possible application in soil conditioning or controlled release in herbicides was prepared with a mixture of gellans in the proportion of 30:70 (LA:HA), with total polysaccharide concentration of 1.0% (m/v), at pH 4. The SEM images revealed that the morphology of the samples was highly differentiated, according to the variation of pH, temperature and crosslinker. The FTIR spectra presented absorption bands characteristic of each gellan type, and they were shifted according to the formation of intra and intermolecular hydrogen bonds between the gellan chains. The rheological assays showed that all the hydrogels at 25 °C, irrespective of gellan type and pH, presented hysteresis, typical behavior of thixotropic fluids. Besides this, the viscosity of the samples declined with increasing deformation rate, typical of non-Newtonian pseudoplastic fluids. The results obtained suggest the possibility of using the hydrogels studied in specific applications in the agricultural area, such as irrigation and controlled release of agricultural inputs.

Keywords: Hydrogel, deacetylated gellan, highly acetylated gellan, crosslinking mechanism, superabsorbent, thermal properties, compression

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Estruturas representativas de hidrogéis químicos e físicos	24
Figura 2 -	Fórmula estrutural da molécula da gelana desacetilada e da gelana nativa ou altamente acetilada.....	29
Figura 3 -	Representação esquemática do processo de transição conformacional da gelana.....	31
Figura 4 -	Fluxograma do preparo de hidrogéis variando-se o pH a 25°C com adição de reticulante após o aquecimento pelo método LA preliminar I.....	37
Figura 5 -	Fluxograma do preparo de hidrogéis variando-se o pH a 60°C com adição de reticulante após aquecimento pelo método LA preliminar II.....	38
Figura 6 -	Fluxograma do preparo de hidrogéis variando-se o pH a 25°C sem adição de reticulante pelo método LA I.....	39
Figura 7 -	Fluxograma do preparo de hidrogéis a 85°C sem adição de reticulante pelo método LA II.....	40
Figura 8 -	Fluxograma do preparo de hidrogéis com diferentes reticulantes (KCl e CaCl ₂) em pH natural, pelo método HA I.....	42
Figura 9 -	Fluxograma do preparo de hidrogéis variando-se o pH, pelo método HA II.....	43
Figura 10 -	Fluxograma do preparo de hidrogéis com ajuste do pH antes da adição do agente reticulante CaCl ₂ , pelo método HA III.....	44
Figura 11 -	Fluxograma do preparo de hidrogéis com ajuste do pH após a adição do agente reticulante CaCl ₂ pelo método HA IV.....	45
Figura 12 -	Fluxograma do preparo de hidrogéis da mistura das gelanas com a adição do agente reticulante CaCl ₂ pelo método LA/HA I.....	47
Figura 13 -	Fluxograma do preparo de hidrogéis da mistura das gelanas com variação de pH pelo método LA/HA II.....	48
Figura 14 -	Espectro de FTIR da gelana desacetilada pura (LA) e da gelana altamente acetilada (HA).....	53
Figura 15 -	Curvas de TG e DTG da gelana desacetilada (Kelcogel F) e	55

	gelana altamente acetilada (Kelcogel LT 100).....	
Figura 16 -	Espectro de NMR de ^{13}C da gelana desacetilada.....	56
Figura 17 -	Espectro de NMR de ^{13}C da gelana altamente acetilada.....	57
Figura 18 -	Espectros de FTIR das amostras de hidrogéis preparadas pelo método LA preliminar I (concentração de gelana: 0,25 % m/v)....	60
Figura 19 -	Espectros de FTIR das amostras de hidrogéis preparadas pelo método LA preliminar I: (a) todas as amostras; (b) detalhe dos espectros na região entre 1900 e 1200 cm^{-1} das amostras com pH = 3, 4 e 8. (Dado: Solução de gelana a 0,5 % m/v).....	62
Figura 20 -	Fotografia digital da amostra de hidrogel preparada pelo método LA preliminar I, na concentração de gelana 0,5 % m/v e pH = 3 (sem adição de reticulante)	63
Figura 21 -	Espectro de FTIR da amostra de hidrogel preparada pelo método LA preliminar I. Dado: Solução de gelana a 1,0 % m/v.....	64
Figura 22 -	Grau de intumescimento (Q) das amostras de hidrogel preparadas pelo método LA preliminar I, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a) e 0,5 (b)	65
Figura 23 -	Curvas de TG dos hidrogéis preparados pelo método LA preliminar I, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b) e 1,0 (c)	66
Figura 24 -	Micrografias de SEM dos hidrogéis preparados pelo método LA preliminar I, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a) e 0,5 (b).....	69
Figura 25 -	Espectros de FTIR das amostras preparadas pelo método LA preliminar II, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b) e 1,0 (c).....	73
Figura 26 -	Grau de intumescimento (Q) das amostras preparadas pelo método LA preliminar II, utilizando solução de gelana nas concentrações (%m/v): 0,25 (a); 0,5 (b) e 1,0 (c).....	76
Figura 27 -	Curvas de TG dos hidrogéis preparados pelo método LA preliminar II, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b) e 1,0 (c).....	78
Figura 28 -	Micrografia eletrônica de varredura dos hidrogéis preparados	80

	pele método LA preliminar II, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b)	
Figura 29 -	Micrografia eletrônica de varredura dos hidrogéis preparados pelo método LA preliminar II, utilizando solução de gelana na concentração de 1,0% (m/v)	81
Figura 30 -	Grau de intumescimento (Q) dos hidrogéis preparados em diferentes valores de pH, a temperatura de 25°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): (a) 0,25 e (b) 0,5).....	83
Figura 31 -	Micrografias de microscopia eletrônica de varredura dos hidrogéis preparados variando-se o pH a temperatura de 25°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a) e 0,5 (b)	85
Figura 32 -	Curvas de FTIR dos hidrogéis preparados em diferentes valores de pH, a temperatura de 25°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): (a) 0,25 e (b) 0,5.....	86
Figura 33 -	Curvas de TG dos hidrogéis preparados em diferentes valores de pH, a temperatura de 25°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): (a) 0,25 e (b) 0,5...	88
Figura 34 -	Curvas de força versus deformação dos hidrogéis preparados variando-se o pH a temperatura de 25°C sem adição de reticulante.....	90
Figura 35 -	Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 3 em diferentes temperaturas.....	91
Figura 36 -	Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 3 em diferentes temperaturas.....	93
Figura 37 -	Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 5 em diferentes temperaturas.....	93
Figura 38 -	Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis	94

	preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 5 em diferentes temperaturas.....	
Figura 39 -	Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 8 em diferentes temperaturas.....	94
Figura 40 -	Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 8 em diferentes temperaturas.....	95
Figura 41 -	Curvas de FTIR dos hidrogéis preparados variando-se o pH a temperatura de 85°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana na concentração de 0,5% (m/v)	97
Figura 42 -	Curvas de FTIR dos hidrogéis preparados variando-se o pH a temperatura de 85°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana na concentração de 1,0% (m/v)	98
Figura 43 -	Grau de intumescimento (Q) dos hidrogéis preparados variando-se o pH a temperatura de 85°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,5 (a); 1,0 (b)	99
Figura 44 -	Micrografias de microscopia eletrônica de varredura dos hidrogéis preparados variando-se o pH a temperatura de 85°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,5 (a) e 1,0 (b)	100
Figura 45 -	Curvas de TG dos hidrogéis preparados variando-se o pH a temperatura de 85°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,5 (a) e 1,0 (b)	101
Figura 46 -	Curvas de força versus deformação dos hidrogéis preparados variando-se o pH a temperatura de 85°C sem adição de reticulante.....	103
Figura 47 -	Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 3 em diferentes temperaturas.....	104
Figura 48 -	Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 3 em diferentes	104

	temperaturas.....	
Figura 49 -	Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 5 em diferentes temperaturas.....	105
Figura 50 -	Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 5 em diferentes temperaturas.....	106
Figura 51 -	Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 8 em diferentes temperaturas.....	107
Figura 52 -	Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 8 em diferentes temperaturas.....	107
Figura 53 -	Estrutura molecular de gelana altamente acetilada (gelana HA)....	109
Figura 54 -	Curvas de FTIR dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com os reticulantes CaCl ₂ (a) e KCl (b), nas concentrações de gelana de 0,25, 0,5 e 1,0 (% m/v).....	111
Figura 55 -	Grau de intumescimento (Q) dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados variando-se o agente reticulante (Ca ²⁺ ou K ⁺), utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25; 0,5 e 1,0.....	112
Figura 56 -	Curvas de TG dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados variando-se o agente reticulante (Ca ²⁺ ou K ⁺), utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b) e 1,0 (c)...	114
Figura 57 -	Micrografias de SEM dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados variando-se o agente reticulante (Ca ²⁺ ou K ⁺), utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b); 1,0 (c).....	117
Figura 58 -	Espectro de FTIR do hidrogel à base de gelana HA, preparado em pH 4 com concentração de gelana de 0,25% (m/v)	119
Figura 59 -	Espectros de FTIR dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com diferentes valores de pH com concentração de gelana de 0,5 % (m/v)	120

Figura 60 - Espectros de FTIR dos hidrogéis à base de HA, preparados com diferentes valores de pH: (a) espectro de 400 a 4000 cm^{-1} ; (b) detalhe dos espectros na região entre 700 e 1800 cm^{-1} (Dado: solução de gelana = 1,0 % m/v)	121
Figura 61 - Grau de intumescimento (Q) dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados variando-se o pH, utilizando solução de gelana nas concentrações (m/v): 0,25% (a), 0,5% (b) e 1,0% (c).....	122
Figura 62 - Curvas de TG dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados variando-se o pH, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a) 0,5 (b), 1,0 (c)	125
Figura 63 - Micrografias de SEM dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados variando-se o pH, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b); 1,0 (c)	127
Figura 64 - Curvas de força versus deformação dos hidrogéis à base de gelana HA preparados variando-se o pH, utilizando solução de gelana em diferentes concentrações (0,25; 0,5 e 1,0 % m/v)	128
Figura 65 - Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 3 em diferentes temperaturas.....	129
Figura 66 - Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 3 em diferentes temperaturas.....	130
Figura 67 - Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 5 em diferentes temperaturas.....	131
Figura 68 - Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 5 em diferentes temperaturas.....	131
Figura 69 - Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 5 em diferentes temperaturas.....	132
Figura 70 - Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis	132

	preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 5 em diferentes temperaturas.....	
Figura 71 -	Espectros de FTIR dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH antes da adição do reticulante CaCl ₂ , utilizando solução de gelana a 0,25% (m/v)	135
Figura 72 -	Espectros de FTIR dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH antes da adição do reticulante CaCl ₂ : (a) espectro de 400 a 4000 cm ⁻¹ ; (b) detalhe dos espectros na região entre 700 e 1800 cm ⁻¹ (Dado: solução de gelana = 0,5 % m/v)	136
Figura 73 -	Espectros de FTIR dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH antes da adição do reticulante CaCl ₂ , utilizando solução de gelana a 1,0% (m/v)	137
Figura 74 -	Grau de intumescimento (Q) do hidrogel à base de gelana HA, preparados com acerto de pH antes da adição do reticulante CaCl ₂ , utilizando solução de gelana nas concentrações (m/v): 0,25% (a), 0,5% (b) e 1,0% (c)	138
Figura 75 -	Curvas de TG dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH antes da adição do reticulante CaCl ₂ , utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b) e 1,0 (c)	140
Figura 76 -	Micrografias de SEM dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH antes da adição do reticulante CaCl ₂ , utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b); 1,0 (c)	142
Figura 77 -	Curvas de força <i>versus</i> deformação dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH antes da adição do reticulante CaCl ₂ , utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25; 0,5 e 1,0.....	143
Figura 78 -	Espectros de FTIR dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH após a adição do reticulante CaCl ₂ , utilizando solução de gelana a 0,25 % (m/v)	145
Figura 79 -	Espectros de FTIR dos hidrogéis à base de gelana HA,	146

	preparados com acerto de pH após a adição do reticulante CaCl ₂ , utilizando solução de gelana a 0,5 % (m/v)	
Figura 80 -	Espectros de FTIR dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH após a adição do reticulante CaCl ₂ : (a) espectro de 400 a 4000 cm ⁻¹ ; (b) detalhe dos espectros na região entre 1100 e 1900 cm ⁻¹ (Dado: solução de gelana = 1,0 % m/v).....	147
Figura 81 -	Grau de intumescimento (Q) dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH após a adição do reticulante CaCl ₂ , utilizando solução de gelana nas concentrações (m/v): 0,25% (a), 0,5% (b) e 1,0% (c)	148
Figura 82 -	Curvas de TG dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH após a adição do reticulante CaCl ₂ , utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b); 1,0 (c)	150
Figura 83 -	Micrografias de SEM dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH após a adição do reticulante CaCl ₂ , utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b); 1,0 (c)	151
Figura 84 -	Curvas força versus deformação dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH após a adição do reticulante CaCl ₂ , utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25; 0,5; 1,0.	152
Figura 85 -	Curvas de FTIR dos hidrogéis preparados com a mistura das gelanas e adição de reticulante CaCl ₂ nas concentrações (m/v): 0,25% (a), 0,5% (b) e 1,0% (c)	156
Figura 86 -	Grau de intumescimento (Q) dos hidrogéis preparados com a mistura das gelanas e adição do reticulante CaCl ₂ , nas concentrações de gelana (m/v): 0,25% (a), 0,5% (b) e 1,0% (c)....	158
Figura 87 -	Micrografias de SEM dos hidrogéis preparados com a mistura das gelanas e adição do reticulante CaCl ₂ , utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b); 1,0 (c).....	161
Figura 88 -	Curvas força versus deformação dos hidrogéis preparados com a	163

	mistura das gelanas e adição do reticulante CaCl ₂ , utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25; 0,5 e 1,0.....	
Figura 89 -	Espectro de NMR de ¹³ C da amostra 1[LA:HA] 30:70.....	164
Figura 90 -	Espectro de NMR de ¹³ C da amostra 1[LA:HA] 50:50.....	165
Figura 91 -	Curvas de FTIR dos hidrogéis preparados com a mistura das gelanas e variação de pH: pH 3 (a), pH 4 (b) e pH 8 (c)	169
Figura 92 -	Grau de intumescimento (Q) dos hidrogéis preparados com a mistura das gelanas e variação de pH: pH 3 (a), pH 4 (b) e pH 8 (c).....	171
Figura 93 -	Micrografias de SEM dos hidrogéis preparados com a mistura das gelanas na proporção: (a) LA:HA 30:70; (b) LA:HA 50:50 e (c) LA:HA 70:30 (Dados: pH 3, concentração de gelana = 1,0% (m/v), com aumento de 50X)	174
Figura 94 -	Micrografias de SEM dos hidrogéis preparados com a mistura das gelanas na proporção: (a) LA:HA 30:70; (b) LA:HA 50:50 e (c) LA:HA 70:30 (Dados: pH 4, concentração de gelana = 1,0% (m/v), aumento de 50X)	175
Figura 95 -	Micrografias de SEM dos hidrogéis preparados com a mistura das gelanas na proporção: (a) LA:HA 30:70; (b) LA:HA 50:50 e (c) LA:HA 70:30 (Dados: pH 8, concentração de gelana = 1,0% (m/v), aumento de 50X)	175
Figura 96 -	Curvas de força versus deformação dos hidrogéis preparados com a mistura das gelanas e variação de pH.....	176
Figura 97 -	Espectro de NMR de ¹³ C da amostra 1[LA:HA] 70:30 pH 8.....	177
Figura 98 -	Espectro de NMR de ¹³ C da amostra 1[LA:HA] 50:50 pH 8.....	179

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Variáveis da reação de reticulação	41
Tabela 2	Deslocamentos químicos e área dos principais sinais do espectro da gelana desacetilada	56
Tabela 3	Deslocamentos químicos e área dos principais sinais do espectro da gelana altamente acetilada	58
Tabela 4	Valores de grau de intumescimento (Q) e temperatura inicial de decomposição (T_{onset}) para os hidrogéis obtidos pela variação do pH a temperatura de 25°C com adição de reticulante após aquecimento	70
Tabela 5	Valores de grau de intumescimento (Q) e temperatura inicial de decomposição para os hidrogéis obtidos pela variação do pH a temperatura de 60°C com adição de reticulante após aquecimento	81
Tabela 6	Valores de grau de intumescimento (Q), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão (σ_{max}) para os hidrogéis obtidos pela variação do pH a temperatura de 25°C sem adição de reticulante	95
Tabela 7	Valores de grau de intumescimento (Q), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão (σ_{max}) para os hidrogéis obtidos pela variação do pH a temperatura de 85°C sem adição de reticulante	108
Tabela 8	Valores de grau de intumescimento (Q) e temperatura inicial de decomposição (T_{onset}) para os hidrogéis obtidos no estudo dos reticulantes em pH natural	118
Tabela 9	Valores de grau de intumescimento (Q), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão (σ_{max}) para os hidrogéis obtidos no estudo da variação do pH	133

Tabela 10	Valores de grau de intumescimento (Q), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão (σ_{max}) para os hidrogéis obtidos no estudo do acerto do pH antes da adição do reticulante divalente $CaCl_2$	143
Tabela 11	Valores de grau de intumescimento (Q), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão (σ_{max}) para os hidrogéis obtidos no estudo do acerto do pH após a adição do reticulante divalente $CaCl_2$	153
Tabela 12	Valores das temperaturas de decomposição da mistura de gelanas na concentração de 0,25%	159
Tabela 13	Valores das temperaturas de decomposição da mistura de gelanas na concentração de 0,5%	160
Tabela 14	Valores das temperaturas de decomposição da mistura de gelanas na concentração de 1,0%	160
Tabela 15	Deslocamentos químicos e áreas dos principais picos do espectro da amostra 1[LA:HA] 30:70.	164
Tabela 16	Deslocamentos químicos e áreas dos principais picos do espectro da amostra 1[LA:HA] 50:50	165
Tabela 17	Valores de grau de intumescimento (Q), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão (σ_{max}) para os hidrogéis obtidos no estudo da adição do reticulante divalente $CaCl_2$	166
Tabela 18	Valores das temperaturas de decomposição da mistura de gelanas na concentração de 1,0% em pH 3	173
Tabela 19	Valores das temperaturas de decomposição da mistura de gelanas na concentração de 1,0% em pH 4	173
Tabela 20	Valores das temperaturas de decomposição da mistura de gelanas na concentração de 1,0% em pH 8	173
Tabela 21	Deslocamentos químicos e áreas dos principais picos do espectro da amostra 1[LA:HA] 70:30 pH 8	178
Tabela 22	Deslocamentos químicos e áreas dos principais picos do	179

espectro da amostra 1[LA:HA] 50:50 pH 8

Tabela 23

Valores de grau de intumescimento (Q), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão (σ_{max}) para os hidrogéis obtidos no estudo da variação do pH

180

SUMÁRIO

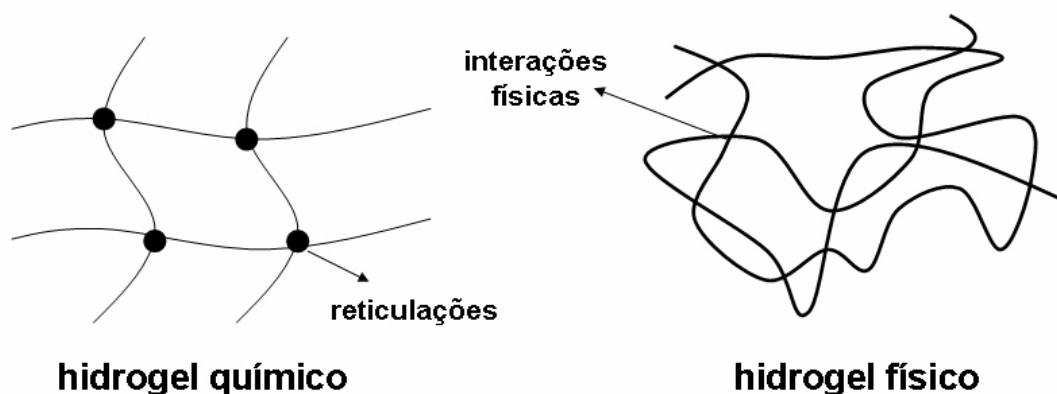
	INTRODUÇÃO	24
1	OBJETIVOS	27
1.1	Objetivos Específicos	27
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	28
3	MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.1	Produtos Químicos	34
3.2	Equipamentos	34
3.3	Procedimentos	35
3.3.1	<u>Caracterização das gelanas</u>	35
3.3.2	<u>Ensaio preliminares</u>	36
3.3.3	<u>Preparo dos hidrogéis de gelana desacetilada (LA)</u>	39
3.3.4	<u>Preparo de hidrogéis de gelana altamente acetilada (HA)</u>	41
3.3.5	<u>Preparo de hidrogéis da mistura das gelanas LA e HA</u>	45
3.3.6	<u>Caracterização dos hidrogéis</u>	48
3.3.6.1	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.....	49
3.3.6.2	Análise termogravimétrica (TG).....	49
3.3.6.3	Microscopia eletrônica de varredura (SEM).....	49
3.3.6.4	Grau de intumescimento (Q).....	49
3.3.6.5	Propriedades mecânicas – teste de compressão.....	50
3.3.6.6	Medidas reológicas – Regime não-oscilatório.....	51
3.3.6.7	Ressonância Magnética Nuclear (NMR) de ¹³ C no estado sólido.....	51
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1	Caracterização das gelanas puras	52
4.1.1	<u>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho</u>	52
4.1.2	<u>Espectrometria de absorção atômica (AAS)</u>	53
4.1.3	<u>Análise termogravimétrica (TG)</u>	54
4.1.4	<u>Ressonância magnética nuclear de ¹³C no estado sólido (NMR-CPMAS)</u>	55
4.2	Ensaio Preliminares	58
4.2.1	<u>Método LA preliminar I - Variação do pH a temperatura de 25°C com adição</u>	

	<u>de reticulante após aquecimento.....</u>	59
4.2.2	<u>Método LA preliminar II - Variação do pH a temperatura de 60°C com adição de reticulante após aquecimento.....</u>	71
4.3	Hidrogéis à base de gelana desacetilada (LA).....	82
4.3.1	<u>Método LA I - Variação do pH a temperatura de 25°C sem adição de reticulante.....</u>	82
4.3.2	<u>Método LA II - Variação do pH a temperatura de 85°C sem adição de reticulante.....</u>	96
4.4	Hidrogéis à base de gelana altamente acetilada (HA).....	100
4.4.1	<u>Método HA I - Estudo dos reticulantes em pH natural.....</u>	110
4.4.2	<u>Método HA II - Estudo da variação do pH.....</u>	118
4.4.3	<u>Método HA III - Estudo do acerto do pH antes da adição do reticulante divalente (CaCl₂).....</u>	134
4.4.4	<u>Método HA IV - Estudo do acerto do pH após a adição do reticulante divalente (CaCl₂).....</u>	144
4.5	Mistura das gelanas desacetilada (LA) e altamente acetilada (HA)....	154
4.5.1	<u>Método LA/HA I: Estudo da adição do agente reticulante (CaCl₂).....</u>	154
4.5.2	<u>Método LA/HA II: Estudo da variação do pH.....</u>	166
	CONCLUSÕES.....	182
	REFERÊNCIAS.....	184
	APÊNDICE – Produção bibliográfica	193

INTRODUÇÃO

Hidrogéis constituem uma promissora classe de materiais poliméricos capazes de absorver grandes quantidades de água. São constituídos por uma ou mais redes poliméricas tridimensionais estruturadas, formadas por cadeias macromoleculares interligadas por ligações covalentes (reticulações) ou interações físicas (Figura 1) (OVIEDO et al., 2008; AOUADA, 2009; COUTINHO et al., 2010; GUILHERME et al., 2015; GYLES et al., 2017). No caso das reticulações obtidas via reações químicas formam-se ligações químicas covalentes entre as cadeias macromoleculares, geralmente através de algum agente reticulante, levando à formação de uma rede polimérica. No caso das reticulações físicas, ocorrem apenas interações físicas intra ou intermoleculares, como as forças de van der Waals e ligações de hidrogênio. Devido a isso, os hidrogéis apresentam características como hidrofiliicidade e insolubilidade. A hidrofiliicidade pode ser controlada pela natureza dos grupamentos presentes em suas cadeias, tais como: -OH, -COOH, entre outros. Já a insolubilidade é afetada diretamente pelo grau de entrelaçamento (interações físicas ou reticulações) das cadeias formadoras dos hidrogéis (NISHINARI et al., 2000; RINAUDO, 2001; AOUADA, 2009; GYLES et al., 2017).

Figura 1 - Estruturas representativas de hidrogéis químicos e físicos.



As reticulações na cadeia polimérica sejam de natureza física ou química alteram as propriedades físicas e químicas dos polímeros, bem como sua capacidade de absorção de água.

Como citado anteriormente, a absorção de água no interior da cadeia polimérica do hidrogel está relacionada à hidrofiliabilidade das cadeias poliméricas. Quando o hidrogel seco entra em contato com a água, os grupos hidrofílicos da estrutura polimérica são hidratados. Com a hidratação desses grupos, ocorre o aumento da estrutura polimérica. Esta expansão na estrutura e a consequente hidratação dos grupos no interior da matriz polimérica leva ao surgimento de um segundo tipo de interação das moléculas de água, mais fraca que a anterior, que ocorre com os grupos hidrofóbicos do polímero. Além desses dois tipos de interação da água no interior do hidrogel, ocorre um terceiro fenômeno relacionado à difusão osmótica entre as cadeias. Em oposição aos fenômenos relacionados à hidratação, existem forças covalentes e estruturais dos hidrogéis além das reticulações que mantêm sua estrutura tridimensional e lhe conferem característica elástica. Dessa forma, o equilíbrio entre as forças de absorção e retenção de água são balanceadas pelas forças de expansão da cadeia polimérica até que seja atingido o equilíbrio onde ocorre a máxima absorção de água (HOFFMAN, 2001; HOFFMAN, 2012; AHMED, 2015; GUILHERME et al., 2015; ULLAH et al., 2015).

Os hidrogéis podem ser sintetizados a partir de materiais naturais ou sintéticos. Os hidrogéis preparados a partir de polímeros naturais apresentam como principais vantagens a biocompatibilidade, biodegradabilidade e reconhecimento de moléculas biológicas, porém podem não apresentar propriedades mecânicas satisfatórias (AOUADA, 2009).

Devido à sua versatilidade e vantagens tecnológicas sobre outros materiais poliméricos, os hidrogéis têm sido aplicados em diferentes campos industriais, desde a medicina, engenharia e agricultura (AOUADA, 2009, CAMPOS et al., 2015; GUILHERME et al., 2015).

Polissacarídeos naturais como a gelatina são materiais com uso potencial na agricultura por apresentarem excelente hidrofiliabilidade (elevada capacidade de inchamento e elevada razão de inchamento), excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade. Devido ao baixo custo, abundância e não agredir o meio ambiente, os polissacarídeos são apontados como substitutos aos derivados de petróleo na produção de hidrogéis. Para a utilização em sistemas de liberação controlada, adicionam-se as propriedades listadas acima a atoxicidade, a variação de propriedades em função de estímulos externos (intensidade iônica e pH), alta hidratação em curto intervalo de tempo e capacidade de liberação prolongada/controlada de água e insumos agrícolas (AOUADA, 2009, CAMPOS et al., 2015; GUILHERME et al., 2015).

Como aplicações específicas dos hidrogéis relacionadas à agricultura destacam-se a liberação de nutrientes e o condicionamento de solos. Quando usados no solo, por exemplo, os hidrogéis atuam como reservatórios de água, liberando a água de forma controlada para o solo ou para as espécies vegetais (AOUADA, 2009, CAMPOS et al., 2015; GUILHERME et al., 2015).

Nesta Tese, escolheu-se o polissacarídeo gelana, em suas duas formas, desacetilada e altamente acetilada, para se preparar hidrogéis por diferentes métodos, variando-se os parâmetros reacionais, com o objetivo de se avaliar as propriedades de intumescimento, mecânicas e térmicas dos hidrogéis para potencial aplicação em condicionamento de solos.

1. OBJETIVOS

O objetivo geral desta Tese de Doutorado foi preparar e caracterizar hidrogéis à base do polissacarídeo gelana, em suas formas desacetilada e altamente acetilada, sozinhos ou misturados para potencial aplicação em condicionamento de solos.

1.1. Objetivos específicos

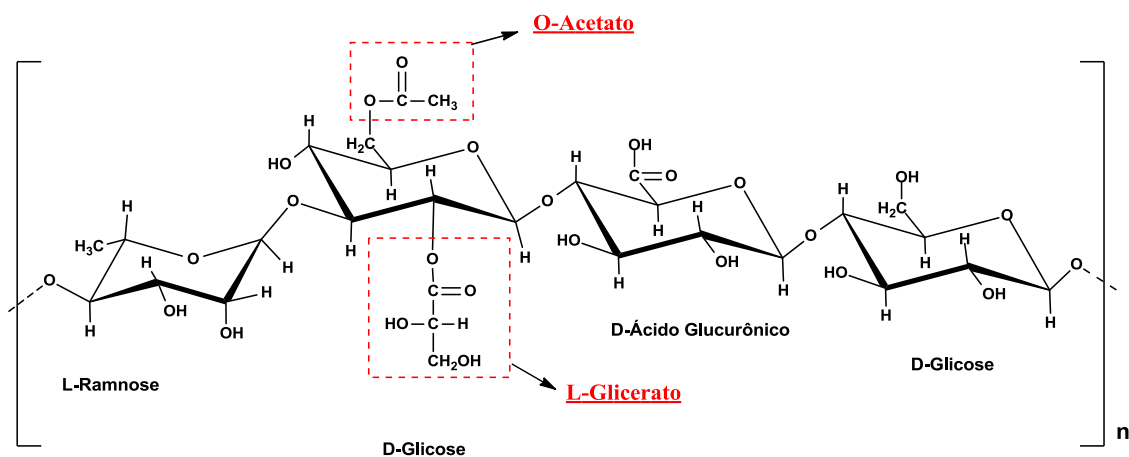
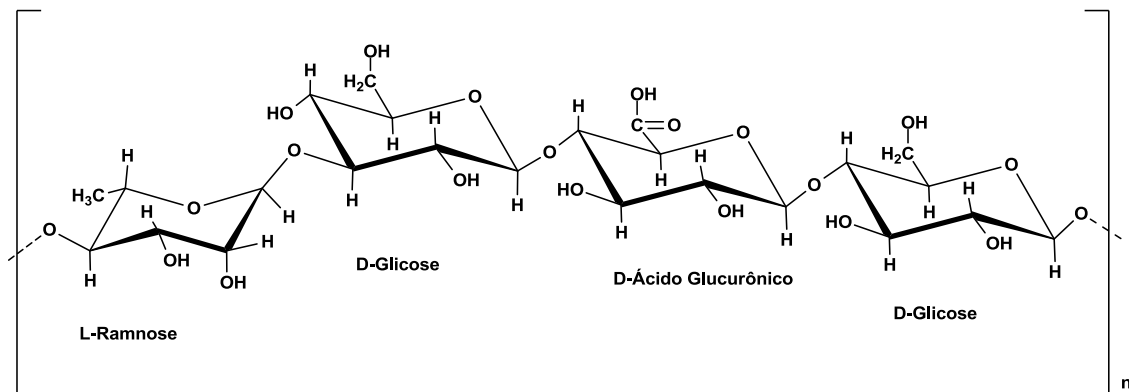
- Avaliar diferentes métodos de preparo de hidrogéis à base de gelana desacetilada (LA);
- Avaliar diferentes métodos de preparo de hidrogéis à base de gelana altamente acetilada (HA);
- Avaliar diferentes métodos de preparo de hidrogéis à base da mistura das gelanas LA e HA;
- Estudar a influência do pH sobre as propriedades dos hidrogéis;
- Estudar a influência da concentração da solução das gelanas sobre as propriedades dos hidrogéis;
- Estudar a influência da razão entre as gelanas sobre as propriedades dos hidrogéis;
- Estudar a influência da adição de reticulante monovalente e divalente sobre as propriedades dos hidrogéis;
- Estudar a influência da temperatura sobre as propriedades dos hidrogéis;

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A gelana é um polissacarídeo aniônico produzido pela bactéria extracelular, *Sphingomonas elodea*, também denominada *Auromonas elodea* ou *Pseudomonas elodea*. Possui estrutura molecular primária baseada em unidades repetidas de um tetrassacarídeo (β -1,3 D-glicose, β -1,4 D-ácido glucorônico, β -1,3 D-glicose, α -1,4-L-ramnose). A forma nativa excretada pela bactéria tem um grupo L-glicerato (-OOC-CHOH-CH₂OH) por unidade repetida e um O-acetato (-OOC-CH₃) a cada duas unidades e ambos estão localizados no C2 e C6 no mesmo resíduo de glicose. (OGAWA, 1993; TANG et al., 1994; OGAWA, 1996; TANG et al., 1996; TANG et al., 1998; LAU et al., 2001; BAYARRI et al., 2002; IKEDA et al., 2004; OGAWA et al., 2006; CAGGIONI et al., 2007; DAI et al., 2008; DAI et al., 2010; YANG et al., 2010; OKIROR; JONES, 2012; AGNELLO et al., 2017; CARDOSO et al., 2017; FAN et al., 2017; VILELA & CUNHA, 2017; WANG; WENG; BAI, 2017). A remoção desses grupos L-glicerato e O-acetato da gelana nativa, através de aquecimento em meio alcalino, dá origem a gelana desacetilada (Figura 2).

A presença do grupo acetato tem grande influência na característica do gel. A desacetilação da gelana nativa resulta na troca de géis macios, elásticos e termoreversíveis para géis duros, quebradiços e com elevada estabilidade térmica (UPSTILL et al., 1986; CAMELIN et al., 1993; QUINN et al., 1993; MILAS; RINAUDO, 1996; NAKAJIMA et al., 1996; TAKAHASHI et al., 2004; SINGH; KIM, 2005; PRADELLA, 2006; BAJAJ et al., 2007; GONÇALVES, 2007; MATRICARDI et al., 2009; COUTINHO et al., 2010; EVANGELIOU et al., 2010; MORRIS et al., 2012; OKIROR; JONES, 2012; MOHAMMED et al., 2015; GAO, 2016; SHARMA et al., 2017).

Figura 2 - Fórmula estrutural da molécula da gelana desacetilada e da gelana nativa ou altamente acetilada.



Fonte: O autor, 2017.

Em condições apropriadas, a gelana tem a capacidade de formar géis termorreversíveis e soluções aquosas altamente viscosas. O mecanismo de gelificação da gelana é considerado como um processo em duas etapas, sendo a primeira a formação de duplas hélices ordenadas (transição conformacional), seguida pela interação entre as hélices (transição sol-gel) (NISHINARI et al., 1996; OGAWA, 1996; OGAWA; MATSUZAKA; IWAHASHI, 2002; NICKERSON; PAULSON; SPEERS, 2003; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ et al., 2003; OGAWA et al., 2005; SINGH; KIM, 2005; BAJAJ et al., 2007; VERMA; PANDIT, 2011; MORRIS et al., 2012; OKIROR; JONES, 2012; ZHANG et al., 2014; EVANGELIOU; SALIARI, 2017; FAN et al., 2017).

Em solução aquosa, a gelana apresenta repulsão eletrostática intra e intermolecular entre seus grupos carboxílicos laterais, o que impede tanto a formação quanto a agregação das hélices para formação do gel (SINGH; KIM, 2005; PICONE; CUNHA, 2011).

Uma das maneiras de promover a agregação das hélices é a adição de sais à solução, onde os cátions irão neutralizar a repulsão eletrostática entre os grupos carboxílicos ionizados da gelana, reduzindo a dimensão da cadeia e promovendo a formação das duplas hélices pela associação de duas moléculas através de ligações de hidrogênio entre o ácido glucurônico de uma cadeia e a glicose e a ramnose de outra cadeia. Além disso, os cátions se ligam as superfícies das hélices individuais, reduzindo sua densidade de carga e diminuindo a barreira eletrostática para posterior agregação das hélices, formando zonas de junção através de pontes salinas. Interações secundárias, como ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals, ligam as cadeias às zonas de junção, o que resulta na gelificação macroscópica (YAMAMOTO, 2002; YAMAMOTO; CUNHA, 2007; PICONE, 2008; PICONE; CUNHA, 2011; MORRIS et al., 2012; KIRCHMAJER et al., 2014).

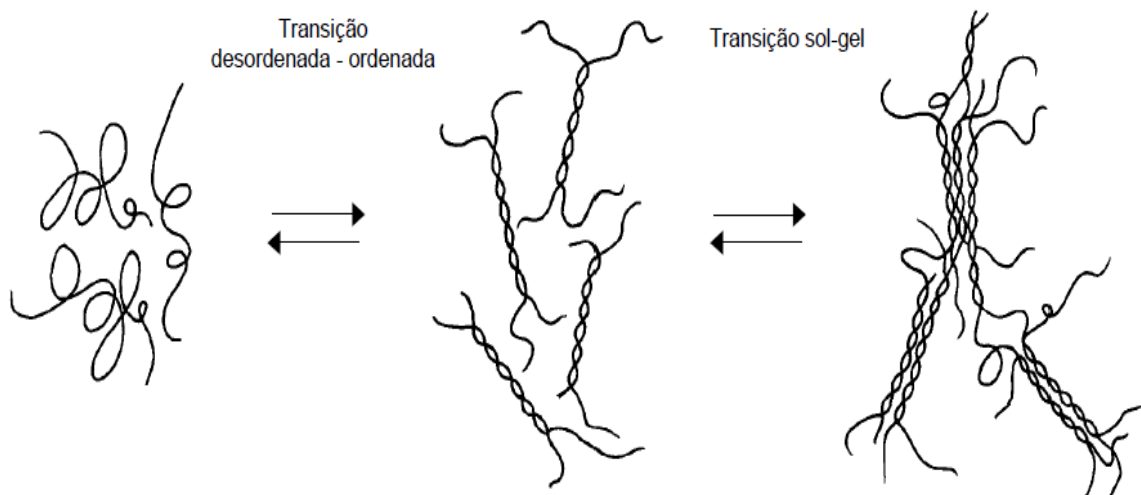
O tipo e a concentração do cátion também irão interferir na gelificação, já que o número de hélices agregadas deve ser suficiente para promover a transição sol-gel. Tanto cátions monovalentes como divalentes podem levar a formação de géis, porém cátions divalentes são mais efetivos, pois se ligam diretamente a rede tridimensional da gelana enquanto os cátions monovalentes se ligam de forma indireta (LAU; TANG, PAULSON, 2000; YAMAMOTO, 2002; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ et al., 2003; SINGH; KIM, 2005; OGAWA et al., 2006; YAMAMOTO; CUNHA, 2007; PICONE, 2008; TOTOSAUS; PÉREZ-CHABELA, 2009; PICONE; CUNHA, 2011; MORRIS et al., 2012). Os cátions divalentes, tais como Ca^{+2} , promovem a agregação pela ligação entre pares de grupos carboxila vizinhos (íons carboxilato— Ca^{+2} —íons carboxilato) enquanto que os íons monovalentes, como K^{+} , se ligam a superfície das hélices individuais de forma indireta (íons carboxilato — K^{+} — água — K^{+} — íons carboxilato) reduzindo, dessa forma, sua densidade de carga e a barreira eletrostática para agregação. Logo, na presença de cátions divalentes, cada ponte K^{+} — água — K^{+} será substituída por um cátion divalente Ca^{+2} , formando uma agregação mais efetiva (CHANDRASEKARAN; RADHA, 1995; MORRIS et al., 1996; HUANG, et al., 2003; FERRIS et al., 2013; GARCIA et al., 2015).

Outra forma de promover a gelificação da gelana é através da variação do pH, pela qual pode ocorrer a mudança na natureza aniônica das cadeias de gelana, determinada pela dissociação dos grupos carboxílicos. Em pH ácido, por exemplo, os íons hidrogênio compensariam a carga negativa dos grupos carboxílicos, diminuindo a repulsão eletrostática

entre as moléculas de gelana. Dessa forma, o aumento da concentração de íons de hidrogênio poderia aumentar o número de zonas de junção nos géis de gelana (NISHINARI et al., 1996; YAMAMOTO, 2002; YAMAMOTO; CUNHA, 2007; BAJAJ et al., 2007; PICONE; CUNHA, 2011; MORRIS et al., 2012; ZHANG et al., 2014; EVANGELIOU; SALIARI, 2017; FAN et al., 2017).

Dois modelos são propostos na literatura para explicar a gelificação da goma gelana: o modelo fibroso e o de domínios. São modelos similares, mas diferem entre si na descrição dos agregados. No modelo de domínios, a agregação das hélices é limitada pela presença dos grupos acetila. Já no modelo fibroso, os grupos acetila inibem as associações intermoleculares tipo “ponta a ponta”, através de um tipo de estereopimpimento, resultando num decréscimo no grau de continuidade e homogeneidade do sistema gelificado (FUNAMI et al., 2008; VALLI; CLARK, 2010). O modelo mais comumente aceito é o modelo de domínios, que afirma que, a altas temperaturas, a gelana se apresenta em estado desordenado (cadeias simples) e na conformação enovelada. Assim, resfriando-se a solução em condições não gelificantes, os novelos se convertem reversivelmente em duplas hélices (estado ordenado) e a associação dessas duplas hélices, por forças de van der Waals, leva á gelificação macroscópica (transição sol - gel) como observado na Figura 3 (PICONE, 2008).

Figura 3 - Representação esquemática do processo de transição conformacional da gelana



Fonte: PICONE, 2008, f. 35.

A presença ou ausência de íons tem grande importância na resistência do gel que irá ser formado. A gelana não forma gel em água deionizada, mas a adição de sais de cálcio,

potássio, sódio ou magnésio faz com que a formação de gel seja possível (BAJAJ et al., 2007).

As concentrações de gelana normalmente usadas na indústria alimentícia variam de 0,2 a 0,4% (m/m), mas essas concentrações podem ser reduzidas em baixos valores de pH e de acordo com a quantidade e o tipo de cátion adicionado (PICONE, 2008).

Grasdalen e Smidsrod (1987) estudaram a eficácia dos cátions monovalentes e divalentes na reticulação da gelana e concluíram que, entre os cátions monovalentes, os géis obtidos com íons K^+ são mais fortes que os obtidos com íons Na^+ e que, para os cátions divalentes, os géis obtidos com íons de metais de transição (Zn^{+2} , Cu^{+2} e Pb^{+2}) são mais fortes do que os obtidos com os íons divalentes (Ca^{+2} , Mg^{+2} , Sr^{+2} e Ba^{+2}).

Funami et al. (2009) investigaram o efeito do cloreto de sódio (NaCl) na gelificação da goma gelana em comparação com o cloreto de potássio (KCl) por técnicas de microscopia de força atômica (AFM) e reometria e concluíram que o íon potássio tem maior influência nas propriedades estruturais e reológicas da gelana que o íon sódio. Isto pode ser explicado pela compatibilidade do potássio com as hélices da goma gelana baseada na similiaridade entre a rede hidrodinâmica do cátion e a cavidade criada por essas hélices e também pelo arranjo ordenado do cátion ao longo das hélices.

Lázaro et al. (2003) estudaram a capacidade de polímeros naturais e sintéticos usados na imobilização de células acumularem metais pesados tóxicos que contaminam efluentes industriais. Foi avaliado o acúmulo de níquel (Ni^{+2}) em soluções aquosas diluídas através do preparo de géis de gelana e duas misturas entre goma gelana e agar. Após avaliação dos resultados, os autores constataram que os polímeros produzidos com goma gelana foram os que apresentaram maior acúmulo de Ni^{+2} , além de apresentarem elevada afinidade por cobre (Cu^{+2}) e chumbo (Pb^{+2}).

Coutinho et al. (2010) propuseram um método para funcionalização de hidrogéis de gelana, reticulados tanto por mecanismos físicos quanto químicos, utilizando diferentes concentrações de anidrido metacrílico para obtenção de uma goma gelana metacrilada (MeGG) a fim de melhorar suas propriedades mecânicas para utilização na engenharia de tecidos. Concluíram ser possível a funcionalização proposta com a melhora das propriedades mecânicas sem, contudo, afetar a biocompatibilidade do hidrogel de MeGG.

Shin et al. (2012) estudaram hidrogéis formados por dupla rede (DN) sintetizados através da fotoreticulação em duas etapas. Hidrogéis de rede duplas são redes interpenetrantes formadas por redes com propriedades mecânicas opostas, resultando em um material de elevada resistência. A goma gelana metacrilada (GGMA) foi usada para a obtenção de uma

primeira rede rígida e quebradiça e a gelatina metacrilamida (GeIMA) para a obtenção de uma segunda rede macia e dúctil, com o objetivo de melhorar nas propriedades mecânicas para encapsulamento de células. Após análise dos resultados, os autores puderam constatar que, se comparados com hidrogéis formados por redes simples, os hidrogéis formados por redes duplas exibiram maior resistência mecânica, o que favoreceu a utilização desses novos materiais para encapsulamento de células em aplicações como suporte de tecidos.

Bradbeer et al. (2014) investigaram a gelificação ácida de misturas entre as gelanas desacetilada e altamente acetilada com o objetivo de obterem géis com melhores propriedades mecânicas. Estudaram também a melhor proporção entre as gelanas nas misturas e os efeitos da concentração total das mesmas. Após estudos por diversas técnicas como análises de textura, calorimetria diferencial de varredura (DSC) e medições reológicas constataram que a gelana altamente acetilada é menos afetada pelo meio ácido que a gelana desacetilada e que a concentração total do biopolímero aumenta a força do gel, sendo que, em misturas entre as duas gelanas, a gelana desacetilada deve estar em maior proporção que a altamente acetilada.

Martinez e Tecante (2014) propuseram um método de obtenção de um sal de sódio de gelana altamente acetilada (NaHAG) partindo de uma gelana comercial por troca iônica e liofilização, sem envolver precipitação com álcool para recuperação da macromolécula modificada. A gelana NaHAG foi caracterizada por técnicas tais como absorção atômica, espectroscopia de absorção na região do infravermelho, difração de raios X e ressonância magnética e calorimetria diferencial de varredura (DSC). Após avaliação dos resultados obtidos, os pesquisadores concluíram que é possível a obtenção de um sal de sódio de gelana altamente acetilada sem a necessidade da mistura álcool e água e, de forma mais simples, sem diversos tratamentos químicos. Observaram, também, que a gelana NaHAG apresentou menor temperatura de transição que a gelana comercial devido a redução na quantidade de íons.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A seguir serão descritos os materiais e métodos utilizados no desenvolvimento da Tese.

3.1. Produtos Químicos

- Ácido clorídrico – procedência: VETEC, grau de pureza: P.A., usado para preparo de solução aquosa;
- Cloreto de potássio – procedência: VETEC, grau de pureza: P.A., usado para preparo de solução aquosa;
- Cloreto de cálcio di-hidratado – procedência: VETEC, grau de pureza: P.A., usado para preparo de solução aquosa;
- Gelana Kelcogel F (desacetilada) – procedência: cedido por cortesia pela CPKelco Brasil S.A., grau de pureza: comercial, usado como recebido;
- Gelana Kelcogel LT 100 (altamente acetilada)) – procedência: cedido por cortesia pela CPKelco Brasil S.A., grau de pureza: comercial, usado como recebido;
- Hidróxido de sódio – procedência: VETEC, grau de pureza: P.A., usado para preparo de solução aquosa;

3.2. Equipamentos

Além dos equipamentos e vidrarias tradicionais usados em laboratório, foram utilizados nessa Tese os seguintes aparelhos:

- Analisador termogravimétrico TA instruments, modelo Q 50 V6.4 Build 193 (UERJ e Teadit do Brasil);
- Balança analítica Shimadzu, modelo AY 220, sensibilidade de 0,1 mg;
- Espectrômetro de absorção atômica Perkin Elmer, modelo Analyst 300 (UERJ);

- Espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) Perkin Elmer, modelo Spectrum One (UERJ e Teadit do Brasil);
- Espectrômetro de ressonância magnética nuclear Bruker, modelo Avance III 400 (UFRJ);
- Forno de micro-ondas Milestone, modelo Start D;
- Reômetro Anton Paar, modelo Physica MCR 301 com banho termostático Lauda, modelo Alpha RA8 acoplado (UERJ);
- Liofilizador Terroni modelo Enterprise I (UERJ);
- Medidor de pH Tecnocon modelo mPA 220;
- Microscópio eletrônico de varredura (SEM) modelo JSM-6510LV, marca JEOL com voltagem de operação de 15 kV (UERJ);
- Máquina universal de ensaio - Emic, DL2000 (UERJ);
- Placa de aquecimento e agitação IKA, modelo C-MAG HS 7;
- Termopar IKA, modelo ETS D4

3.3. Procedimentos

O procedimento experimental foi composto por cinco etapas: caracterização das gelanas, preparo dos hidrogéis de gelana desacetilada, preparo dos hidrogéis de gelana altamente acetilada, preparo dos hidrogéis à base da mistura das gelanas e caracterização dos hidrogéis.

3.3.1. Caracterização das gelanas

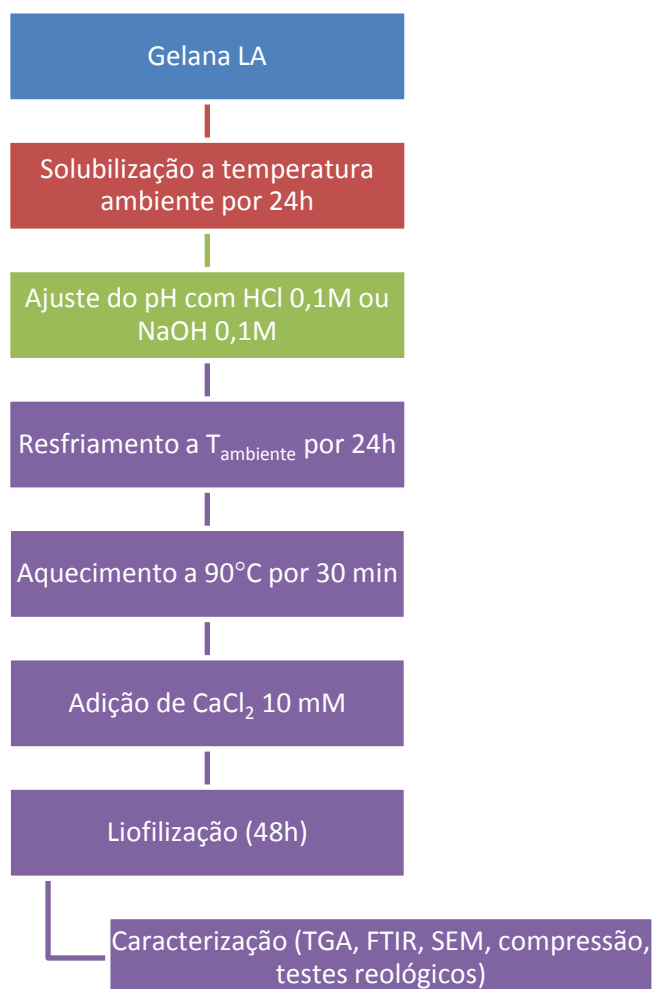
As amostras de gelana (desacetilada e altamente acetilada) foram caracterizadas por espectrometria de absorção atômica, espectroscopia de absorção na região do infravermelho, análise termogravimétrica (TGA).

3.3.2. Ensaio preliminares

Com a finalidade de se conhecer melhor o polissacarídeo gelana e a formação de hidrogel com a adição de agentes reticulantes ou com a variação de pH, foram preparadas amostras conforme metodologias segundo os trabalhos de Moritaka *et al.* (1995) e Yamamoto *et al.* (2007) com algumas modificações. As metodologias estão descritas abaixo:

a) *Método LA preliminar I: Variação do pH a 25°C com adição de reticulante após o aquecimento* - A gelana era solubilizada em água deionizada, sob agitação magnética, à temperatura de 25°C, por cerca de 24 horas a fim de se obter soluções nas concentrações de 0,25%, 0,50% e 1,0% (m/v). O pH das soluções foi ajustado pela adição de diferentes quantidades de HCl 0,1M ou NaOH 0,1M, de forma que o pH final de equilíbrio ficasse em 2, 3 e 4 (faixa ácida) e 8, 9 e 10 (faixa básica). Após o ajuste do pH, a solução era deixada em repouso por 24 horas para avaliação quanto a formação de gel. Caso a amostra se apresentasse líquida após esse tempo, era efetuado o aquecimento a 90°C por 30 minutos e repouso de 24 horas após o aquecimento, para avaliação. Após isso, caso a amostra ainda assim, permanecesse líquida (sem formação do hidrogel), era efetuada a adição de CaCl₂ (12,5 mL, 25 mL e 50 mL para as concentrações de 0,25%, 0,5% e 1,0% (m/v) de solução de gelana, respectivamente) e repouso de 24 horas na tentativa de promover a reticulação.

Figura 4 - Fluxograma do preparo de hidrogéis variando-se o pH a 25°C com adição de reticulante após o aquecimento pelo método LA preliminar I.

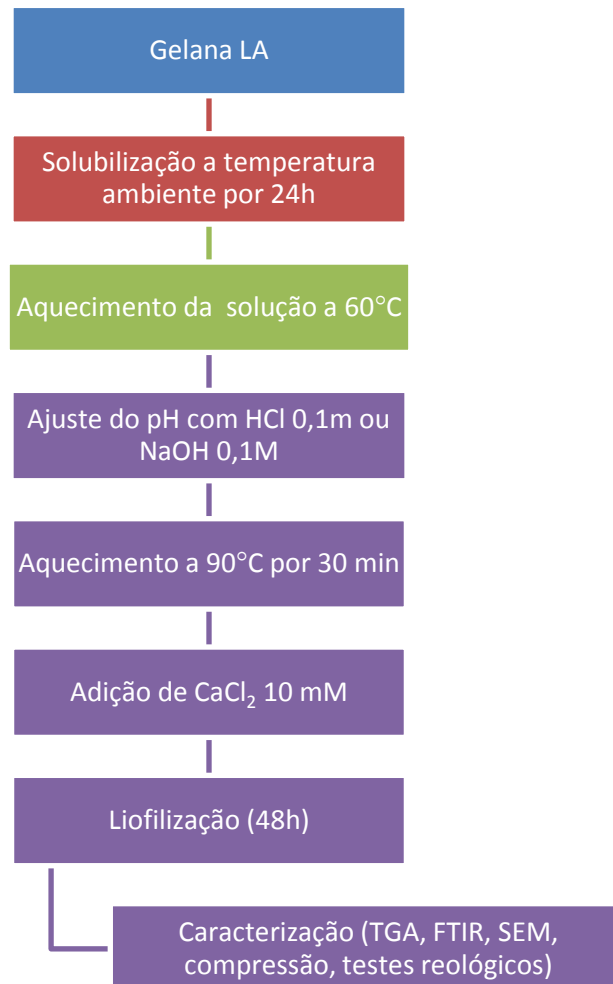


Fonte: O autor, 2017.

b) *Método LA preliminar II: Variação do pH a 60°C com adição de reticulante após aquecimento* - A gelana foi solubilizada em água deionizada, sob agitação magnética, à temperatura de 25°C, por cerca de 24 horas a fim de se obter soluções nas concentrações de 0,25%, 0,50% e 1,0% (m/v). A solução de gelana foi aquecida a 60°C e o pH foi controlado a esta temperatura com diferentes quantidades de HCl 0,1M ou NaOH 0,1M de forma que o pH final de equilíbrio ficasse em 2, 3 e 4 (faixa ácida) e 8, 9 e 10 (faixa básica). Em seguida a temperatura foi elevada para 90°C e mantida por 30 minutos. A solução foi, então, resfriada até atingir 25°C e deixada em repouso por 24 horas. Caso a amostra ainda permanecesse líquida (sem formação do hidrogel), era efetuada a adição de CaCl₂ (12,5 mL, 25 mL e 50 mL para as concentrações de 0,25%, 0,5% e 1,0% (m/v) de solução de gelana, respectivamente) e

repouso por 24 horas na tentativa de promover a reticulação. Em seguida, as amostras foram congeladas e liofilizadas por 48 horas para caracterizações posteriores (Figura 5).

Figura 5 - Fluxograma do preparo de hidrogéis variando-se o pH a 60°C com adição de reticulante após aquecimento pelo método LA preliminar II.



Fonte: O autor, 2017.

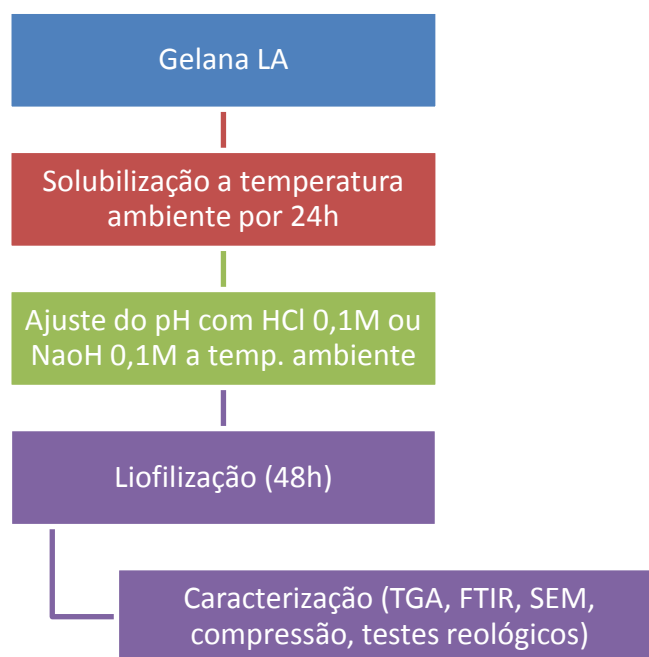
3.3.3. Preparo dos hidrogéis de gelana desacetilada (LA)

Nesta etapa, foi estudada a influência da variação de diversos parâmetros de preparo dos hidrogéis de gelana LA.

Foram avaliados parâmetros como a adição de agente reticulante e o pH do meio de preparo, com a finalidade de se obter hidrogéis com alto grau de intumescimento, boas propriedades térmicas e mecânicas.

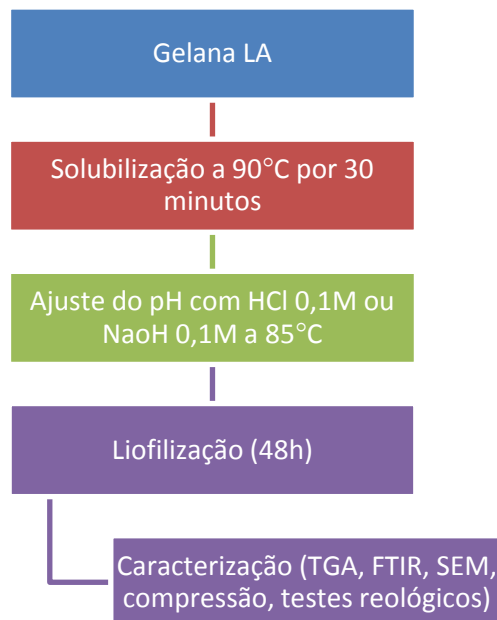
a) *Método LA I: Variação do pH a 25°C sem adição de reticulante*- A gelana foi solubilizada em água deionizada, sob agitação magnética, à temperatura de 25°C, por cerca de 24 horas a fim de se obter soluções nas concentrações de 0,25%, 0,5% e 1,0% (m/v). O pH das soluções foi ajustado pela adição de diferentes quantidades de HCl 0,1M ou NaOH 0,1M, de forma que o pH final de equilíbrio ficasse em 2, 3 e 4 (faixa ácida) e 8, 9 e 10 (faixa básica). Após o ajuste do pH, a solução era deixada em repouso por 24 horas para avaliação quanto a formação de gel. As amostras de hidrogel eram congeladas e liofilizadas por 48 horas para caracterizações posteriores (Figura 6).

Figura 6 - Fluxograma do preparo de hidrogéis variando-se o pH a 25°C sem adição de reticulante pelo método LA I.



b) *Método LA II: Variação do pH a 85°C sem adição de reticulante* - A gelana era solubilizada em água deionizada sob agitação magnética à temperatura de 25°C por 30 minutos, por cerca de 24 horas a fim de se obter soluções nas concentrações de 0,25%, 0,5% e 1,0% (m/v). Em seguida, o pH das soluções foi ajustado, a quente (85°C), pela adição de diferentes quantidades de HCl 0,1M ou NaOH 0,1M, de forma que o pH final de equilíbrio ficasse em 2, 3 e 4 (faixa ácida) e 8, 9 e 10 (faixa básica). As amostras eram, então, congeladas e liofilizadas por 48 horas para caracterizações posteriores (Figura 7).

Figura 7 - Fluxograma do preparo de hidrogéis a 85°C sem adição de reticulante pelo método LA II.



Fonte: O autor, 2017.

3.3.4. Preparo de hidrogéis de gelana altamente acetilada (HA)

Foram avaliados dois agentes reticulantes e o pH do meio de preparo (Tabela 1), com a finalidade de se obter hidrogéis com alto grau de intumescimento, boas propriedades térmicas e mecânicas. As metodologias de preparo das amostras foram baseadas nos trabalhos de Huang *et al.* (2003) e Flores-Huicochea *et al.* (2013) com algumas modificações.

Tabela 1 - Variáveis da reação de reticulação

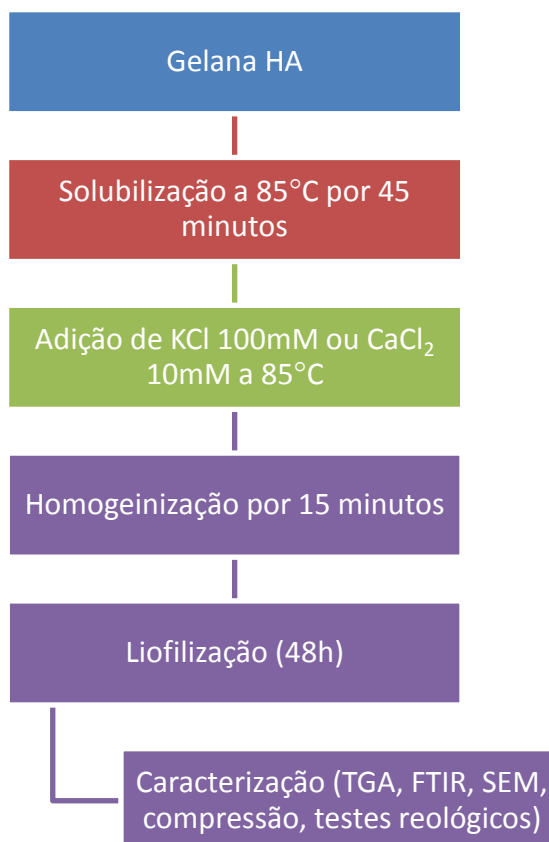
Agente reticulante	pH do meio
KCl (100 mM)	Ácido*
CaCl ₂ (10 mM)	Básico**

Legenda: *Solução de HCl 0,1 M, **Solução de NaOH 0,1 M Fonte: O autor, 2017.

Os hidrogéis foram preparados de diferentes formas, conforme métodos descritos a seguir:

a) *Método HA I: Efeito dos reticulantes em pH natural* - A solução de gelana foi preparada pela dissolução da gelana em água deionizada, sob agitação magnética a 85°C, por cerca de 45 minutos a fim de se obter soluções nas concentrações de 0,25%, 0,5% e 1,0% (m/v) (o volume de água evaporado foi completado com água deionizada aquecida). Após a solução atingir novamente a temperatura de 85°C, adicionou-se determinado volume de solução 100 mM de solução de KCl ou 10 mM do reticulante CaCl₂ conforme a concentração de gelana (25 mL, 50 mL e 100 mL para o reticulante KCl ou 12,5 mL, 25 mL e 50 ml para o reticulante CaCl₂ para as concentrações de 0,25%, 0,5% e 1,0% (m/v) de solução de gelana, respectivamente) e manteve-se a agitação por 15 minutos. Em seguida, as amostras foram congeladas e liofilizadas por 48 horas para caracterizações posteriores (Figura 8).

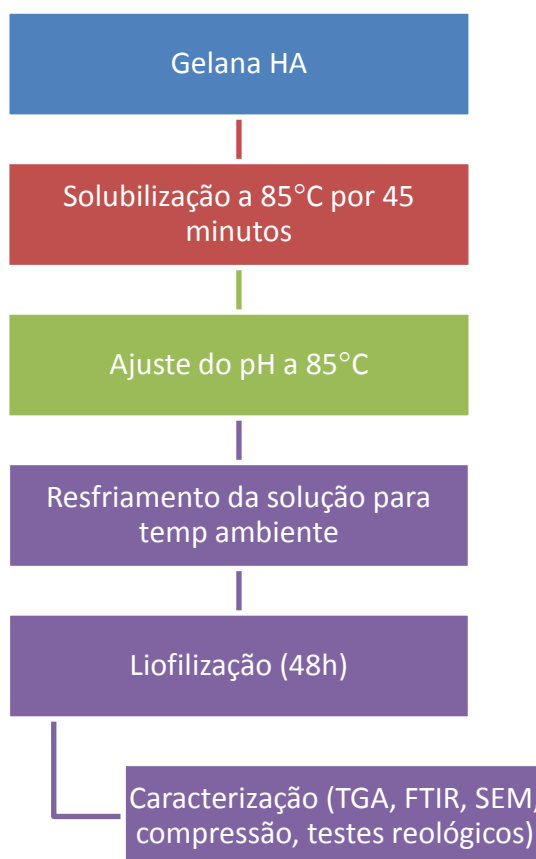
Figura 8 - Fluxograma do preparo de hidrogéis com diferentes reticulantes (KCl e CaCl₂) em pH natural, pelo método HA I.



Fonte: O autor, 2017.

b) *Método HA II: Estudo da variação do pH* - A solução de gelana foi preparada pela dissolução da gelana em água deionizada, sob agitação magnética, a 85°C por cerca de 45 minutos a fim de se obter soluções nas concentrações de 0,25%, 0,50% e 1,0% (m/v) (o volume de água evaporado foi completado com água deionizada aquecida). Após a solução atingir novamente a temperatura de 85°C, ajustou-se o pH das soluções pela adição de diferentes quantidades de HCl 0,1M ou NaOH 0,1M, de forma que o pH final de equilíbrio ficasse em 2, 3 e 4 (faixa ácida) e 8, 9 e 10 (faixa básica). Em seguida, as amostras foram congeladas e liofilizadas por 48 horas para caracterizações posteriores (Figura 9).

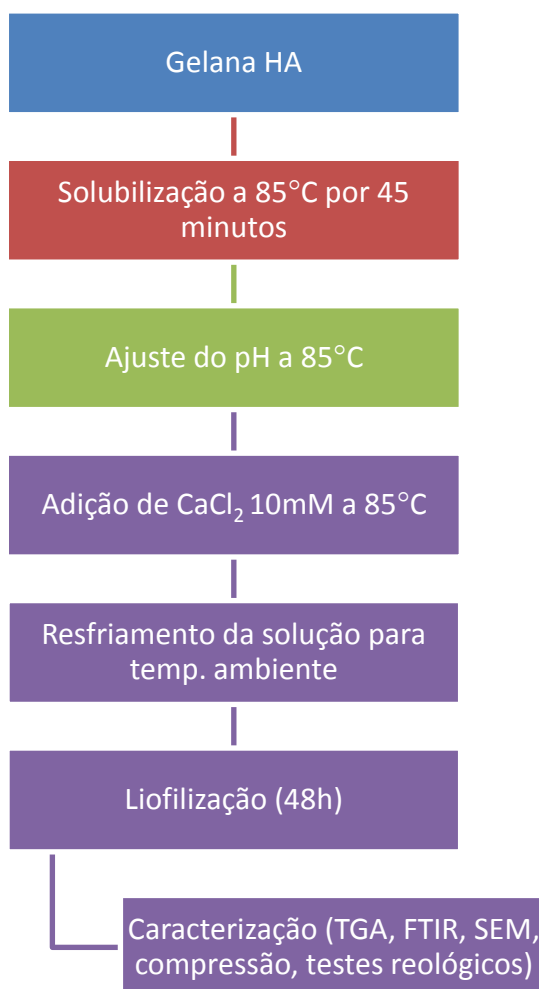
Figura 9 -Fluxograma do preparo de hidrogéis variando-se o pH, pelo método HA II.



Fonte: O autor, 2017.

c) *Método HA III: Estudo do acerto do pH antes da adição do reticulante divalente (CaCl₂)* - A solução de gelana foi preparada pela dissolução da gelana em água deionizada, sob agitação magnética, a 85°C por cerca de 45 minutos a fim de se obter soluções nas concentrações de 0,25%, 0,50% e 1,0% (m/v) (o volume de água evaporado foi completado com água deionizada aquecida). Após a solução atingir novamente a temperatura de 85°C, ajustou-se o pH das soluções pela adição de diferentes quantidades de HCl 0,1M ou NaOH 0,1M, de forma que o pH final de equilíbrio ficasse em 2, 3 e 4 (faixa ácida) e 8, 9 e 10 (faixa básica). Em seguida, adicionou-se determinado volume de solução 10 mM do reticulante CaCl₂ conforme a concentração de gelana (12,5 mL, 25 mL e 50 mL para as soluções aquosas de gelana de 0,25%, 0,5% e 1,0% (m/v), respectivamente) e aguardou-se que temperatura da solução chegasse a 85°C, mantendo a homogeneização e a temperatura por 15 minutos. Deixou-se a solução em repouso por 24 horas para avaliação quanto à formação de gel. Em seguida, as amostras foram congeladas e liofilizadas por 48 horas para caracterizações posteriores (Figura 10).

Figura 10 - Fluxograma do preparo de hidrogéis com ajuste do pH antes da adição do agente reticulante CaCl_2 , pelo método HA III.

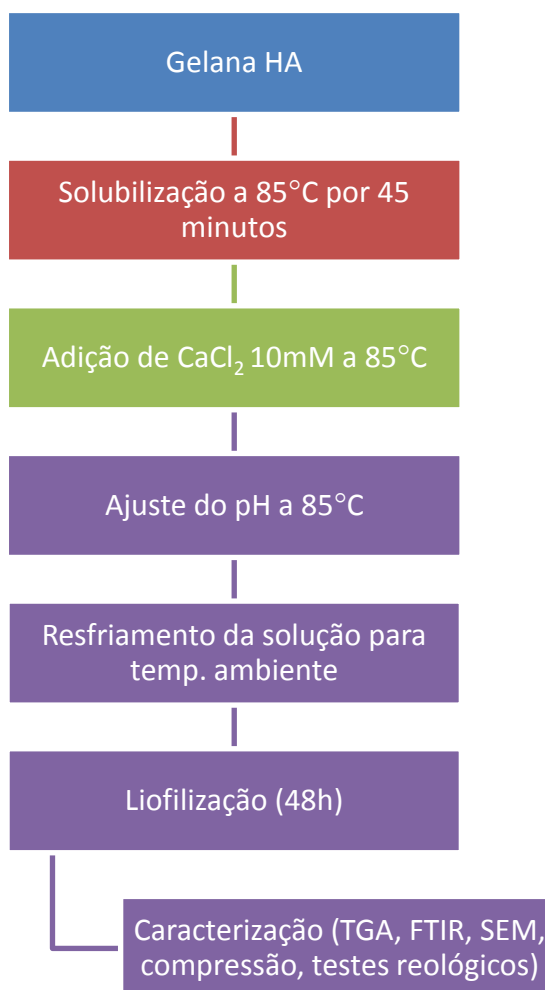


Fonte: O autor, 2017.

d) *Método HA IV: Estudo do acerto do pH após a adição do reticulante divalente (CaCl_2)* - A solução de gelana foi preparada pela dissolução da gelana em água deionizada, sob agitação magnética, a 85°C por cerca de 45 minutos a fim de se obter soluções nas concentrações de 0,25%, 0,50% e 1,0% (m/v) (o volume de água evaporado foi completado com água deionizada aquecida). Após a solução atingir novamente a temperatura de 85°C, adicionou-se determinado volume de solução 10 mM do reticulante CaCl_2 conforme a concentração de gelana (12,5 mL, 25 mL e 50 mL para as concentrações de 0,25%, 0,5% e 1,0% (m/v), respectivamente) reticulante (CaCl_2) e aguardou-se que temperatura da solução chegasse a 85°C, mantendo a homogeneização e a temperatura por 15 minutos. Ajustou-se o pH das soluções pela adição de diferentes quantidades de HCl 0,1M ou NaOH 0,1M, de forma que o pH final de equilíbrio ficasse em 2, 3 e 4 (faixa ácida) e 8, 9 e 10 (faixa básica).

Deixou-se a solução em repouso por 24 horas para avaliação quanto à formação de gel. Em seguida, as amostras foram congeladas e liofilizadas por 48 horas para caracterizações posteriores (Figura 11).

Figura 11 - Fluxograma do preparo de hidrogéis com ajuste do pH após a adição do agente reticulante CaCl_2 pelo método HA IV.



Fonte: O autor, 2017.

3.3.5. Preparo de hidrogéis da mistura das gelanas LA e HA

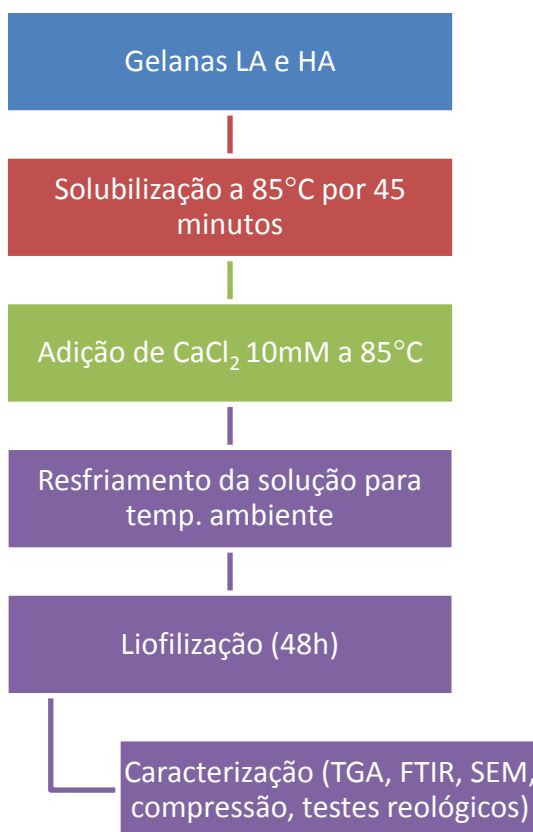
Nessa etapa de estudo, foram preparados e caracterizados hidrogéis formados pela mistura das duas gelanas (LA e HA), em diferentes proporções (30/70, 50/50 e 70/30)

segundo os trabalhos de Pereira *et al.* (2011) e Lorenzo *et al.* (2013) com a finalidade de se obter hidrogéis com alto grau de intumescimento, boas propriedades térmicas e mecânicas.

A concentração total da gelana nas misturas foi mantida em 0,25%, 0,5% e 1,0% (m/v).

a) Método LA/HA I: Estudo da adição do agente reticulante divalente (CaCl_2) - As soluções de gelana, nas proporções de 30/70, 50/50 e 70/30 (relação entre LA/HA) nas concentrações de 0,25%, 0,5% e 1,0% (m/v), foram preparadas pela dissolução das gelanas juntas em água deionizada, sob agitação magnética a 85°C, por cerca de 45 minutos (o volume de água evaporado foi completado com água deionizada aquecida). Após a solução atingir novamente a temperatura de 85°C, adicionou-se determinado volume de solução 10 mM do reticulante CaCl_2 conforme a concentração de gelana (12,5 mL, 25 mL e 50 mL para as concentrações de 0,25%, 0,5% e 1,0% (m/v), respectivamente) e aguardou-se que temperatura da solução chegasse a 85°C, mantendo a homogeneização e a temperatura por 15 minutos (Figura 12).

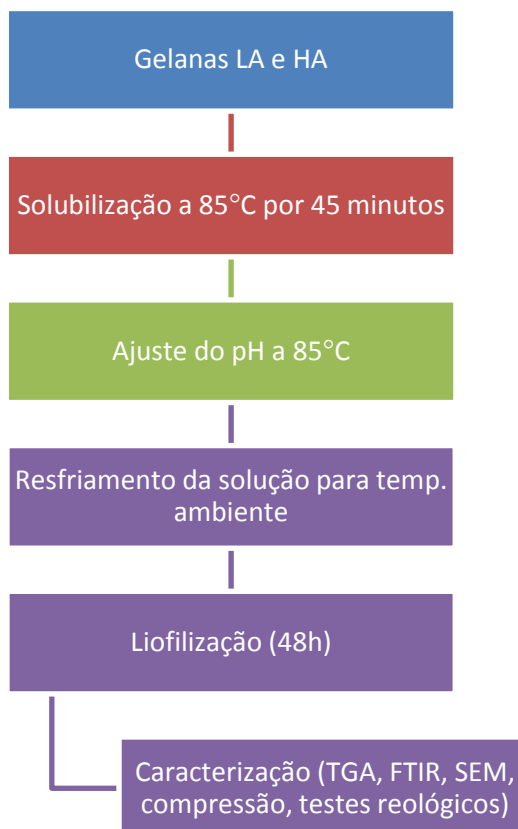
Figura 12 - Fluxograma do preparo de hidrogéis da mistura das gelanas com a adição do agente reticulante CaCl_2 pelo método LA/HA I.



Fonte: O autor, 2017.

b) Método LA/HA II: Estudo da variação do pH - As soluções de gelana, nas proporções de 30/70, 50/50 e 70/30 (relação entre LA/HA), nas concentrações de 0,25%, 0,5% e 1,0% (m/v), foram preparadas pela dissolução das gelanas juntas em água deionizada, sob agitação magnética a 85°C por cerca de 45 minutos (o volume de água evaporado foi completado com água deionizada aquecida). Após a solução atingir novamente a temperatura de 85°C, ajustou-se o pH das soluções pela adição de diferentes quantidades de HCl 0,1M e NaOH 0,1M, de forma que o pH final de equilíbrio ficasse em 2, 3 e 4 (faixa ácida) e 8, 9 e 10 (faixa básica), mantendo a homogeneização e a temperatura por 15 minutos (Figura 13).

Figura 13 - Fluxograma do preparo de hidrogéis da mistura das gelanas com variação de pH pelo método LA/HA II



Fonte: O autor, 2017.

3.3.6. Caracterização dos hidrogéis

Os hidrogéis foram caracterizados por termogravimetria (TG), espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (SEM), grau de Intumescimento (Q), propriedades mecânicas (testes de compressão), propriedades reológicas (regime não-oscilatório) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR) de ^{13}C no estado sólido.

3.3.6.1. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Nesse estudo, foram realizadas análises utilizando-se a técnica de espectroscopia de absorção molecular na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) com acessório de reflexão total atenuada (ATR) de cristal de germânio. O espectro foi varrido de 4000 a 400 cm^{-1} com resolução de 16 cm^{-1} .

3.3.6.2. Análise termogravimétrica (TG)

Cerca de 10 mg de amostra foram colocadas em cápsula de platina e esta foi aquecida em atmosfera de nitrogênio com uma vazão de 100 mL/min, de 50°C a 350°C a uma velocidade de 20°C/min. A temperatura de início (T_{onset}) do estágio principal de degradação térmica relacionada às cadeias da gelana foi obtida através da interseção entre a tangente na linha-zero e a tangente traçada a partir da inflexão da curva de TG que mede a variação de massa de uma amostra em função da temperatura, sob uma atmosfera controlada, enquanto a substância é submetida a uma programação de variação de temperatura.

3.3.6.3. Microscopia eletrônica de varredura (SEM)

As amostras foram cortadas com uma lâmina para expor a estrutura interna do material e foram fixadas em suporte adequado e recobertas com ouro sob atmosfera de argônio. Em seguida, as superfícies das amostras foram analisadas com aumentos de 50X.

3.3.6.4. Grau de intumescimento (Q)

As propriedades hidrofílicas dos hidrogéis secos após liofilização foram estudadas por medidas do grau de intumescimento (Q) em função do tempo em meio de intumescimento

específico (água deionizada). A massa média dos hidrogéis secos utilizados nesse estudo foi aproximadamente 150 mg. Para as determinações de Q, primeiramente os hidrogéis secos foram cortados em forma circular de aproximadamente 20 mm de diâmetro, pesados em uma balança analítica e posteriormente colocados para intumescer em 30 mL de meio. Para cada medida correspondente a um tempo “t”, os hidrogéis foram retirados do meio de intumescimento, sendo as superfícies cuidadosamente secas para remover o excesso de água, e depois novamente pesados.

Os valores de Q dos diferentes hidrogéis foram calculados a partir da Equação 1 (AOUADA et al., 2009):

$$Q = \frac{M_2 - M_1}{M_1} \times 100 \quad (1)$$

Onde M_2 é a massa de hidrogel intumescido num tempo “t” e M_1 é a massa inicial de hidrogel seco após liofilização.

3.3.6.5. Propriedades mecânicas – Teste de compressão

A resistência mecânica dos hidrogéis foi avaliada através de medidas de compressão com célula de carga de 500N e velocidade das placas de 12 mm/min. Os corpos de prova, medindo cerca de 20 mm de comprimento x 20 mm de diâmetro foram obtidos após liofilização em bécher de vidro e foram analisados segundo a norma ASTM D882-12 adaptada. Os valores de tensão máxima de compressão (σ_{\max}) foram determinados medindo-se a força (f) necessária para comprimir em 10 mm os hidrogéis até a sua ruptura. Cerca de cinco corpos de prova foram utilizados para cada hidrogel. Os valores de σ foram determinados utilizando a Equação 2.

$$\sigma = \frac{f}{S_o} \quad (2)$$

Onde: f é o valor da força exercida e S_o é a área do corpo de prova

3.3.6.6. Medidas reológicas – Regime não-oscilatório

As análises reológicas foram realizadas, em duplicata, em reômetro Physica MCR 301(Anton Paar). As curvas de tensão e viscosidade foram obtidas em função da taxa de deformação. A taxa de deformação variou entre 0,1 e 200 s⁻¹ (curva ascendente) e 200 a 0,1 s⁻¹ (curva descendente) nas temperaturas de 25, 45, 65 e 85°C. O tempo total de análise (curvas ascendentes e descendentes) foi de 10 minutos, sendo coletados 60 pontos nesse intervalo.

3.3.6.7. Ressonância magnética nuclear (NMR) de ¹³C no estado sólido

As análises de ressonância magnética nuclear (NMR) de ¹³C no estado sólido foram realizadas em um espectrômetro Bruker Avance™ III 400 operando a 125.77 MHz. Com a finalidade de se intensificar o sinal e a resolução dos espectros a espectroscopia de NMR foi combinada com as técnicas de rotação da amostra em torno do ângulo mágico (MAS – Magic Angle Spinning) e polarização cruzada (CP – Cross Polarization) (LARSEN & ENGELSEN, 2015; BATHISTA, 2005).

Aproximadamente 40 mg de amostra foram colocadas em um rotor de zircônia a 15 kHz e analisadas a temperatura ambiente. O tempo de aquisição, reciclo e contato foram de 10ms, 2s e 2ms, respectivamente, sendo realizadas 1024 varreduras. O ângulo mágico foi calibrado com KBr e a polarização cruzada foi ajustada usando uma amostra padrão de α -glicina

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir serão discutidos os resultados obtidos nas análises das gelanas puras e dos hidrogéis preparados, conforme cada metodologia proposta anteriormente.

4.1. Caracterização das gelanas puras

As gelanas foram caracterizadas por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR), espectrometria de absorção atômica (AAS), termogravimetria (TG) e ressonância magnética nuclear de Carbono 13 (^{13}C NMR). Foi realizado, também, ensaio reológico nas soluções de gelana em diferentes valores de pH.

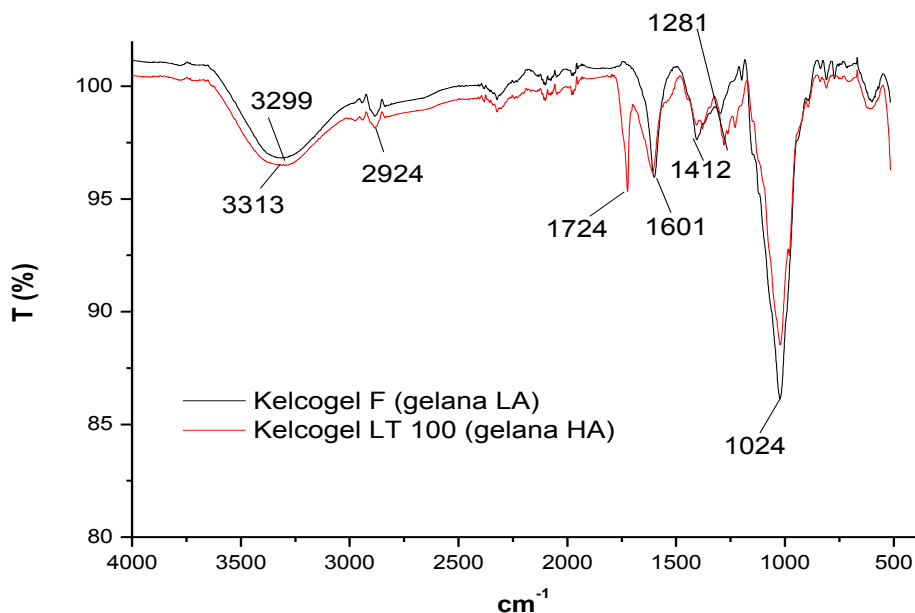
4.1.1. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de FTIR das amostras de gelana desacetilada pura (LA) e gelana altamente acetilada pura (HA) estão apresentados na Figura 14. Pode-se observar uma banda de estiramento axial de OH em 3313 cm^{-1} e 3299 cm^{-1} devido à presença de grupos hidroxila, um estiramento de grupos CH_2 em 2924 cm^{-1} , um estiramento C-O proveniente dos grupos acetato presentes na gelana HA em 1724 cm^{-1} , um estiramento assimétrico de COO^- em 1601 cm^{-1} , um estiramento simétrico de COO^- em 1412 cm^{-1} , um estiramento C-O-C em 1281 cm^{-1} e um estiramento vibracional C-O de hidroxila em 1024 cm^{-1} (LOPES; FASCIO, 2004; AGNIHOTRI; JAWALKAR; AMINABHAVI, 2006; HAMCERENCU et al., 2008; LEE et al., 2012; HIREMATH; VISHALAKSHI, 2013; ISMAIL et al., 2014; KARTHIKA et al., 2013; KARTHIKA et al., 2014; MARTINEZ et al., 2014; NOVAC et al., 2014; PANDEY et al., 2014; SEBRI; AMIN, 2015; KANG et al., 2015; PEREIRA et al., 2015; SINGH et al., 2015; VERMA; PANDEY; BEHARI, 2015; ZHANG et al., 2017).

Pode-se concluir, através da comparação dos espectros da gelana LA e HA, que a única diferença entre ambas as gelanas é o aparecimento de um estiramento C-O proveniente

dos grupos acetato presentes na gelana HA em 1724 cm^{-1} que não é observado no espectro da gelana LA.

Figura 14 - Espectro de FTIR da gelana desacetilada pura (LA) e da gelana altamente acetilada (HA).



Fonte: O autor, 2017.

4.1.2. Espectrometria de absorção atômica (AAS)

Tal caracterização teve por objetivo avaliar se a concentração de cátions monovalentes e divalentes presentes na gelana seriam suficientes para promover sua reticulação.

Para análise por AAS, pesou-se 0,01 g de cada gelana e adicionou-se 20 mL de água régia (mistura de ácido nítrico e ácido clorídrico na proporção 1:3 em volume). Em seguida a mistura foi aquecida em microondas por 40 minutos a 180°C . Após essa etapa, as soluções foram filtradas, transferidas para balões volumétricos de 100 mL e avolumadas com água deionizada.

O teor de metais presentes na amostra da gelana desacetilada (LA) foi: K^{+} : 2,6 %, Ca^{+2} : 2,0 % e Mg^{+2} : 0,44%. Para a amostra de gelana altamente acetilada (HA), os resultados obtidos foram: K^{+} : 1,2 %, Ca^{+2} : 2,8 % e Mg^{+2} : 0,88%.

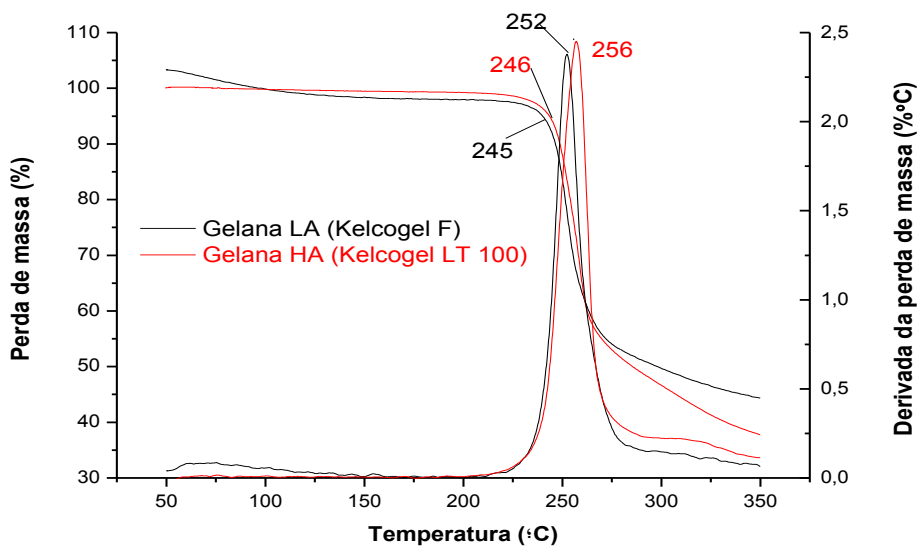
Pode-se observar que o teor de cátions divalentes (Ca^{+2} e Mg^{+2}) foi maior na gelana HA do que na gelana LA o que pode sugerir uma reticulação mais efetiva dessa gelana se comparada com a gelana LA já que, como já mencionado anteriormente, os cátions divalentes são mais efetivos na agregação das duplas hélices das cadeias de gelana do que os cátions monovalentes.

4.1.3. Análise termogravimétrica (TG)

As curvas de TG e DTG das amostras da gelana desacetilada e altamente acetilada estão apresentadas na Figura 15. Nas curvas relacionadas à TG pode ser observado um processo de decomposição térmica que ocorre em apenas uma etapa, com perda inicial de massa entre 50°C e 100°C referente à volatilização da água presente na estrutura. Entre 150°C e 200°C as substâncias são termicamente estáveis e em torno de 245°C e 246°C inicia-se o processo de decomposição térmica da gelana LA e HA, respectivamente, com tendência ao término do processo em valores superiores a 350°C. Nas curvas de DTG, os valores de 252°C e 256°C para as gelanas LA e HA, respectivamente, correspondem ao máximo na curva de DTG que é obtido quando a curva TG apresenta o ponto de inflexão, temperatura na qual a velocidade de degradação é máxima (VERMA; PANDEY; BEHARI, 2015).

Analisando ambos os espectros observam-se que os valores de TG e DTG obtidos para as gelanas estão dentro do erro experimental do equipamento ($\pm 4^\circ\text{C}$). Logo, conclue-se que ambas as gelanas possuem a mesma resistência térmica.

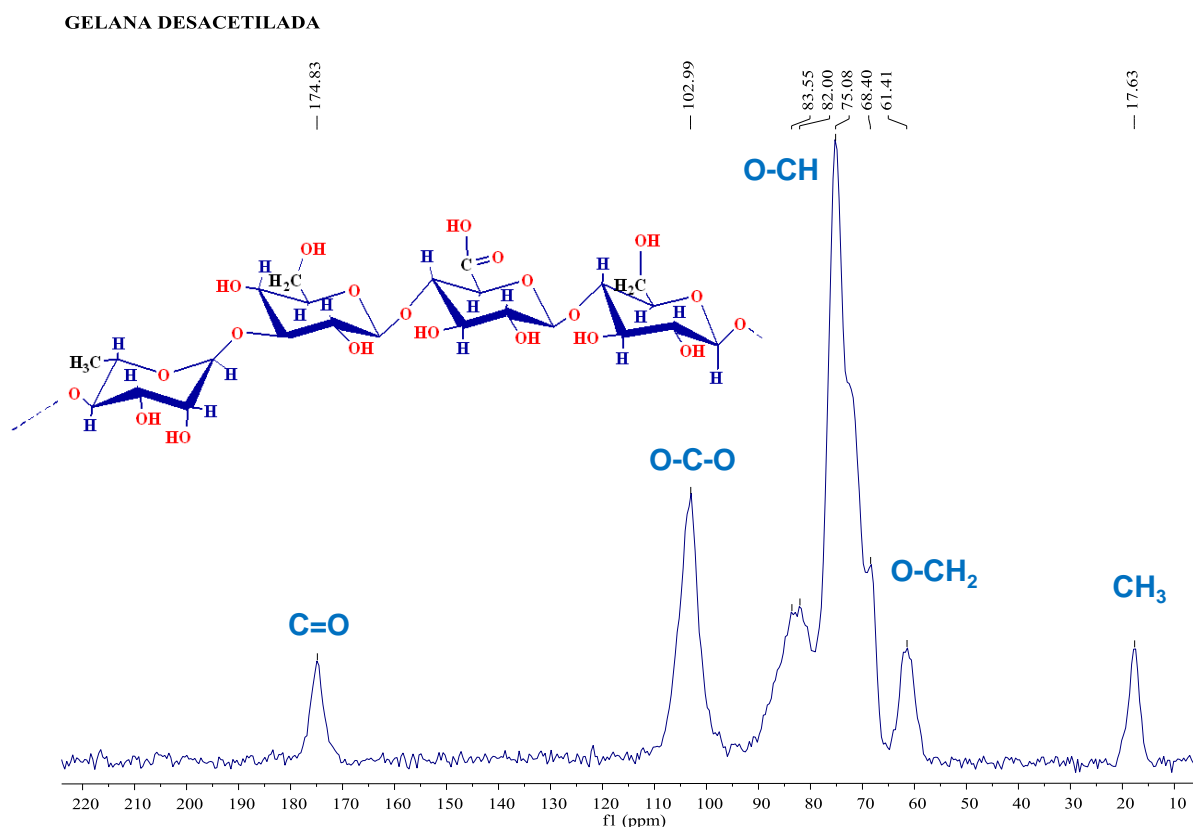
Figura 15—Curvas de TG e DTG da gelana desacetilada (Kelcogel F) e gelana altamente acetilada (Kelcogel LT 100).



Fonte: O autor, 2017.

4.1.4. Ressonância magnética nuclear de ^{13}C no estado sólido (NMR-CPMAS)

Pode-se observar no espectro de NMR da gelana desacetilada (Figura 16) um sinal em 17,6 ppm, referente a um grupo metila da ramnose; uma série de sinais referentes a $\text{CH}_2\text{-OH}$, CH-OH e O-C-O de resíduos do carboidrato na região de 50 a 110 ppm e um sinal referente a C=O de ácido carboxílico em 174,8 ppm (Tabela 2) (LARSEN; ENGELSEN, 2015).

Figura 16 – Espectro de NMR de ^{13}C da gelana desacetilada.

Fonte: O autor, 2017.

Tabela 2 – Deslocamentos químicos e área dos principais sinais do espectro da gelana desacetilada.

Grupamento	Deslocamento químico (ppm)	Área (%)
C=O	174,8	1,1
O-C-O	103,0	4,7
HO-CH	83,5	4,1
HO-CH	82,0	
HO-CH	75,0	8,2
HO-CH ₂	68,2	1,6
HO-CH ₂	61,4	1,5
CH ₃	17,6	1,0

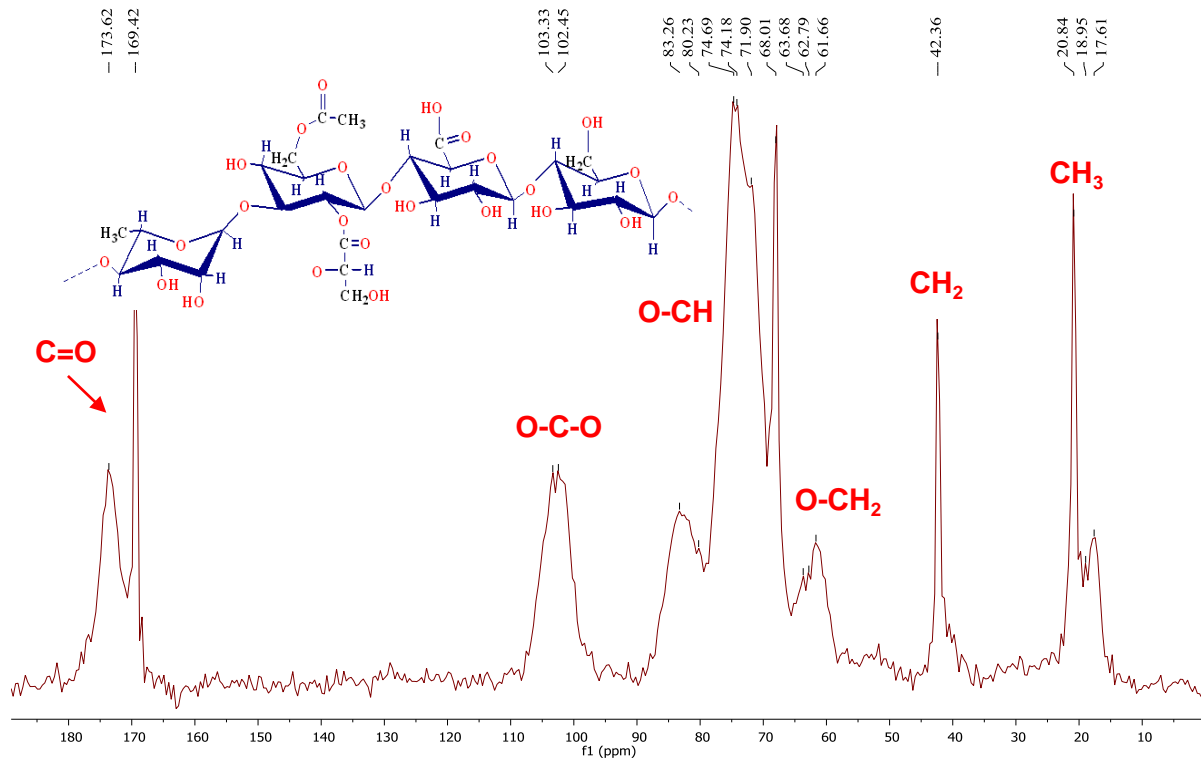
Fonte: O autor, 2017.

Já no espectro de NMR da gelana altamente acetilada (Figura 17), pode-se observar três sinais referentes à CH₃ em 17,6, 18,9 e 20,8 ppm, sendo os dois primeiros referentes a metila da ramnose e o último referente a metila do substituinte acetila localizado num dos resíduos de glicose, um sinal em 42,3 ppm referente a CH₂ metilênico, uma série de sinais

característicos referentes a $\text{CH}_2\text{-OH}$, CH-OH e O-C-O de resíduos do carboidrato na região de 50 a 110 ppm e dois sinais referentes a C=O de éster em 169,4 ppm e de ácido carboxílico em 173,6 ppm (Tabela 3) (LARSEN; ENGELSEN, 2015).

Figura 17 – Espectro de NMR de ^{13}C da gelana altamente acetilada.

GELANA ALTAMENTE ACETILADA



Fonte: O autor, 2017.

Tabela 3 - Deslocamentos químicos e área dos principais sinais do espectro da gelana altamente acetilada

Grupamento	Deslocamento químico (ppm)	Área (%)
C=O	173,6	2,0
	169,4	1,1
O-C-O	103,3	2,9
	102,4	
O-CH	83,3	2,5
	80,2	
O-CH	74,7	6,0
	74,2	
	72,0	2,9
O-CH ₂	68,0	2,2
	62,8	
	61,7	1,8
CH ₂	42,4	1,2
	20,8	1,5
CH ₃	18,9	
	17,6	1,0

Fonte: O autor, 2017.

4.2. Ensaio Preliminares

O objetivo desses estudos preliminares foi conhecer o polissacarídeo gelana em solução e entender os mecanismos de reticulação da gelana através da avaliação dos parâmetros temperatura, variação de pH e adição de agente reticulante divalente CaCl₂ utilizados na mesma solução.

Os diferentes métodos de preparo dos hidrogéis à base de gelana desacetilada propostos nesses estudos preliminares foram:

Método LA preliminar I: Variação do pH a temperatura de 25°C com adição de reticulante após aquecimento. Neste método, o ajuste de pH foi realizado na solução de gelana a temperatura de 25°C. Se não houvesse a formação do hidrogel, após 24 horas do ajuste, promovia-se o aquecimento da solução. Se ainda assim, o gel não tivesse sido formado, adicionava-se o agente reticulante (CaCl₂).

Método LA preliminar II: Variação do pH a 60°C com adição de reticulante após aquecimento. Neste método, também foi realizado ajuste no pH, porém neste caso, a solução da gelana já estava aquecida. Após 24 horas do ajuste, se não houvesse a formação do hidrogel, era adicionado o agente reticulante (CaCl_2).

4.2.1. Método LA preliminar I - Variação do pH a temperatura de 25°C com adição de reticulante após aquecimento

Neste estudo, o pH foi acertado a temperatura de 25°C. Após isso, caso a amostra se apresentasse líquida (não gelificada), era efetuado o aquecimento a 90°C por 30 minutos, seguido do repouso de 24 horas, para avaliação quanto à formação de hidrogel. Se ainda assim a amostra permanecesse líquida, era efetuada a adição de CaCl_2 (10 mM Ca^{2+}) na tentativa de promover a reticulação.

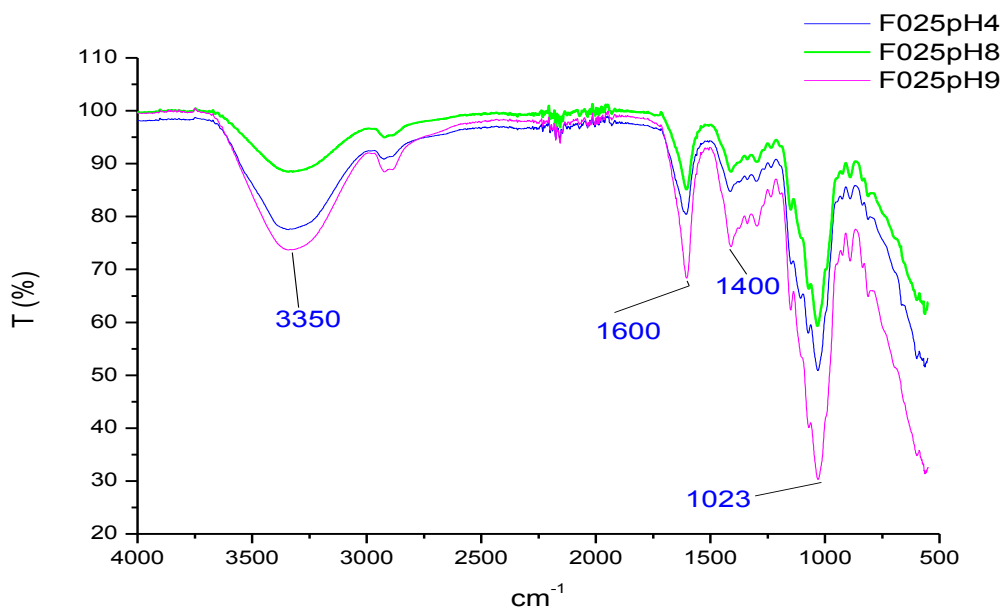
As amostras de hidrogel preparadas variando-se o pH antes do aquecimento, com a solução de gelana na concentração de 0,25 % (m/v), apresentaram as mesmas bandas de absorção no FTIR da gelana pura (Figura 14). Para essa concentração de gelana só foi observada a formação do hidrogel após a adição do reticulante (Ca^{2+}), podendo-se concluir que a alteração dos valores de pH e o aquecimento da solução, realizados anteriormente a adição do reticulante, não foram suficientes para promover a formação de gel nas condições empregadas.

Na região de absorção próxima a 3350 cm^{-1} , que é a região característica de estiramento axial de grupos O-H da glicose, a diferença na intensidade dessa banda nas amostras de hidrogel pode ser atribuída aos diferentes graus das ligações de hidrogênio entre as cadeias poliméricas. Quando se comparam as bandas em 1600 e 1400 cm^{-1} , relacionadas aos grupos carboxilatos das diferentes amostras de hidrogel, é possível notar diferentes intensidades, provavelmente, causada pelos diferentes graus de reticulação das moléculas de gelana, que ocorre por meio da agregação das hélices duplas. A banda em torno de 1023 cm^{-1} está relacionada à deformação angular da ligação C-O (SMITH, 1999; AGNIHOTRI; JAWALKAR; AMINABHAVI, 2006). Como pode ser observado na Figura 18, as maiores intensidades dessas bandas ocorreram na amostra que foi preparada em pH 9, o qual aumenta o caráter iônico da gelana. Antes de a adição do reticulante, em pH básico, tende a ocorrer um aumento da repulsão eletrostática dos grupos carboxílicos da gelana, diminuindo assim, a

associação de hélices e, por conseguinte, diminuindo o grau de reticulação. Provavelmente, este foi o motivo pelo qual não houve a formação do gel em pH 9 antes de se adicionar o reticulante. Porém, a adição dos íons Ca^{2+} propiciou a reticulação da gelana, em virtude do maior caráter iônico de suas cadeias nesse valor de pH.

Em pH 2 e 3, as amostras não formaram hidrogel, mesmo após aquecimento a 90°C e adição de CaCl_2 . Com o abaixamento do pH, ocorreu a turvação da amostra e separação de fases que, segundo Moritaka *et al.* (1995), isso ocorre porque as moléculas de gelana podem ter sido hidrolisadas pelo ácido, não formando, desta forma, o hidrogel. Em pH 3 não foi observada turvação da amostra, porém o pH ainda não foi suficiente para, nessa concentração de gelana, aumentar a agregação intermolecular entre as cadeias poliméricas (HORINAKA *et al.*, 2004). Mesmo com o aquecimento e adição do reticulante CaCl_2 não foi observada formação de hidrogel nesses valores de pH.

Figura 18 - Espectros de FTIR das amostras de hidrogéis preparadas pelo método LA preliminar I (concentração de gelana: 0,25 % m/v).



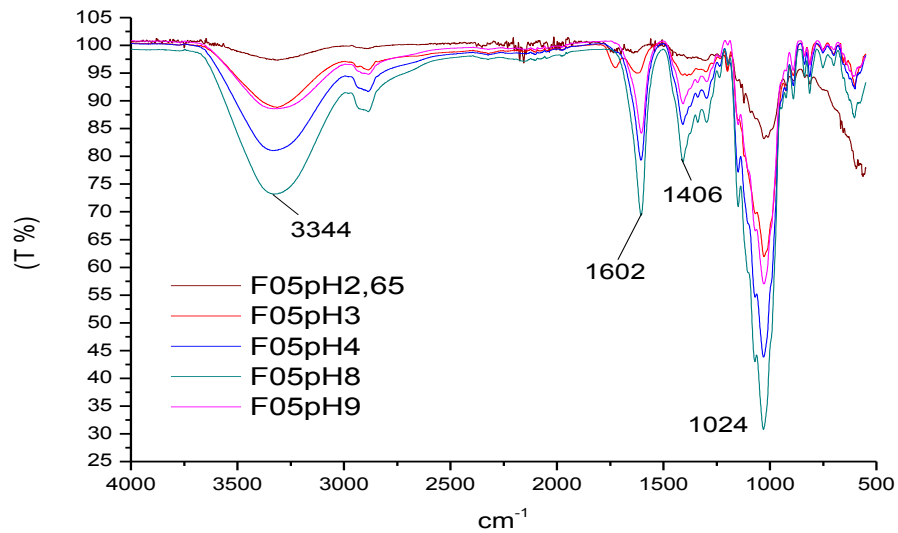
Fonte: O autor, 2017.

Aumentando-se a concentração da gelana para 0,5 % (m/v), não foi possível atingir o pH 2 já que, com a adição de HCl 0,1M e, a consequente redução do pH, a dispersão do ácido na solução tornou-se dificultada em virtude do aumento da viscosidade do meio, conseguindo-se atingir somente o valor de pH 2,65. Segundo Moritaka *et al.* (1995), com a redução do pH,

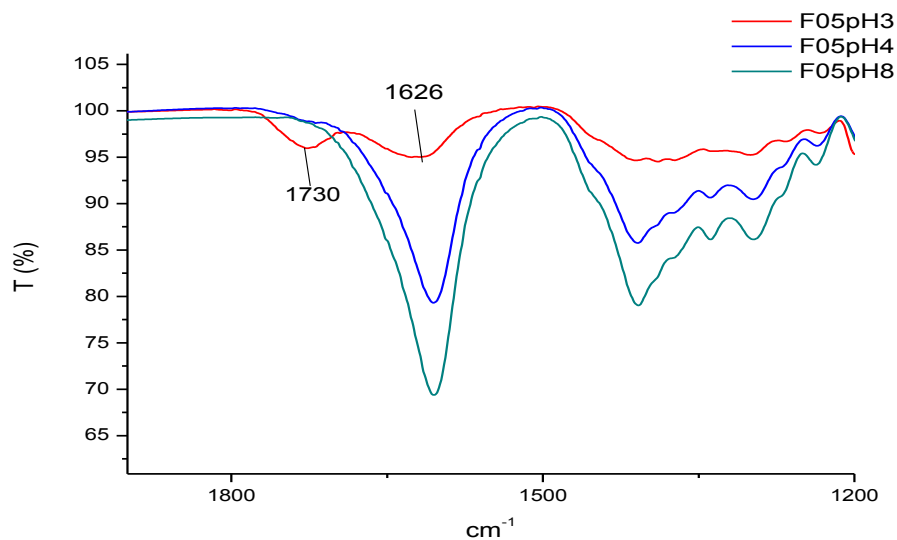
os íons hidrogênio (H^+) compensam a carga negativa dos grupos carboxílicos da gelana, diminuindo, dessa forma, a repulsão eletrostática entre as moléculas do polissacarídeo propiciando a formação de hélices duplas. Logo, o aumento na concentração dos íons hidrogênio pode favorecer o aumento do número de zonas de junção nos géis de gelana. Esse aumento do número de zonas de junção deixa as moléculas de gelana mais agregadas (agregação das hélices duplas). Esse fato, somado à maior concentração da solução de gelana (que causa um aumento do número de interações intermoleculares), provoca um aumento na viscosidade da solução, o que dificulta a ação do HCl 0,1M para se atingir o pH 2.

A Figura 19(a) mostra os espectros de FTIR das amostras preparadas variando-se o pH antes do aquecimento, com a solução de gelana a 0,5 % m/v. Pode-se notar que todas as amostras apresentaram, basicamente, as mesmas bandas características da gelana pura. Nas regiões em torno de 3350 cm^{-1} e 1020 cm^{-1} , referentes ao estiramento axial de OH e estiramento axial C-O, podem-se observar diferentes intensidades relacionadas à formação de ligações de hidrogênio. Essas bandas são características de álcool e são sensíveis à ligação de hidrogênio, aumentando ou diminuindo de intensidade conforme a quantidade de ligações de hidrogênio (SILVERSTEIN et al., 2009). Nas regiões em torno de 1600 cm^{-1} e 1400 cm^{-1} , típicas de ânions carboxilato, são observadas diferentes intensidades nos espectros que podem estar relacionadas ao aumento da ionização dos grupos COOH conforme o aumento do pH. O aumento do pH acima do pKa do grupos carboxílicos (COOH) presentes nas cadeias de gelana (pKa em torno de 3,5) favorece a formação dos íons COO^- e, por consequência, aumenta a quantidade de desse íons disponíveis no meio (SILVERSTEIN et al., 2009; ULLAH et al., 2015). Na Figura 19(b), é possível observar o aparecimento de uma banda de absorção em 1730 cm^{-1} . Isso pode ser explicado pelo aumento de íons hidrogênio (H^+) provocado pela redução do pH. A presença desses íons compensa as cargas negativas dos grupos carboxilatos da gelana e, por conseguinte, podem causar o aparecimento da banda característica de C=O de ácido carboxílico em 1730 cm^{-1} (estiramento da ligação C=O) (SMITH, 1999).

Figura 19 - Espectros de FTIR das amostras de hidrogéis preparadas pelo método LA preliminar I: (a) todas as amostras; (b) detalhe dos espectros na região entre 1900 e 1200 cm^{-1} das amostras com pH = 3, 4 e 8. (Dado: Solução de gelana a 0,5 % m/v)



(a)



(b)

Fonte: O autor, 2017.

Diferente do observado nas amostras preparadas com a solução de gelana 0,25% m/v, na concentração de estudo (0,5 % m/v), a amostra preparada em pH 3 formou gel (Figura 20) apenas com a alteração do pH, não necessitando da adição de reticulante, podendo-se concluir que o aumento da concentração do polissacarídeo e de íons H^+ em solução aumentam a agregação intermolecular entre as cadeias poliméricas, favorecendo a formação de gel.

Figura 20 - Fotografia digital da amostra de hidrogel preparada pelo método LA preliminar I, na concentração de gelana 0,5 % m/v e pH = 3 (sem adição de reticulante).



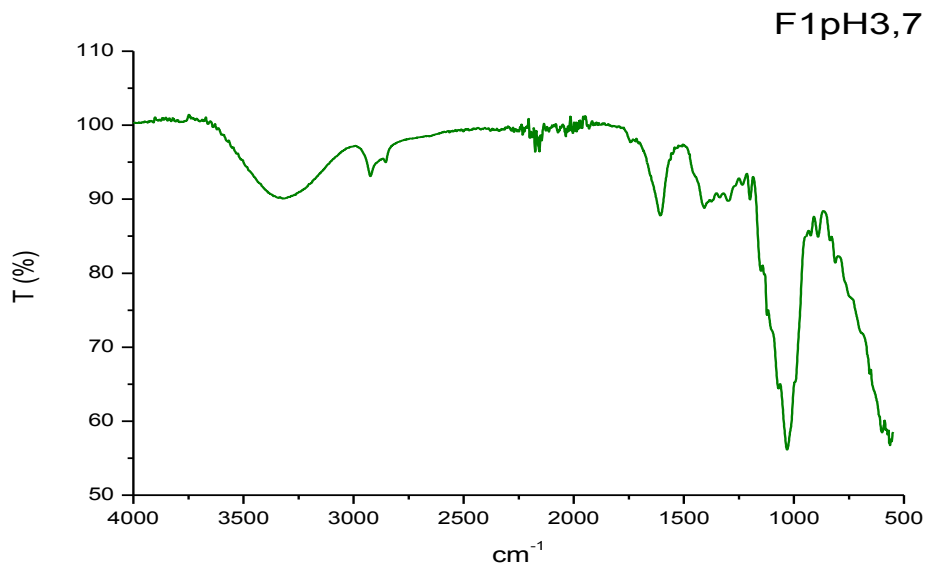
Fonte: O autor, 2017.

Com a solução aquosa de gelana na concentração de 1,0 % m/v, o controle de pH na faixa ácida foi bastante dificultado devido ao aumento de viscosidade da solução. O pH natural da solução de gelana está em torno de 5,0 e ao se reduzir o pH com a adição de HCl 0,1M, observou-se um aumento progressivo da viscosidade da solução, o que dificultou a dispersão do ácido na mistura e o controle efetivo do pH. Por isso, a adição de HCl foi interrompida quando o pH da solução atingiu o valor de pH 3,7. Esse fenômeno já foi explicado anteriormente nesse trabalho, baseando-se nos relatos de Moritaka *et al.* (1995), já que a amostra na concentração de 0,5% m/v apresentou problema similar ao se tentar atingir o pH 2.

Para o controle de pH na faixa alcalina, isso não foi observado, podendo-se preparar soluções aquosas de gelana 1 % m/v em pH 8, 9 e 10. Entretanto, nesta faixa de pH, não foi observada a formação de hidrogel. O aumento da concentração de $(OH)^-$ no meio, aumenta o caráter iônico da gelana, dificultando assim, a agregação das moléculas poliméricas e a posterior formação do hidrogel.

Das amostras preparadas com a solução de gelana a 1,0 % m/v, a única que formou hidrogel foi a amostra em pH 3,7. A Figura 21 mostra o espectro de FTIR desta amostra.

Figura 21 - Espectro de FTIR da amostra de hidrogel preparada pelo método LA preliminar I.
Dado: Solução de gelana a 1,0 % m/v

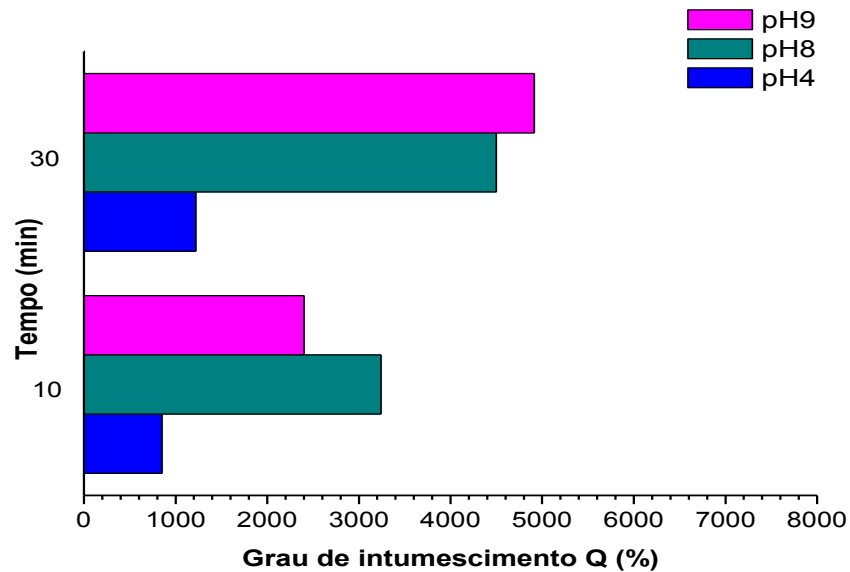


Fonte: O autor, 2017.

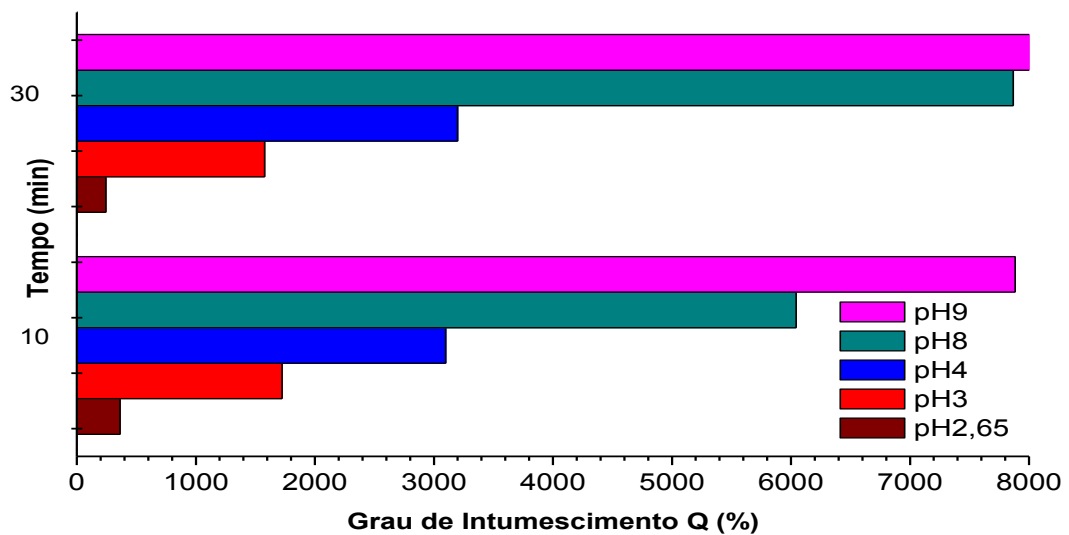
Na Figura 22(a) são apresentados os valores do grau de intumescimento (Q) determinado após 10 e 30 minutos de imersão do hidrogel na água, das amostras preparadas com solução de gelana a 0,25% (m/v) e em diferentes valores de pH. Pode-se observar que o menor valor de Q foi obtido em pH ácido, o que pode ser atribuído a maior agregação das cadeias de gelana em baixos valores de pH, originando assim, um hidrogel com maior grau de reticulação e, por conseguinte, um menor grau de intumescimento.

Na Figura 22(b), mesmo aumentando-se a concentração de gelana para 0,5% (m/v), observou-se o mesmo comportamento, ou seja, os maiores valores de intumescimento foram obtidos com os hidrogéis preparados em pH básico.

Figura 22 - Grau de intumescimento (Q) das amostras de hidrogel preparadas pelo método LA preliminar I, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a) e 0,5 (b)



(a)



(b)

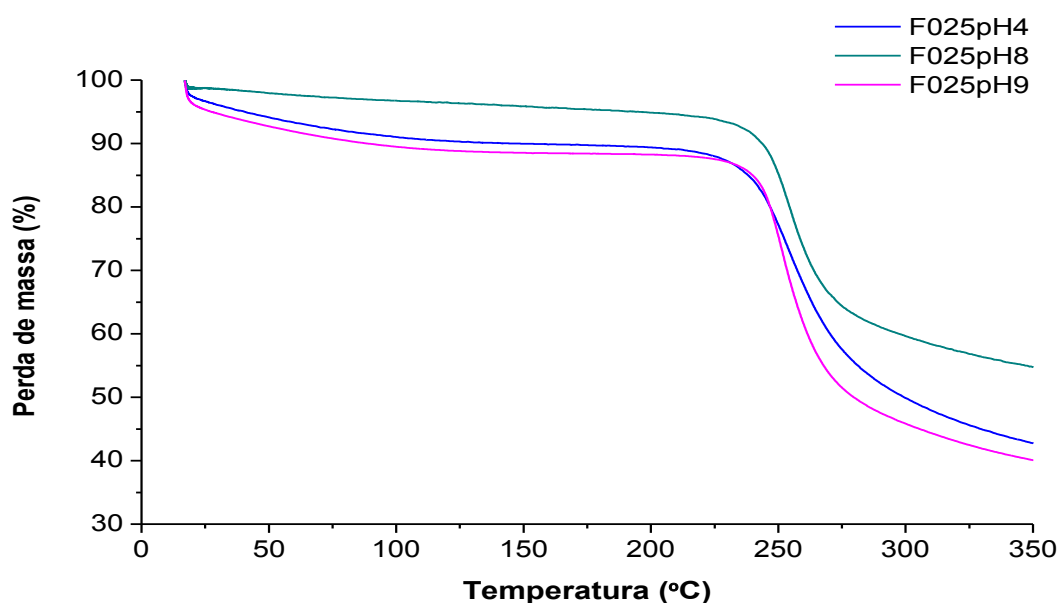
Fonte: O autor, 2017.

Com o aumento da concentração de gelana para 1% m/v, o único hidrogel formado foi o da amostra preparada com pH 3,7. Isso ocorreu, pois, o aumento da viscosidade do meio dificultou a adição de HCl para a redução do pH para os valores 2 e 3. Esta amostra de hidrogel atingiu valores de intumescimento de 3105% e 3867% em 10 e 30 minutos de

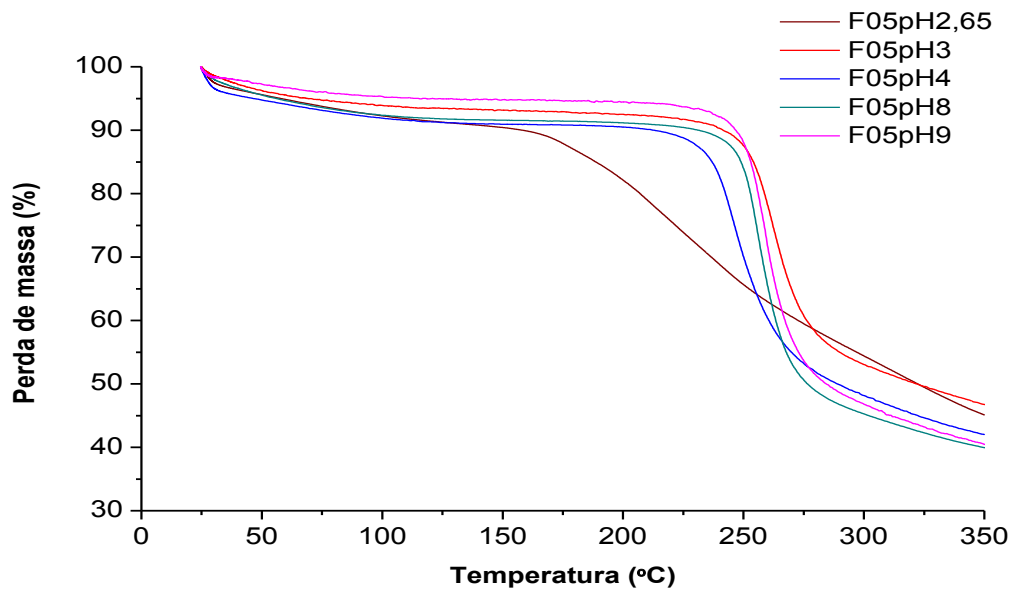
imersão em água, respectivamente. Em pH alcalino, para essa concentração de estudo, não foi observada a formação de hidrogel. Isso pode estar relacionado à quantidade de reticulante adicionada não ter sido suficiente para neutralizar os grupamentos COO^- disponíveis nas cadeias de gelana, de forma a promover a reticulação e a posterior formação de hidrogel.

Quanto às características térmicas, nos hidrogéis preparados com a solução de gelana 0,25% (m/v), pode-se observar na Figura 23(a) que as amostras preparadas em pH 8 e 9 apresentaram maior resistência térmica (ambas com $T_{\text{onset}} = 245^\circ\text{C}$) do que a amostra obtida na mesma concentração, porém em pH 4 ($T_{\text{onset}} = 238^\circ\text{C}$). Provavelmente isso ocorreu, pois o aumento do pH para valores básicos, aumenta o caráter iônico da gelana, provocando um aumento da repulsão eletrostática dos grupos carboxilato da gelana. Neste caso, a adição do reticulante CaCl_2 , tende a aumentar a reticulação e, por consequência, aumentar a resistência térmica das amostras.

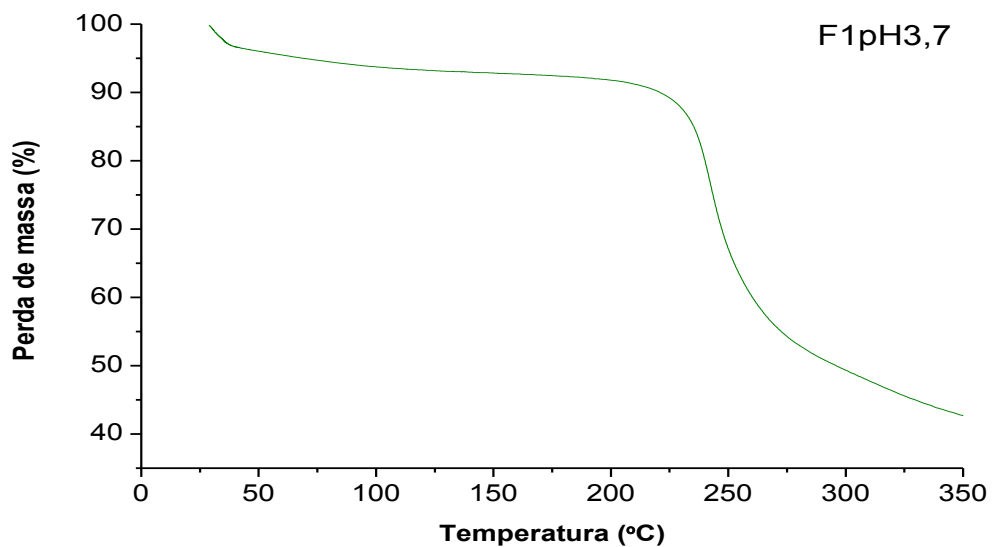
Figura 23 - Curvas de TG dos hidrogéis preparados pelo método LA preliminar I, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b) e 1,0 (c).



(a)



(b)



(c)

Fonte: O autor, 2017.

Com o aumento da concentração da gelana para 0,5 % m/v, observa-se na Figura 23(b) que a curva obtida para a amostra preparada em pH 2,65 foi a única que não apresentou um perfil de decomposição térmica similar às outras curvas obtidas em diferentes valores de pH. Como citado anteriormente, não foi possível atingir pH 2 devido ao aumento da viscosidade da solução ao se atingir o ponto gel. Logo, observa-se uma grande redução na resistência

térmica do hidrogel obtido em pH 2,65, já que o início de sua decomposição térmica está em torno de 170°C com acentuada perda de massa a partir desse ponto. Provavelmente, a alta viscosidade da solução, não permitiu que as cadeias de gelana fossem totalmente reticuladas (baixo grau de associação entre as hélices duplas).

As amostras obtidas em pH 3, 8 e 9 apresentaram T_{onset} em 246°C, 243°C e 244°C, respectivamente. De acordo com a variação máxima permitida referente à técnica ($\pm 4^\circ\text{C}$), pode-se afirmar que essa diferença de valores não é significativa.

Entretanto, a amostra obtida em pH 4 apresentou T_{onset} igual a 236°C, sendo a amostra de menor resistência térmica nessa concentração de estudo. A amostra em pH 3 apresentou T_{onset} igual a 246°C, e não necessitou da adição de CaCl_2 para reticulação da amostra, ao contrário da amostra preparada em pH 4, que precisou da adição do agente reticulante para que ocorresse a reticulação da gelana. Assim, supõem-se que, em pH 4, pode ter ocorrido uma competição entre os íons H^+ provenientes do HCl, usado para acidificar o meio e reduzir o pH, e os íons Ca^{+2} usados na tentativa de promover a reticulação.

Segundo a literatura (BAJAJ et al., 2007; PICONE, 2008; DAI et al., 2010; MORRIS et al., 2012), a gelificação da gelana pode ocorrer mediante aquecimento e resfriamento de sua solução em presença de cátions e é função da concentração do polímero, mudança de força iônica do meio, alterações de pH, temperatura e presença de cátions monovalentes e divalentes em solução. A redução do pH gera menor dissociação dos grupos carboxílicos laterais das moléculas de gelana, tornando-a um polieletrólito menos aniônico, com menor repulsão eletrostática. Isso leva a uma redução das dimensões das cadeias permitindo a formação de duplas hélices pela associação de duas moléculas, com a presença de ligações de hidrogênio entre o ácido glucorônico de uma cadeia e a glicose e a ramnose de outra cadeia. Além disso, íons H^+ presentes no meio se ligam à superfície das hélices individuais e diminuem sua densidade de carga, reduzindo a barreira eletrostática para agregação das hélices e possibilitando a formação de “zonas de junção”. Interações secundárias, como ligações de hidrogênio, ligam as cadeias às zonas de junção, o que resulta na gelificação macroscópica (transição sol-gel). Em relação à natureza do cátion no mecanismo de gelificação da gelana, sabe-se que cátions divalentes promovem a gelificação de forma muito mais efetiva do que os cátions monovalentes (blindam a repulsão eletrostática e favorecem a agregação das duplas hélices). Os cátions divalentes formam ligações iônicas diretamente com os grupos carboxílicos de diferentes cadeias de gelana, resultando na agregação das duplas hélices por pontes entre as cadeias. Assim, propõe-se que no presente estudo devam ter ocorrido diferentes mecanismos de reticulação da gelana, seja por redução de pH ou por

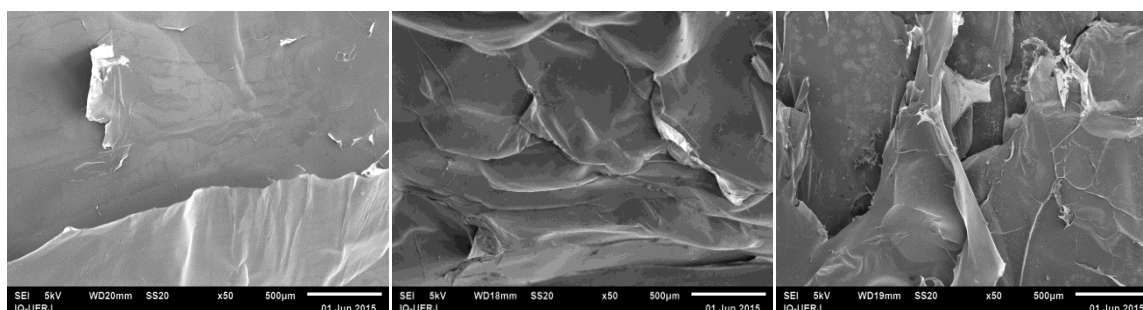
adição do reticulante (Ca^{2+}), o que pode ter provocado a ocorrência de locais onde as interações não foram efetivas, ocasionando assim, falhas na reticulação e, conseqüentemente, gerando a redução da resistência térmica da amostra preparada com solução de gelana 0,5 % (m/v) e pH 4.

Para a concentração de 1% de gelana, pode-se observar na Figura 23(c) um valor de $T_{\text{onset}} = 232^{\circ}\text{C}$, que é inferior aos valores de T_{onset} de 238°C e 236°C , obtidos para as concentrações de 0,25% e 0,5%, respectivamente. Pode-se concluir que o aumento da concentração de gelana, em pH 3,7, não aumentou a resistência térmica do material. Isso pode estar atribuído a competição entre os íons H^{+} provenientes da redução do pH e a presença dos cátions Ca^{+2} oriundos da solução de CaCl_2 que não foram suficientes para neutralizar todos os grupamentos OH e COO^{-} presentes nas cadeias das gelanas.

Quanto à morfologia, na concentração de 0,25% de gelana, pode-se observar na Figura 24(a) que à medida que o pH diminuiu, houve uma tendência à diminuição de espaços vazios ou volume livre nas amostras, o que pode favorecer a reticulação, devido a maior agregação entre as duplas hélices das cadeias de gelana. Isso está de acordo com os valores de intumescimento encontrados, onde os maiores valores de intumescimento foram obtidos em pH alcalino (8 e 9).

Para as amostras preparadas com 0,5% (m/v) pode-se observar na Figura 24(b) a presença de poros na amostra em pH 8, o que justificaria seu intumescimento. Para a amostra em pH 9 pode-se observar que a estrutura apresenta alguns vazios que podem ser capazes de absorver uma boa quantidade de água, face ao caráter hidrofílico da gelana.

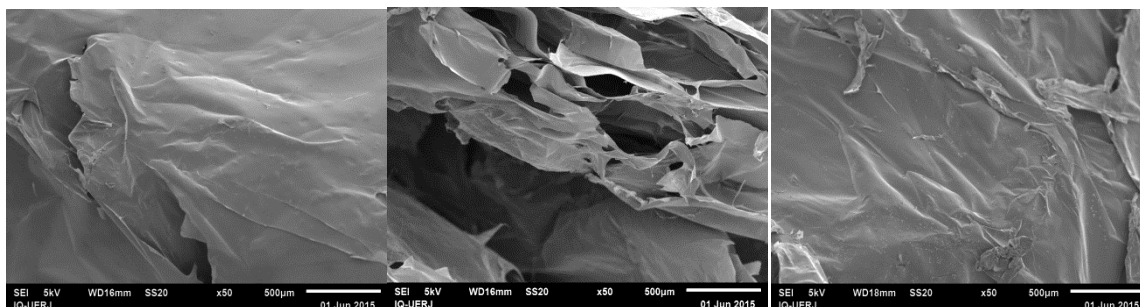
Figura 24 – Micrografias de SEM dos hidrogéis preparados pelo método LA preliminar I, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a) e 0,5 (b)



(a) pH4

pH8

pH9



(b) pH4

pH8

pH9

Fonte: O autor, 2017.

Após a realização das caracterizações dessa metodologia, seguem abaixo (Tabela 4), os resultados obtidos para grau de intumescimento Q (%) e temperatura inicial de decomposição (T_{onset}) dos hidrogéis.

Tabela 4 - Valores de grau de intumescimento (Q) e temperatura inicial de decomposição (T_{onset}) para os hidrogéis obtidos pela variação do pH a temperatura de 25°C com adição de reticulante após aquecimento

Hidrogéis	Q (%)	T_{onset} (°C)
F025pH4	1220 ± 94	238
F025pH8	4500 ± 132	245
F025pH9	4915 ± 87	245
F05pH2,65	244 ± 12	170
F05pH3	1577 ± 71	246
F05pH4	3200 ± 84	236
F05pH8	7867 ± 450	243
F05pH9	9500 ± 1008	244
F1pH3,7	3867 ± 144	232

Fonte: O autor, 2017.

Pode-se concluir que, pelos resultados obtidos, as amostras F025pH8, F025pH9 preparadas com 0,25% de gelana e em pH 8 e 9 e as amostras F05pH3, F05pH8 e F05pH9 preparadas com 0,5% de gelana e em pH 3, pH 8 e pH 9 apresentaram resistências térmicas similares a gelana desacetilada LA que é de 245°C, porém com capacidades de intumescimento diferentes, sendo que os maiores valores de intumescimento foram obtidos nas amostras com 0,5% de gelana em pH 8 e 9 (7867% e 9500%, respectivamente).

4.2.2. Método LA preliminar II - Variação do pH a temperatura de 60°C com adição de reticulante após aquecimento

Sabe-se que a conformação e a estrutura da gelana dependem da concentração do polímero, da temperatura, do meio aquoso e da presença de cátions mono ou divalentes na solução (GIAVASIS et al., 2000). A gelana possui uma estrutura em dupla hélice, que é estabilizada por ligações de hidrogênio entre as cadeias, envolvendo os grupos carboxilados e os resíduos glucuronatos (BANIK; KANARI; UPADHYAY, 2000).

No preparo dos hidrogéis pelo método LA preliminar II, ocorreram as seguintes etapas:

a) A solução aquosa de gelana foi aquecida a 60°C e o pH foi controlado nesta temperatura.

Em água, em baixa força iônica e em pH neutro, a agregação das hélices é impedida pela repulsão eletrostática entre os grupos carboxílicos da gelana carregados negativamente. Isto, somado ao aquecimento da solução, faz com que as cadeias adquiram a conformação de novelo aleatório. Ao se variar o pH, pode-se ter:

pH ácido - aumento da concentração de íons positivos na solução (H^+), o que diminui a repulsão eletrostática entre as hélices e, favorece a associação de hélices, por meio de ligações de hidrogênio;

pH básico – aumento do caráter iônico da amostra, com conseqüente aumento da repulsão eletrostática entre os grupos carboxílicos da gelana, diminuindo assim, a associação de hélices. O aumento do pH sugere a formação de uma rede menos reticulada, com um menor número de hélices agregadas.

Provavelmente, após o aquecimento da solução de gelana a 60°C, as cadeias poliméricas estão na conformação de novelo aleatório. A diminuição do pH (meio ácido), mesmo sendo realizada a 60°C, pode ter promovido a formação de hélices duplas e, conseqüente associação dessas hélices. Enquanto que o aumento do pH não favoreceu a formação de hélices.

b) Em seguida, a temperatura foi elevada para 90°C e mantida por 30 minutos.

A alta temperatura tende a desfazer as possíveis hélices formadas. Assim, ao se elevar a temperatura para 90°C, pode ter havido uma nova separação de hélices e cadeias poliméricas.

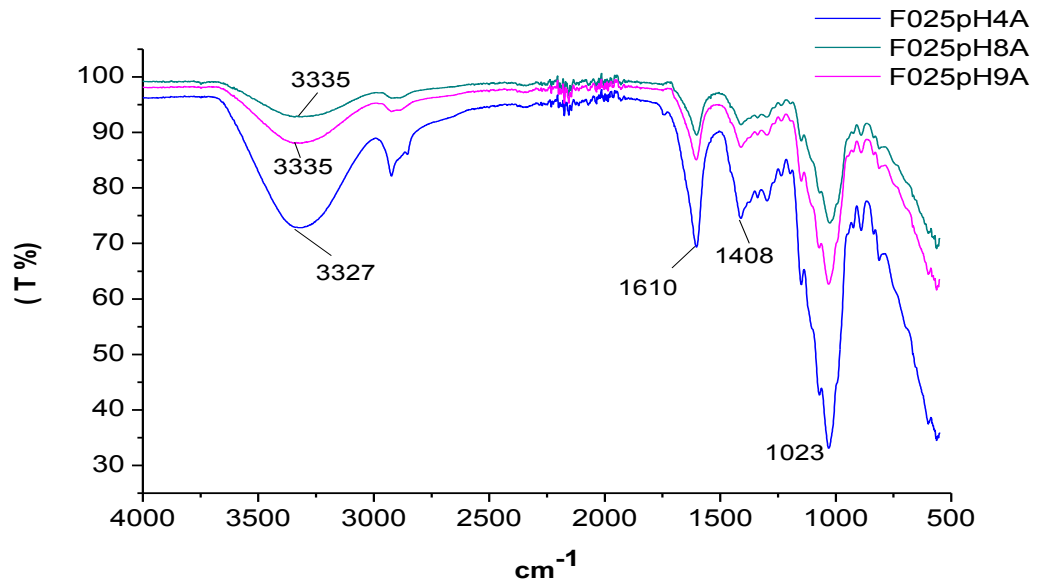
c) Após os 30 minutos, a solução foi resfriada até atingir 25°C e deixada em repouso por 24 horas.

Com o resfriamento da solução, as moléculas podem voltar a se agrupar em hélices duplas e, por conseguinte, pode haver a associação dessas hélices duplas, originando assim, uma rede polimérica (hidrogel).

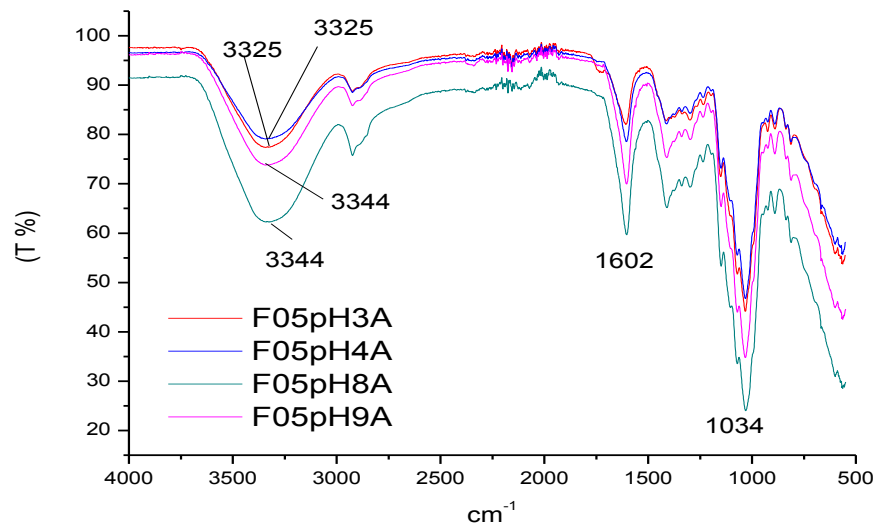
Os espectros de FTIR das amostras de hidrogel preparada pelo método LA preliminar II com a solução de gelana a 0,25 % (m/v) mostram que a intensidade da banda em 3350 cm^{-1} , característica de estiramento axial de grupos O-H da unidade glucopiranosose e da banda em torno de 1023 cm^{-1} , característica de estiramento axial de grupos CO são mais intensas em pH 4 do que as obtidas em pH alcalino, o que pode estar relacionado a diferença no grau de ligações de hidrogênio entre as cadeias poliméricas, já que essas são bandas sensíveis a formação de ligações de hidrogênio. Para as regiões em torno de 1610 cm^{-1} e 1408 cm^{-1} , referentes aos íons COO^- , era de se esperar maiores intensidades das bandas nessas regiões conforme o aumento do pH e consequente aumento da ionização dos grupos COOH. Porém, os íons Ca^{+2} , provenientes da adição de solução de CaCl_2 ao meio, podem ter se ligado a esses grupos COO^- presentes nas cadeias de gelana ocasionando a redução da intensidade dessas bandas (SARTORI et al., 1997; SILVERSTEIN et al., 2009; ULLAH et al., 2015). Provavelmente, este deve ser o motivo pelo qual, as amostras preparadas com solução de gelana a 0,25 % m/v e em pH básico (Figura 25a), apresentaram bandas de absorção com menores intensidades.

Em pH 2 e 3, as amostras preparadas com solução de 0,25 % m/v não formaram hidrogel, mesmo com a adição de CaCl_2 . Provavelmente, deve ter ocorrido a hidrólise ácida da gelana nessa faixa de pH.

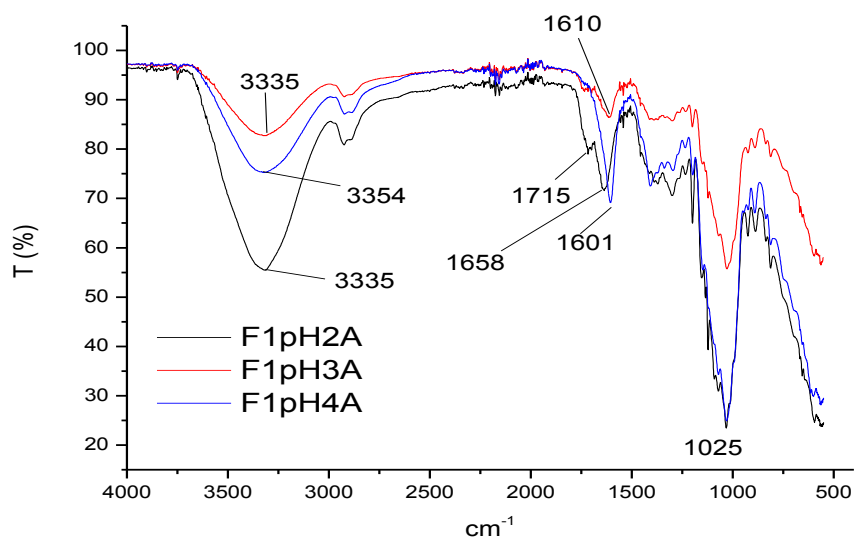
Figura 25 - Espectros de FTIR das amostras preparadas pelo método LA preliminar II, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b) e 1,0 (c)



(a)



(b)



(c)

Fonte: O autor, 2017.

O aumento da concentração de gelatina aumenta o número de cadeias poliméricas presentes no meio, aumentando consequentemente a quantidade de grupamentos $(OH)^-$ presentes nas cadeias poliméricas. Desta forma, supõem-se que a adição de íons H^+ , provenientes do acerto de pH para faixa ácida e a adição de $CaCl_2$ não foram suficientes para neutralizar todos esses grupamentos $(OH)^-$.

Em contrapartida, o aumento do caráter iônico causado pelo pH básico, favorece a reticulação com cátions. Assim, neste caso, a adição de $CaCl_2$ promoveu de forma satisfatória a reticulação das cadeias da gelatina com os cátions Ca^{2+} levando-se consequentemente a formação do hidrogel. A Figura 25(b) mostra que as amostras preparadas com a solução de gelatina a 0,5 % m/v e em pH básico forneceram espectros com bandas de absorção de maior intensidade do que as amostras preparadas em pH ácido. Provavelmente, isso deve ter ocorrido em virtude da ocorrência da reticulação das amostras de gelatina a 0,5 % m/v com os cátions Ca^{2+} .

Em pH 2 também não ocorreu a formação de hidrogel, provavelmente em função da hidrólise ácida da gelatina.

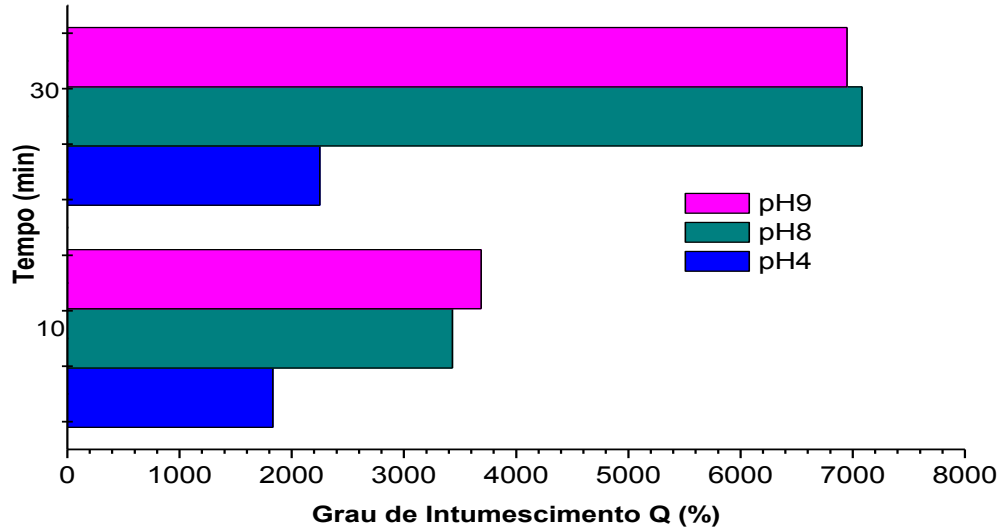
Para as amostras preparadas com a solução de gelatina a 1% m/v (Figura 25c), pode-se observar no espectro do hidrogel formado em pH 2, bandas intensas na região entre 3000 e 3500 cm^{-1} , característica de estiramento axial de grupos O-H da glicose e em torno de 1025 cm^{-1} típica de estiramento axial CO. Como são bandas sensíveis a formação de ligações de

hidrogênio, pode-se supor que o aumento da concentração de gelana, nesse pH, favoreceu a formação de ligações de hidrogênio adicionais (SILVERSTEIN et al., 2009). A diferença na intensidade dessas bandas, nas amostras de hidrogel, pode ser atribuída aos diferentes graus das ligações de hidrogênio entre as cadeias poliméricas. Isso também foi observado nas amostras de gelana nas concentrações de 0,25% e 0,5% m/v, porém o aumento na concentração de gelana com consequente aumento dos grupamentos $(OH)^-$, provavelmente, possa ter aumentado a intensidade da banda próxima a 3350 cm^{-1} . Na região em torno de 1600 e 1610 cm^{-1} , pode-se observar uma banda de maior intensidade em pH 4, o que está associado ao aumento do caráter aniônico da gelana devido a ionização dos grupos COOH presentes nas cadeias de gelana. Em pH 3 essa banda é menos intensa e em pH 2 ocorre um acoplamento entre as bandas de 1658 cm^{-1} e 1715 cm^{-1} que podem estar relacionadas a um estiramento CO de ácido carboxílico (SILVERSTEIN et al., 2009, ULLAH et al., 2015).

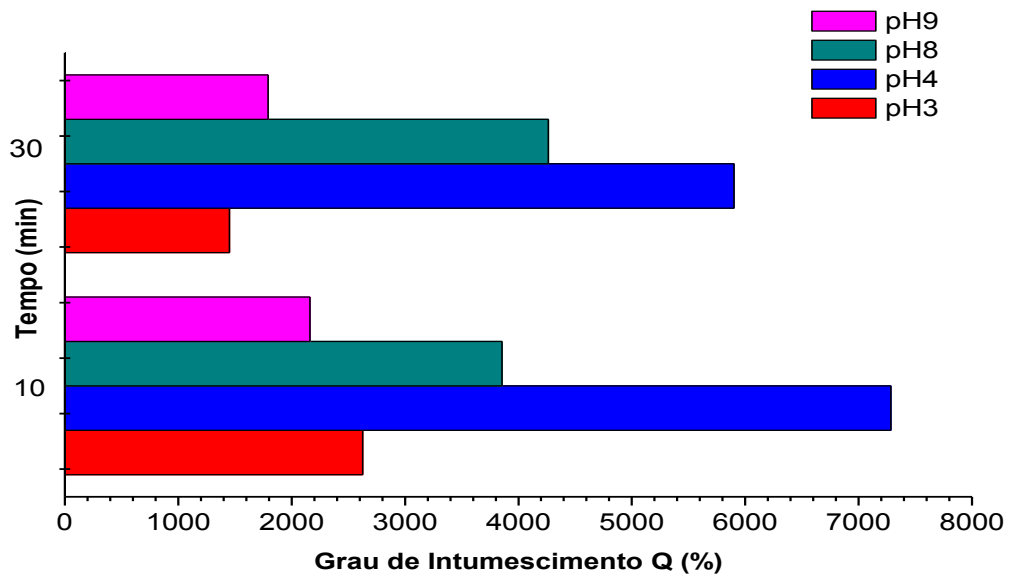
Conforme pode ser observado na Figura 26(a), o grau de intumescimento para os géis produzidos com 0,25% m/v de gelana apresentaram os maiores valores de inchamento em pH alcalino, provavelmente, isso aconteceu em virtude dessas amostras estarem menos reticuladas do que as amostras preparadas em pH ácido. Entretanto, com os hidrogéis preparados com 0,5% m/v de gelana, conforme Figura 26(b) foi obtido um maior valor de inchamento em pH 4 e, um decréscimo no inchamento com o aumento do pH (pH básico). Isto deve ter ocorrido devido às amostras em pH básico apresentarem maior caráter iônico do que as amostras em pH ácido devido ao aumento de grupamentos $(OH)^-$. Isso proporcionou um aumento na reticulação com íons Ca^{2+} (reticulação ionotrópica), o que pode ter originado hidrogéis com maior grau de reticulação e, consequente grau de inchamento menor.

Quanto mais ácido o meio, maior é a habilidade de agregação intermolecular entre as cadeias de gelana. Logo, o hidrogel em menor valor de pH irá apresentar menor capacidade de inchamento (HORINAKA et al., 2004), como pode ser observado na Figura 26(c) para a amostra em pH 3 com 1,0% de gelana (m/v). Em pH 4 observa-se um maior inchamento, provavelmente, devido à menor concentração de íons H^+ , se comparada com amostra em pH 3, o que faz com que o efeito de agregação intermolecular seja menos pronunciado.

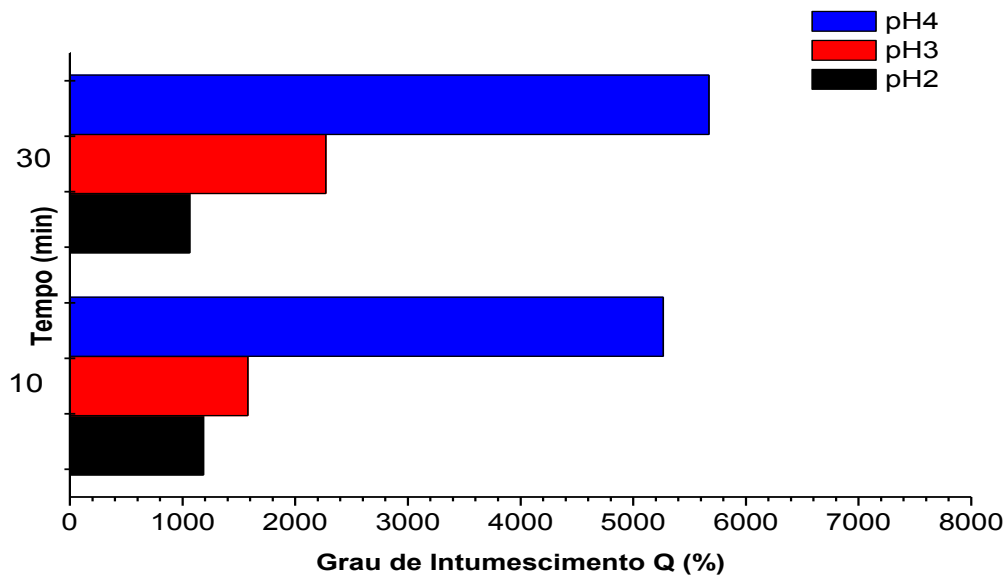
Figura 26 - Grau de intumescimento (Q) das amostras preparadas pelo método LA preliminar II, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b) e 1,0 (c)



(a)



(b)

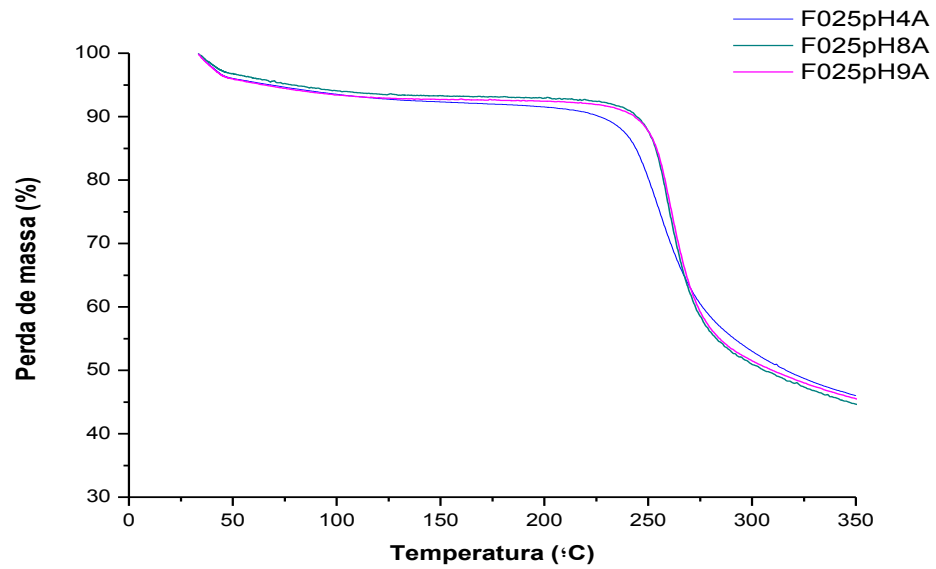


(c)

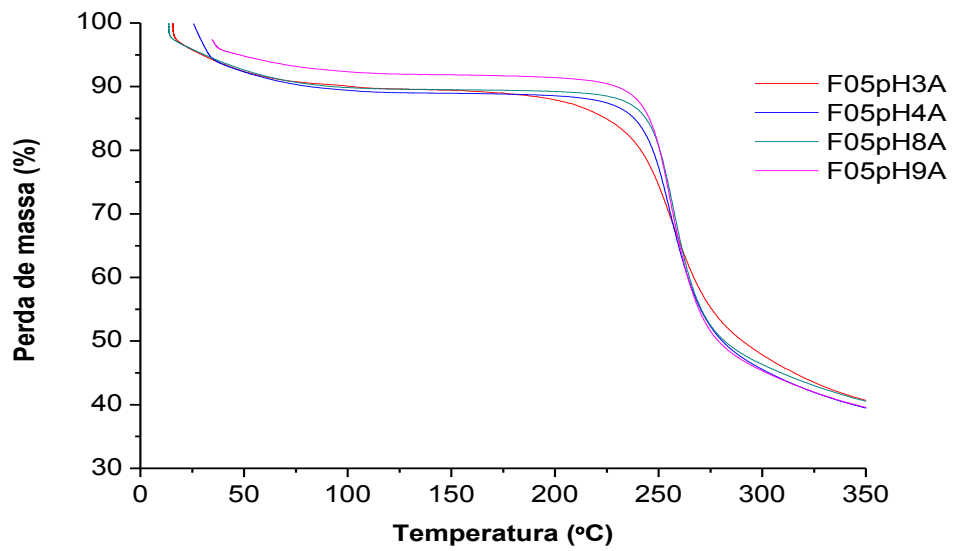
Fonte: O autor, 2017.

Nos hidrogéis preparados variando-se o pH após o aquecimento, com a solução de gelana a 0,25% m/v, pode-se observar na Figura 27(a), que a amostra em pH 4 apresentou menor resistência térmica ($T_{\text{onset}} = 239^{\circ}\text{C}$) do que as amostras obtidas na mesma concentração, fato que pode ser comprovado pelo aumento da temperatura inicial de decomposição térmica das demais amostras ($T_{\text{onset}} = 246^{\circ}\text{C}$ e 245°C , respectivamente). O modo de preparo do hidrogel influenciou na conformação das cadeias de gelana, já que com a redução do pH era esperado um aumento no número de zonas de junção nos géis de gelana, que deixaria as moléculas de gelana mais agregadas, o que pode não ter ocorrido.

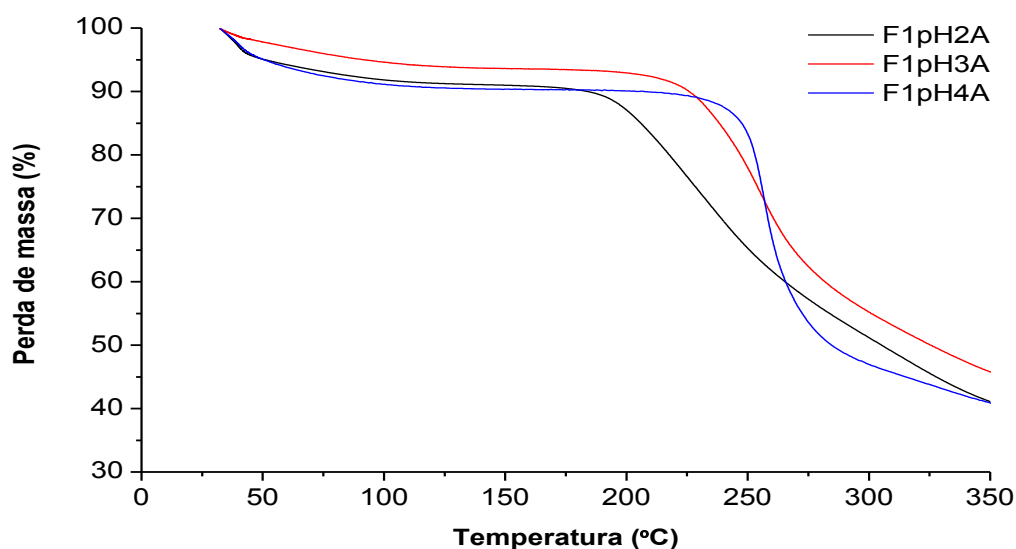
Figura 27 - Curvas de TG dos hidrogéis preparados pelo método LA preliminar II, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b) e 1,0 (c)



(a)



(b)



(c)

Fonte: O autor, 2017.

Com o aumento da concentração da gelana para 0,5 % m/v, observa-se na Figura 27(b) que a resistência térmica dos hidrogéis aumentou com o aumento do pH, já que em pH 3 e 4 as temperaturas iniciais de decomposição térmica ($T_{\text{onset}} = 235^{\circ}\text{C}$ e 236°C) foram inferiores as temperaturas obtidas em pH 8 e 9 ($T_{\text{onset}} = 245^{\circ}\text{C}$ e 246°C), respectivamente.

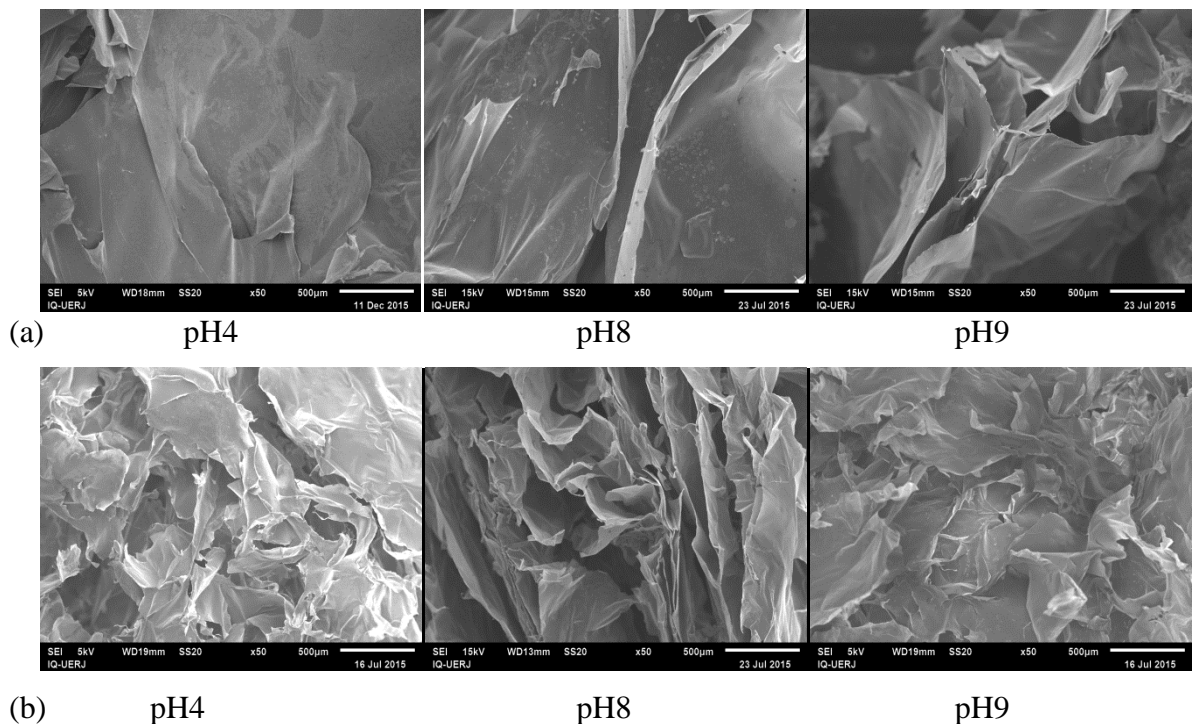
Para a concentração de 1% de gelana, pode-se observar na Figura 27(c) que a amostra em pH 4 apresentou maior resistência térmica do que as amostras obtidas na mesma concentração ($T_{\text{onset}} = 236^{\circ}\text{C}$), fato que pode ser comprovado pelo aumento da temperatura inicial de decomposição térmica das demais amostras. A redução da resistência térmica das amostras em pH 2 e 3 (197°C e 219°C , respectivamente) pode ser atribuída a hidrólise ácida das moléculas de gelana, o que reduziria o número de duplas hélices formadas, com consequente redução dos agregados formados e de sua resistência térmica.

Quanto à morfologia dos hidrogéis obtidos com 0,25% (m/v) de gelana, pode-se observar, na Figura 28(a), uma estrutura lamelar na amostra obtida em pH 4. Com o aumento do pH, pode-se observar o aparecimento de espaços livres ou vazios que podem ser capazes de absorver uma quantidade significativa de água. Esses resultados corroboram com o que foi obtido nos testes de grau de intumescimento, onde o aumento do pH ocasionou a maior ionização dos grupos COOH presentes na cadeia de gelana, levando a repulsão entre as cadeias, e consequente aumento no inchamento.

Para a concentração de 0,5% (m/v), as imagens da Figura 28(b) revelam estruturas foliáceas com poros irregulares para todas as amostras, independente do pH ser ácido ou básico. De acordo com o intumescimento, observou-se um decréscimo do inchamento com o aumento do pH, sendo o maior valor de inchamento obtido em pH 4. Isto deve ter ocorrido devido às amostras em pH básico apresentarem maior caráter iônico do que as amostras em pH ácido, devido ao aumento de grupamentos $(OH)^-$. Isso proporcionou um aumento na reticulação com íons Ca^{2+} (reticulação ionotrópica), o que pode ter originado hidrogéis com maior grau de reticulação e, conseqüente grau de inchamento menor.

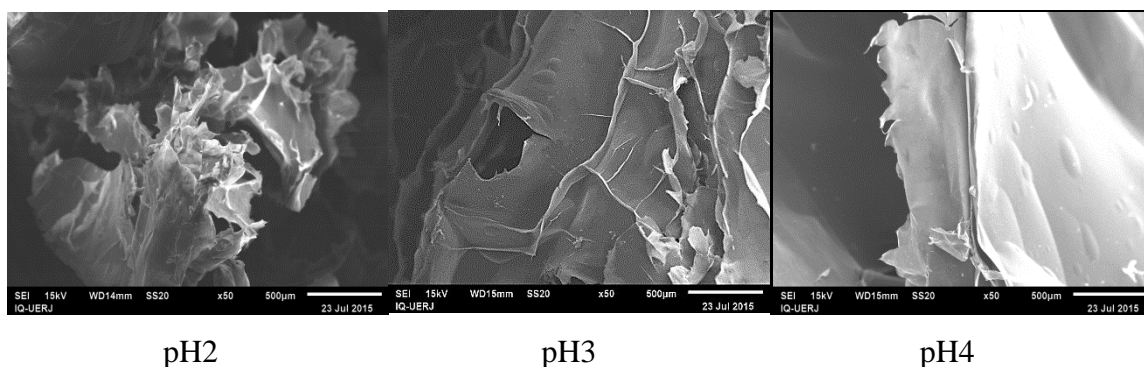
Com o aumento da concentração de gelana para 1,0% (m/v), observa-se na Figura 29, morfologias irregulares, que apresentam espaços vazios que podem ter boa capacidade de retenção de água. Para essa concentração, os maiores intumescimentos foram obtidos em pH ácido, porém o aumento de pH desfavorece a agregação intermolecular entre as cadeias de gelana, aumentando a capacidade de inchamento, como pode ser observado aumentando o pH de 2 para 4.

Figura 28 – Micrografia eletrônica de dos hidrogéis preparados pelo método LA preliminar II, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b).



Fonte: O autor, 2017.

Figura 29 – Micrografia eletrônica de varredura dos hidrogéis preparados pelo método LA preliminar II, utilizando solução de gelana na concentração de 1,0% (m/v).



Fonte: O autor, 2017.

Após a realização das caracterizações dessa metodologia, seguem abaixo (Tabela 5), os resultados obtidos para grau de intumescimento Q (%) e temperatura inicial de decomposição (T_{onset}) dos hidrogéis.

Tabela 5 - Valores de grau de intumescimento (Q) e temperatura inicial de decomposição (T_{onset}) para os hidrogéis obtidos pela variação do pH a temperatura de 60°C com adição de reticulante após aquecimento.

Hidrogéis	Q (%)	T_{onset} (°C)
F025pH4A	2250 ± 117	239
F025pH8A	7063 ± 745	246
F025pH9A	6950 ± 466	245
F05pH3A	1450 ± 94	235
F05pH4A	5900 ± 355	236
F05pH8A	4264 ± 578	245
F05pH9A	1792 ± 657	246
F1pH2A	1084 ± 145	197
F1pH3A	2272 ± 234	219
F1pH4A	5672 ± 498	236

Fonte: O autor, 2017.

Pode-se concluir que, pelos resultados obtidos, as amostras F025pH8A e F025pH9A preparadas com 0,25% de gelana e em pH 8 e pH 9 e as amostras F05pH8A e F05pH9A preparadas com 0,5% de gelana e em pH 8 e 9 apresentaram resistências térmicas similares a

gelana desacetilada LA que é de 245°C , porém foi observada uma redução na capacidade de intumescimento com o aumento da concentração de gelana, já que os valores obtidos decresceram de 7063% para 1792%. Pode-se concluir que a mudança na metodologia de preparo dos hidrogéis interferiu diretamente na capacidade de intumescimento dos hidrogéis, visto que houve uma redução dos valores obtidos em relação ao método anterior.

Os resultados obtidos nos ensaios preliminares indicam a necessidade de estudo em separado dos parâmetros que foram avaliados em conjunto (pH, reticulante e aquecimento) e a inclusão de caracterizações mais específicas como resistência a compressão para possíveis aplicações da gelana como, por exemplo, a liberação controlada de herbicidas e o condicionamento de solos.

4.3. Hidrogéis à base de gelana desacetilada (LA)

Foram avaliados diferentes métodos de preparo dos hidrogéis à base de gelana desacetilada, são eles:

Método I: Variação do pH a temperatura de 25°C sem adição de reticulante;

Método II: Variação do pH a temperatura de 85°C sem adição de reticulante;

4.3.1. Método LA I - Variação do pH a temperatura de 25°C sem adição de reticulante

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da variação do pH nas amostras de gelana, em diferentes concentrações (0,25; 0,5 e 1,0%), antes do aquecimento e sem a adição externa do reticulante divalente CaCl_2 .

Para a concentração de 0,25% de gelana só foi observada aparente formação de gel em pH 2, 3, 4, 9 e 10 uma vez que essas amostras apresentaram capacidade de inchamento em 10 minutos de imersão em água. Entretanto, quando o tempo de imersão aumentou para 30 minutos, algumas dessas amostras se dissolveram (pH 4 e pH 10) e outras diminuíram sua capacidade de absorção de água (pH 9). Tal fato ocorreu em virtude do grau de reticulação ser muito baixo ou de só ter ocorrido reticulações físicas fracas, ou ainda não ter ocorrido a formação do hidrogel. As amostras que apresentaram aumento no grau de intumescimento

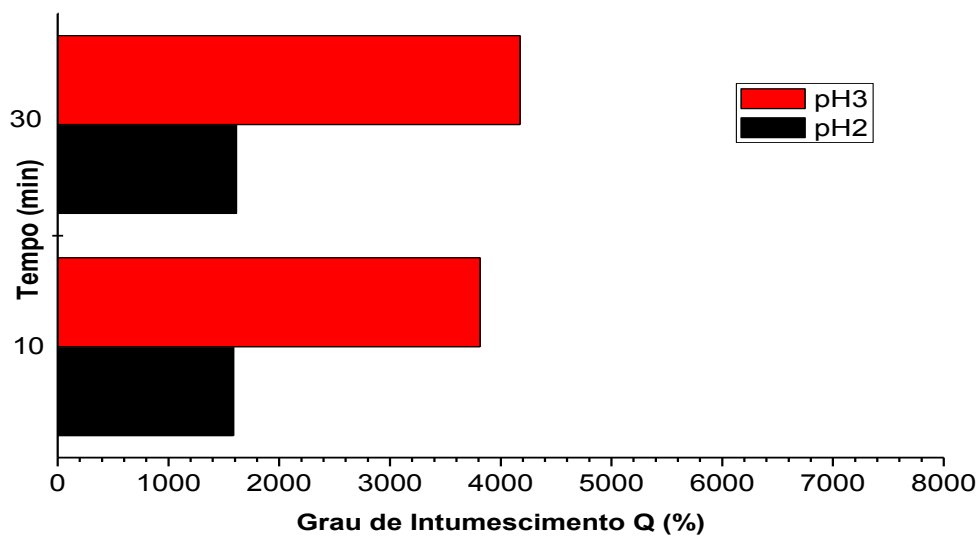
após 30 minutos foram as preparadas em pH 2 e 3 (Figura 30a), sendo estas, as amostras que foram caracterizadas.

O mesmo comportamento foi observado para as amostras preparadas com a solução de gelana a 0,5%, onde apenas as obtidas em pH 2 e 3 aumentaram o grau de intumescimento após 30 minutos de imersão em água (Figura 30b).

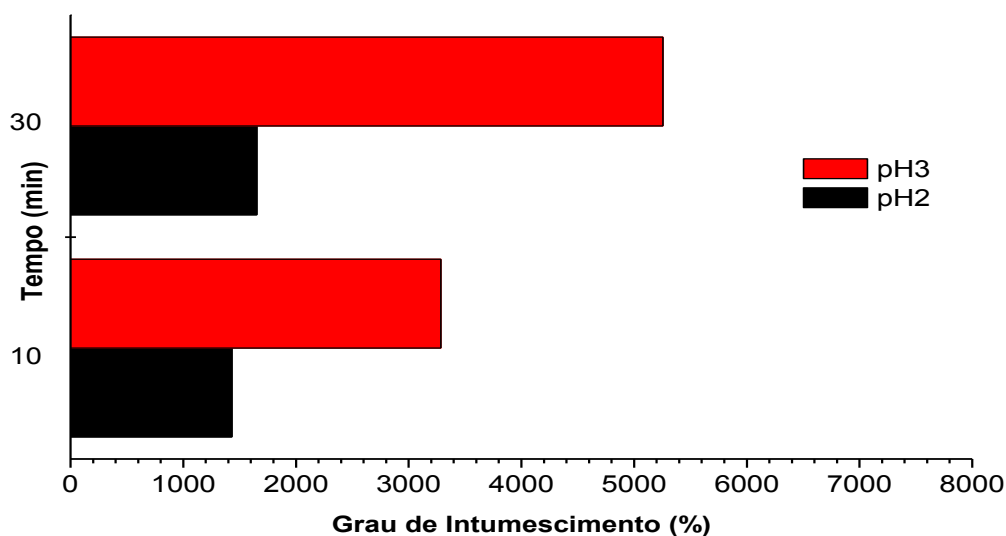
Para a concentração de 1,0% de gelana, não foi possível o controle do pH devido a viscosidade da amostra que impedia a dispersão do HCl/NaOH 0,1M na solução.

Dessa forma, as amostras que foram caracterizadas, após secagem por liofilização, foram aquelas preparadas com solução de gelana a 0,25 e 0,5 %, em pH 2 e 3.

Figura 30 - Grau de intumescimento (Q) dos hidrogéis preparados em diferentes valores de pH, a temperatura de 25°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): (a) 0,25 e (b) 0,5.



(a)



(b)

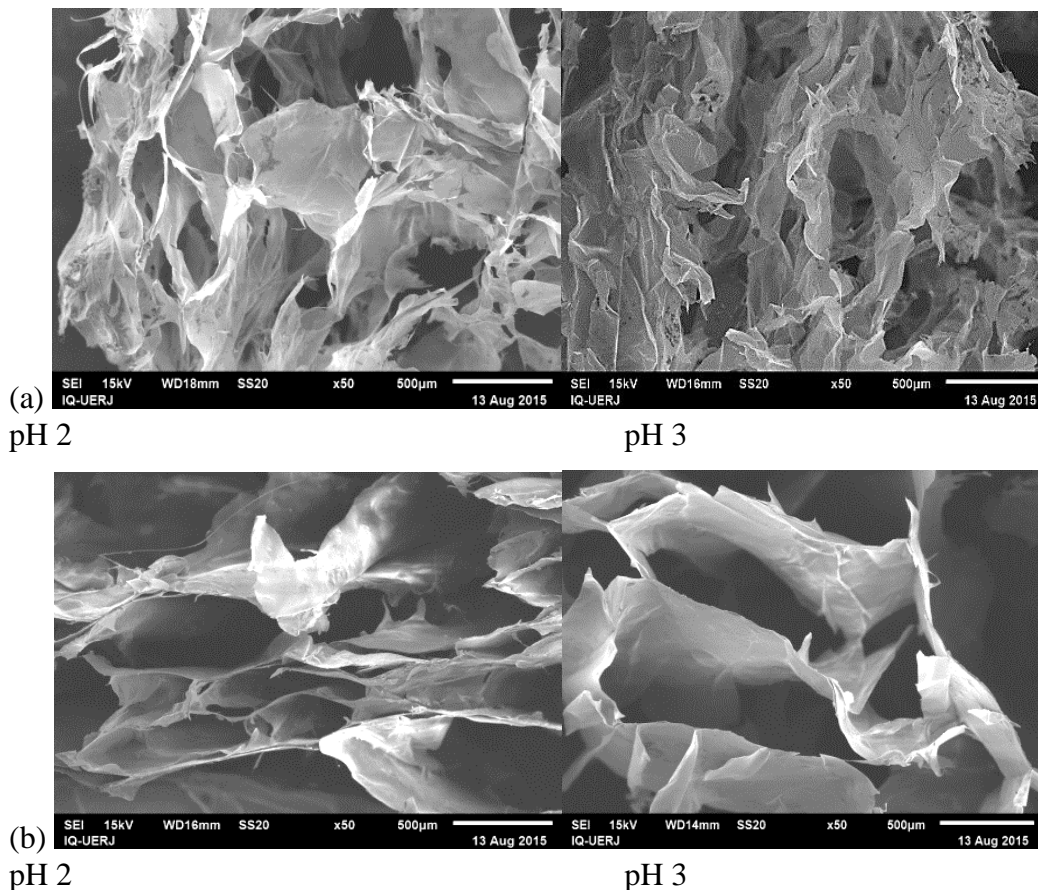
Fonte: O autor, 2017.

A Figura 30, mostra que o grau de intumescimento das amostras preparadas em pH 3 tendeu a ser maior do que nas amostras em pH 2.

Sabe-se que a redução no pH diminui a quantidade de grupos carboxilato ionizados nas cadeias de gelana. Como o pKa do grupo carboxila presente no ácido glucurônico é em torno de 3,5, a quantidade de grupos carboxílicos na forma ionizada diminui com a redução do pH a partir de 3,5 (MAO; TANG; SWANSON, 1999). Tal fato favorece a formação das duplas hélices e, posterior reticulação das cadeias de gelana por meio da agregação das duplas hélices. Isso pode explicar os menores valores de intumescimento encontrados para as amostras preparadas em pH 2.

Quanto à morfologia, pode-se observar na Figura 31 que as amostras, independente do pH, apresentaram uma tendência ao aumento de espaços vazios de formatos irregulares com o aumento da concentração de gelana os quais tenderam a ser maiores do que nas amostras em pH 2, o que corrobora com os resultados obtidos nos testes de intumescimento, onde o maior inchamento foi na amostra em pH 3 que, por apresentar maior quantidade de grupos ionizados ao longo de sua cadeia, possivelmente agregou menos as duplas hélices e ainda originou uma morfologia com maiores espaços livres, nos quais a água pode ficar retida.

Figura 31 – Micrografias de microscopia eletrônica de varredura dos hidrogéis preparados variando-se o pH a temperatura de 25°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a) e 0,5 (b).

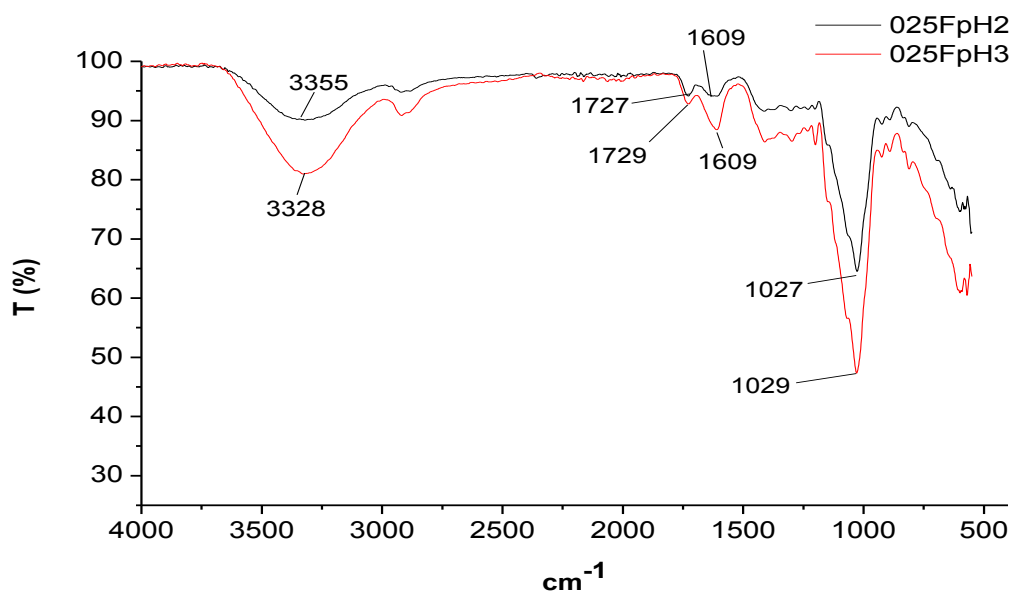


Fonte: O autor, 2017.

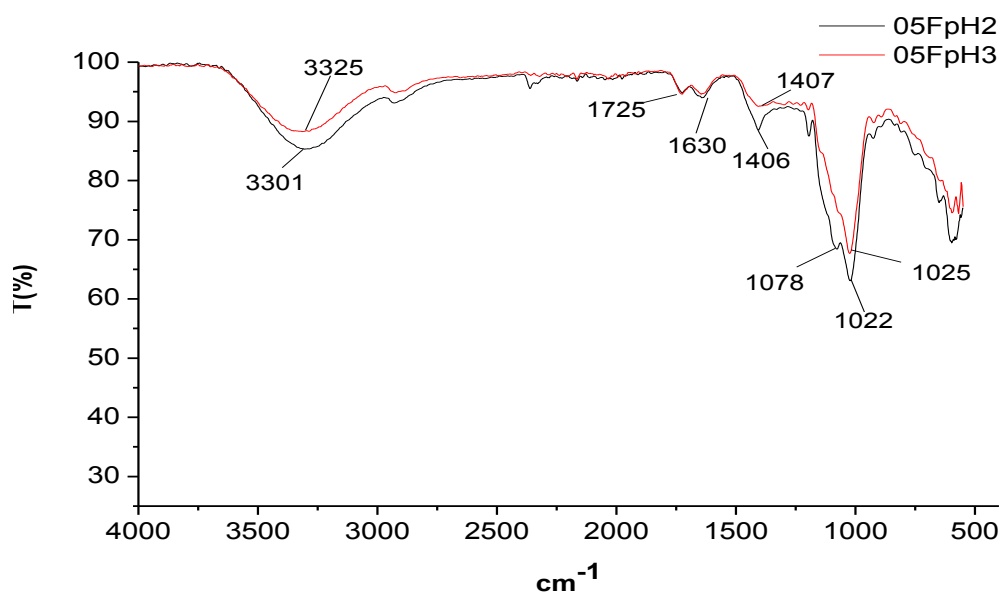
A Figura 32 mostra os espectros de FTIR dessas amostras. Pode-se observar um deslocamento dessas bandas para valores superiores, quando comparados os espectros dos hidrogéis com o espectro da gelana desacetilada pura (Figura 14). A banda foi deslocada de 3313 cm^{-1} (gelana pura) para 3355 e 3328 cm^{-1} , respectivamente. Isso pode ser atribuído à formação das ligações de hidrogênio intra e intermoleculares, já que a formação das ligações de hidrogênio altera a frequência de estiramento axial O-H (SILVERSTEIN et al., 2009; TAKO et al., 2016). Pode-se observar também, o aparecimento de uma banda de absorção em 1730 cm^{-1} característica de C=O de ácido carboxílico (estiramento da ligação C=O) e diferenças nas intensidades na banda de absorção em 1609 cm^{-1} referente ao estiramento assimétrico C=O em relação á absorção da gelana desacetilada pura (SMITH, 1999). Isso pode ser explicado pelo aumento de íons hidrogênio (H^+) provocado pela redução do pH e

pela baixa ionização dos grupamentos COOH em meio ácido presentes nas moléculas da gelana. Quando se compara as bandas em 1600 e 1400 cm^{-1} , relacionadas aos grupos carboxilato, das diferentes amostras de hidrogel, é possível notar, na Figura 32(a), diferentes intensidades, provavelmente, causadas pelos diferentes graus de reticulação das moléculas de gelana, que ocorre por meio da agregação das hélices duplas. A banda em torno de 1023 cm^{-1} está relacionada à deformação angular da ligação C-O e também se pode observar diferenças nas intensidades de absorção em relação à alteração do pH das amostras (SMITH, 1999; AGNIHOTRI; JAWALKAR; AMINABHAVI, 2006).

Figura 32 - Curvas de FTIR dos hidrogéis preparados em diferentes valores de pH, a temperatura de 25°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): (a) 0,25 e (b) 0,5.



(a)



(b)

Fonte: O autor, 2017.

A Figura 32(b) mostra os espectros de FTIR das amostras preparadas em pH 2 e 3, com a solução de gelatina a 0,5 % m/v. Pode-se observar um deslocamento das bandas das amostras de hidrogel obtidas em pH 2 e 3 na região de estiramento axial O-H para valores diferentes do que foi observado para a LA pura (Figura 14) da mesma forma que foi observado para a concentração de 0,25% (m/v). A banda foi deslocada de 3313 cm^{-1} (gelatina pura) para 3301 e 3325 cm^{-1} , respectivamente. Além disso, observa-se um ligeiro aumento na intensidade em pH 3 relacionado a formação de ligações de hidrogênio. Pode-se observar também, o aparecimento de uma banda de absorção em 1725 cm^{-1} característica de C=O de ácido carboxílico (estiramento da ligação C=O). Observa-se, também, o aparecimento de uma banda em 1078 cm^{-1} na amostra em pH 2 referente a um estiramento C-O que pode estar relacionada a hidrólise ácida em pH inferior a 3 (MORITAKA et al., 1995). Na banda em torno de 1023 cm^{-1} , relacionada à deformação angular da ligação C-O, também se pode observar pequenas diferenças nas intensidades de absorção relacionadas à formação de ligações de hidrogênio (SMITH, 1999; AGNIHOTRI et al., 2006). No restante do espectro não são observadas diferenças significativas entre as amostras preparadas em pH 2 e pH 3.

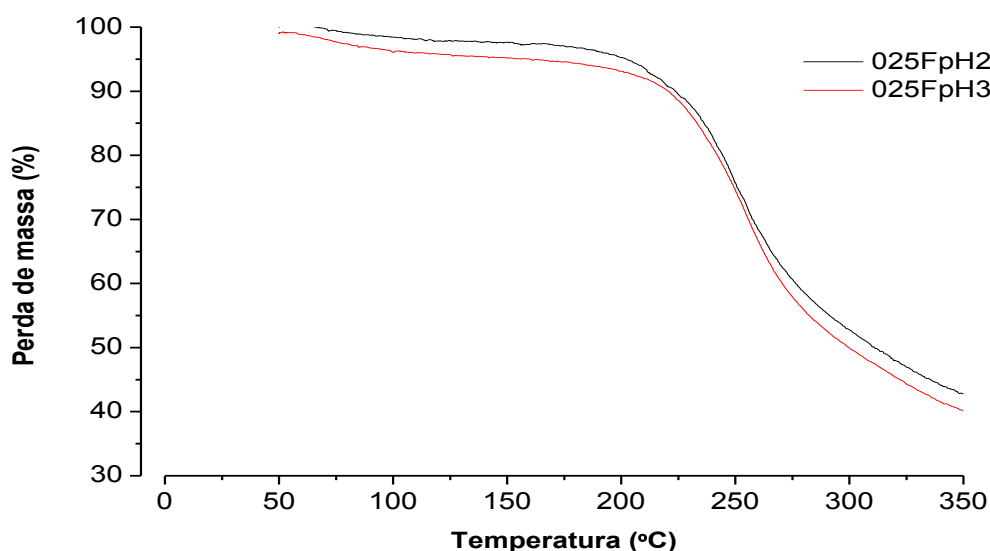
Quanto à análise térmica, para as amostras preparadas na concentração de 0,25% de gelatina, pode-se observar na Figura 33(a) que a amostra obtida em pH 3 ($T_{\text{onset}} 229^{\circ}\text{C}$) apresentou maior resistência térmica que a amostra obtida em pH 2 ($T_{\text{onset}} 223^{\circ}\text{C}$). Em valores de pH inferiores a 3, pode ser iniciado um processo de hidrólise ácida da gelatina

(MORITAKA et al, 1995). Isso pode ter ocasionado a menor resistência térmica da amostra preparadas em pH 2.

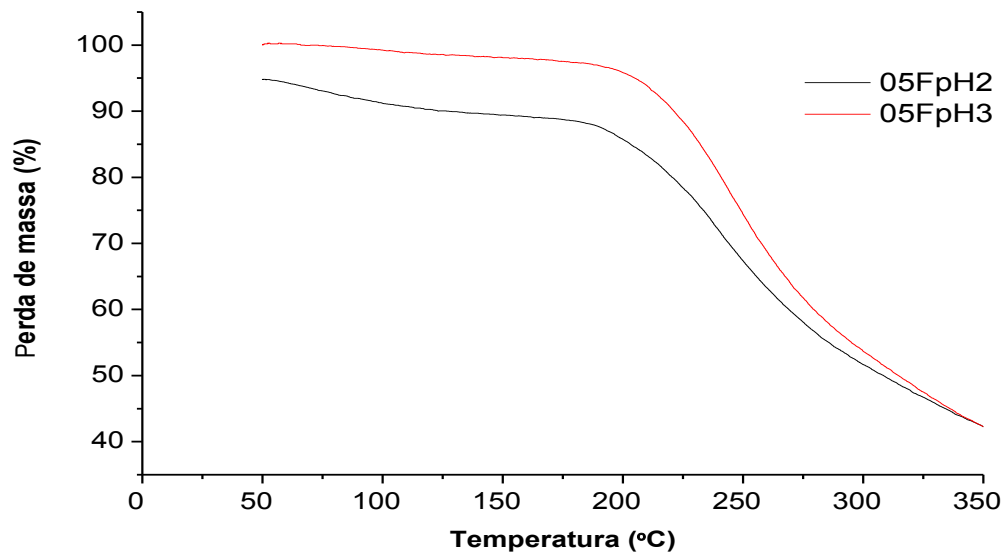
Comportamento análogo ocorreu para a concentração de 0,5% (Figura 33b), onde o início da decomposição térmica da amostra em pH 3 (T_{onset} 215°C) é superior à obtida em pH 2 (T_{onset} 207°C).

Por outro lado, pode-se observar que o aumento da concentração da gelana de 0,25% pra 0,5% ocasionou uma redução na resistência térmica, independente do pH, já que provavelmente, a quantidade de H^+ provenientes do HCl adicionado para corrigir o pH das amostras com 0,5% de gelana pode não ter sido suficiente para neutralizar os grupamentos negativos presentes nas cadeias de gelana e, assim, ter dificultado a formação das duplas hélices.

Figura 33 - Curvas de TG dos hidrogéis preparados em diferentes valores de pH, a temperatura de 25°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): (a) 0,25 e(b) 0,5.



(a)

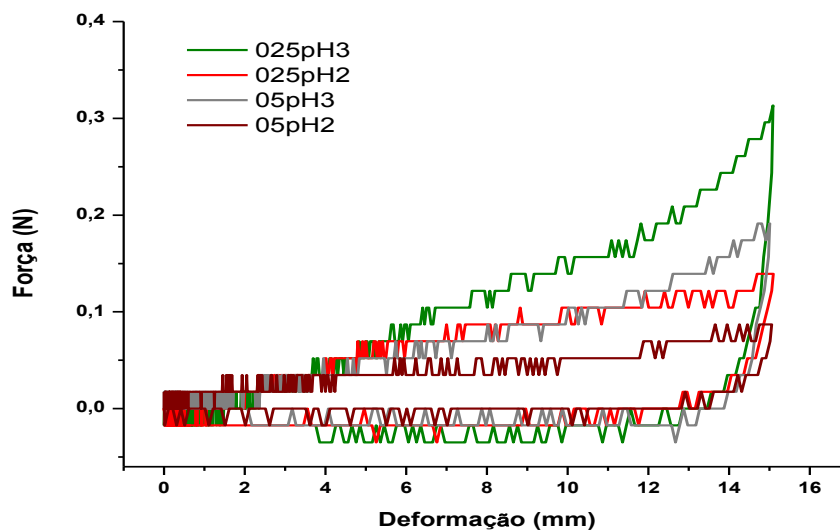


(b)

Fonte: O autor, 2017.

Pode-se observar, na Figura 34, que os hidrogéis com maior resistência à compressão foram obtidos em pH 3, independente da concentração de gelatina. Isso também pode ser atribuído a probabilidade de ocorrência de hidrólise ácida em pH 2, já que, de acordo com Anseth *et al.* (1996), quanto maior a capacidade de intumescimento do hidrogel, menor sua resistência mecânica. Logo, pelos resultados obtidos nas análises de intumescimento, era de se esperar que os hidrogéis em pH 3 apresentassem menor resistência mecânica do que os obtidos em pH 2.

Figura 34 - Curvas de força *versus* deformação dos hidrogéis preparados variando-se o pH a temperatura de 25°C sem adição de reticulante.



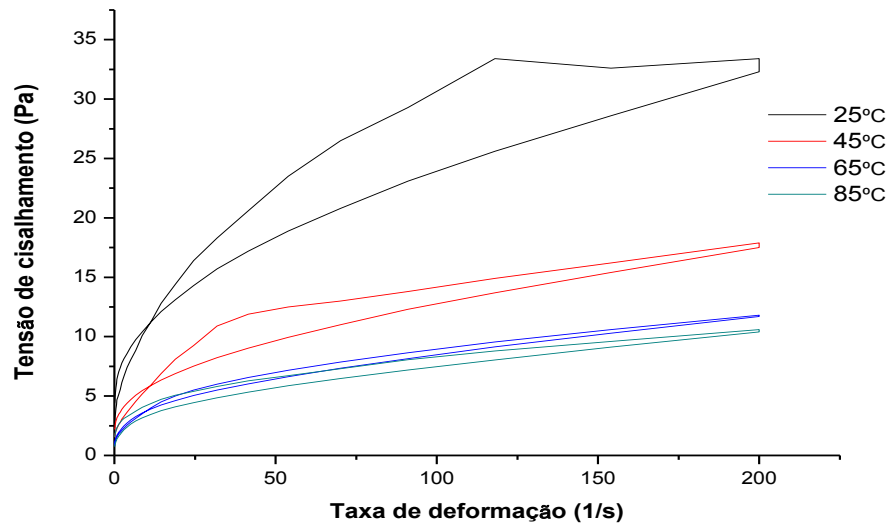
Fonte: O autor, 2017.

Quanto ao comportamento reológico, observa-se na Figura 35, na amostra preparada em pH 3, que as curvas ascendentes e descendentes do fluido em todas as temperaturas de estudo não se sobrepõem, o que caracteriza um fenômeno denominado histerese e o fluido como sendo tixotrópico. A magnitude da tixotropia está relacionada à área entre estas duas curvas e quanto maior o valor de área, mais tixotrópico é o fluido (MACHADO, 2002; MATHIAS et al., 2013). Dessa forma, analisando a Figura 35, pode-se observar que as maiores tixotropias estão nas amostras em 25°C e 45°C.

Pode-se observar na Figura 36 que, independente da temperatura, foi observado comportamento não newtoniano pseudoplástico, já que houve diminuição da viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento aplicada (MACHADO, 2002; MATHIAS et al., 2013). Com o aumento da temperatura pode-se observar também, uma redução da viscosidade, o que está relacionado à mudança do estado gel para o estado sol, com o rompimento das ligações iônicas e ligações de hidrogênio que unem as hélices individuais da gelana a outras semelhantes, com posterior formação de duplas hélices ordenadas (transição conformacional), seguida pela interação entre as duplas hélices (gelificação) (MACHADO, 2002). Além disso, confirma-se o comportamento tixotrópico nas temperaturas de 25°C e 45°C, já que há uma diferença entre a curva ascendente e descendente relacionado à taxa de

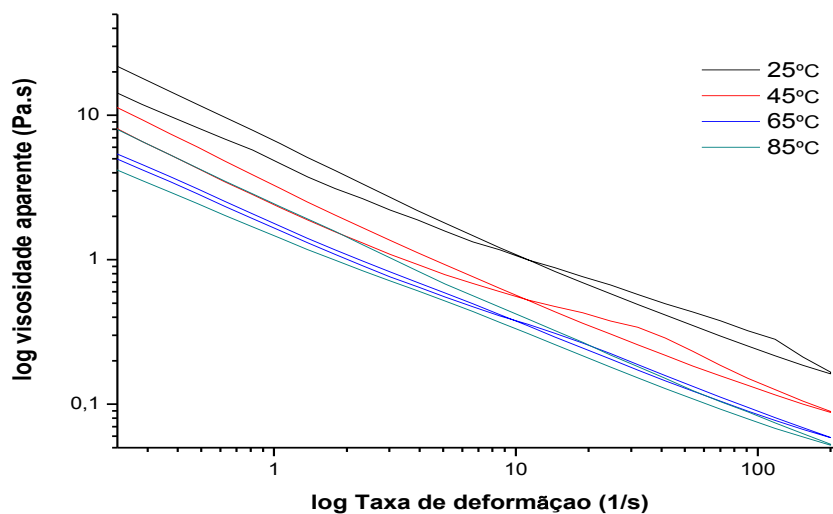
deformação (histerese). Isso está relacionado à quebra do gel e pode ser quantificado através da área entre as curvas de fluxo (MACHADO, 2002; MATHIAS et al., 2013).

Figura 35 – Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 3 em diferentes temperaturas.



Fonte: O autor, 2017.

Figura 36 - Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 3 em diferentes temperaturas.



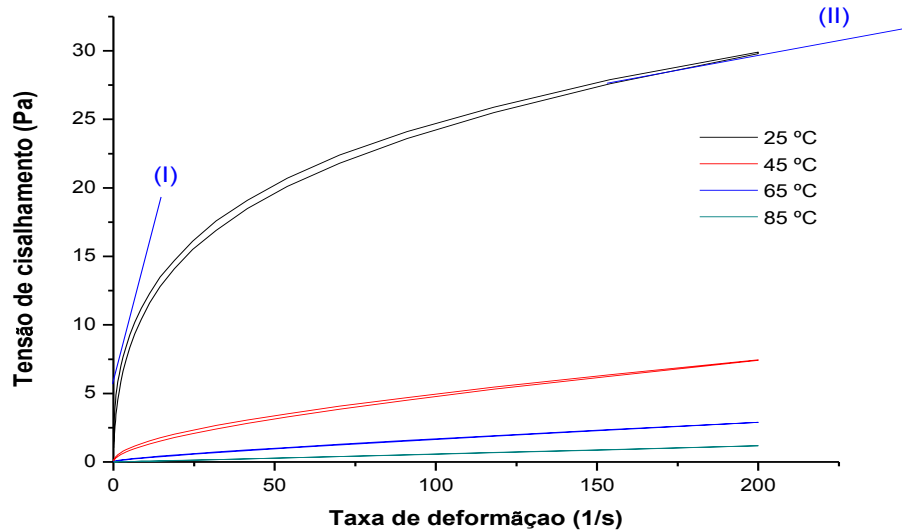
Fonte: O autor, 2017.

Pode-se observar nas amostras preparadas em pH 5 (Figura 37), uma pequena histerese em 25°C e 45°C, o que caracteriza um comportamento tixotrópico. A amostra analisada a 25°C apresenta comportamento pseudoplástico, onde podem ser observadas duas regiões com tendência a viscosidade constante. A região (I), a baixas taxas de cisalhamento com o fluido se comportando como newtoniano, onde a viscosidade independe da taxa de deformação e a região (II), a altas taxas de cisalhamento, estado de quase perfeita orientação, onde o fluido poderá tender novamente a apresentar viscosidade constante (MACHADO, 2002). A amostra a 45°C também apresenta pseudoplasticidade, porém menos pronunciada do que em 25°C. As amostras ensaiadas nas demais temperaturas (65°C e 85°C) tendem a apresentar uma relação linear entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação, típica de um fluido newtoniano, onde a viscosidade independe da taxa de deformação.

Na Figura 38, pode ser observada nas amostras a 25°C e 45°C uma redução na viscosidade com o aumento da taxa de deformação, característico de fluidos pseudoplásticos. Além disso, todas as amostras apresentam histerese, apresentando tixotropia, sendo as maiores viscosidades obtidas na amostra a 25°C. Nessa temperatura, a viscosidade é muito maior do que nas outras temperaturas de estudo, o que pode estar relacionado ao processo de gelificação, devido a interações fracas. O aumento da temperatura e o aumento da taxa de cisalhamento levam ao rompimento da estrutura tridimensional (gel) (MACHADO, 2002).

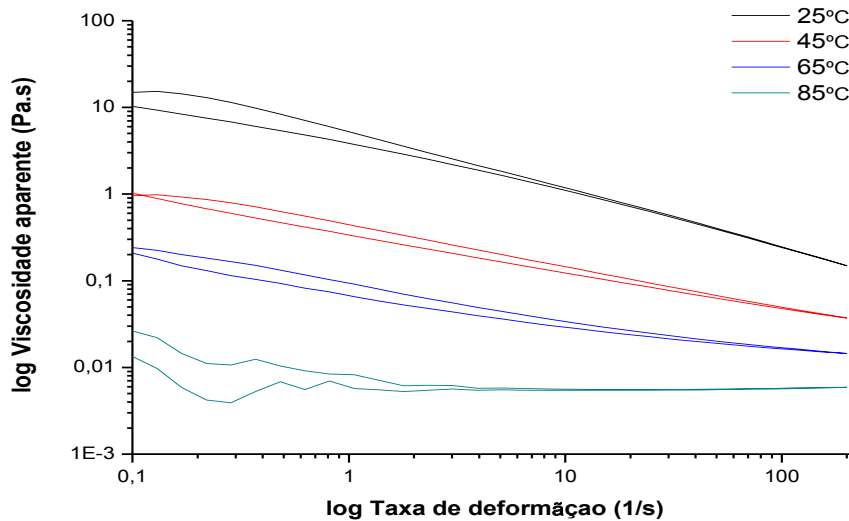
Nas amostras a 65°C e 85°C observa-se histerese que diminui com o aumento da taxa de deformação, com tendência a viscosidade constante, comportamento típico de fluidos newtonianos.

Figura 37 - Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 5 em diferentes temperaturas.



Fonte: O autor, 2017.

Figura 38 - Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 5 em diferentes temperaturas.



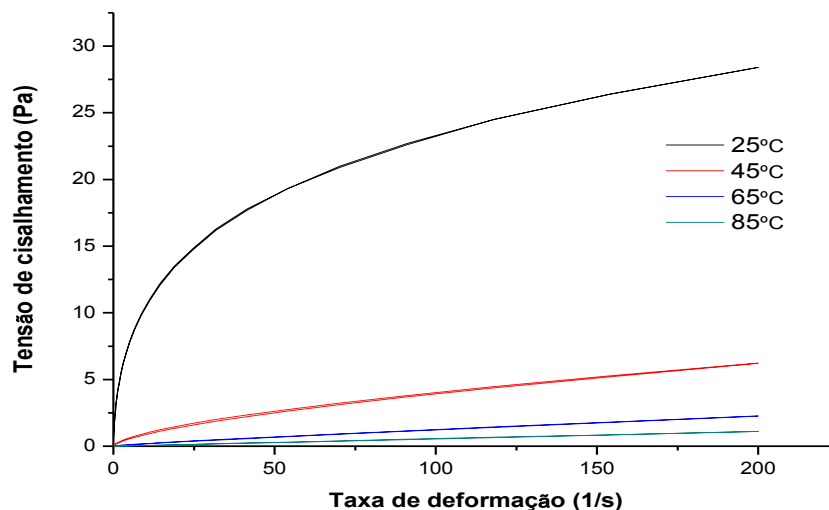
Fonte: O autor, 2017.

Na amostra em pH 8 (Figura 39), não se observa histerese nas curvas tensão/deformação, não caracterizando comportamento tixotrópico. Entretanto, observa-se pseudoplasticidade já que a viscosidade diminuiu com o aumento da taxa de deformação.

Como um fluido tixotrópico, geralmente, forma gel, pode-se concluir que a ausência de tixotropia está relacionada à formação de gel. Logo, pode-se supor que em pH 8, nas temperaturas de estudo, não se formou gel devido a ausência de histerese (BRETAS; D'ÁVILA, 2005).

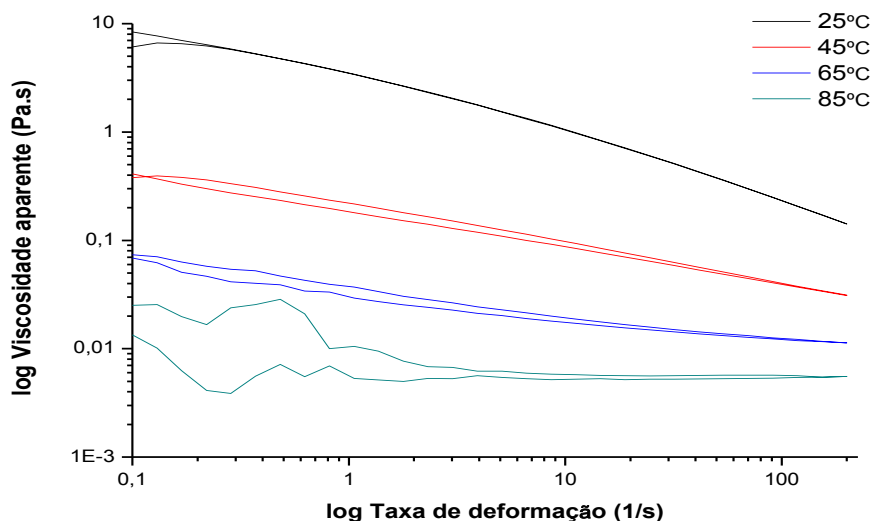
Analisando a Figura 40, pode-se confirmar a ausência de histerese em 25°C o que confirma que nessa temperatura não há formação de gel. Além disso, em todas as temperaturas de estudo, o fluido apresentou comportamento não newtoniano pseudoplástico, já que houve diminuição da viscosidade em função da taxa de cisalhamento aplicada (MACHADO, 2002; MATHIAS et al., 2013).

Figura 39 - Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 8 em diferentes temperaturas.



Fonte: O autor, 2017.

Figura 40 - Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 8 em diferentes temperaturas.



Fonte: O autor, 2017.

Após a realização das caracterizações dessa metodologia, seguem abaixo (Tabela 6), os resultados obtidos para grau de intumescimento Q (%) e temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão ($\sigma_{\text{máx}}$) dos hidrogéis.

Tabela 6 - Valores de grau de intumescimento (Q), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão ($\sigma_{\text{máx}}$) para os hidrogéis obtidos pela variação do pH a temperatura de 25°C sem adição de reticulante.

Hidrogéis	Q (%)	T_{onset} (°C)	F (N)	$\sigma_{\text{máx}}$ (kPa)
025FpH2	1613 ± 119	223	0,12 ± 0,04	0,39 ± 0,08
025FpH3	4175 ± 463	229	0,33 ± 0,09	1,05 ± 0,02
05FpH2	1652 ± 221	207	0,08 ± 0,001	0,28 ± 0,003
05FpH3	5255 ± 198	215	0,2 ± 0,007	0,76 ± 0,10

Fonte: O autor, 2017.

Conforme resultados listados na Tabela 6, pode-se observar uma redução da resistência térmica de todos os hidrogéis obtidos, já que a temperatura inicial de decomposição da gelana LA é em torno de 245°C. Além disso, os valores de força e tensão máxima de compressão foram muito pequenos se comparados aos valores encontrados na

literatura para géis de gelana reforçados com açúcar, conforme trabalho de Evangeliou et al. (2010). Os resultados obtidos de tensão máxima de compressão para géis de gelana obtidos com 5% de sacarose em 100mM de KCl foram em torno de 30 kPa, muito superiores aos encontrados por essa metodologia. Logo, os hidrogéis obtidos por esse método são considerados géis fracos quanto à resistência mecânica.

4.3.2. Método LA II - Variação do pH a temperatura de 85°C sem adição de reticulante

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da variação do pH nas amostras de gelana, em diferentes concentrações, após aquecimento.

Para a concentração de 0,25% m/v de gelana, só foi observada a formação do hidrogel em pH 3, que apresentou capacidade de inchamento em 10 minutos de imersão em água. Entretanto, quando o tempo de imersão aumentou para 30 minutos, esse hidrogel dissolveu. Logo, nenhuma amostra de 0,25% (m/v) de gelana foi caracterizada. Pode-se concluir que o rearranjo sofrido pelas moléculas de gelana devido ao aquecimento pode ter alterado a agregação das duplas hélices e conseqüentemente prejudicado a formação de zonas de junção visto que, pelo estudo anterior (variação do pH a 25°C sem adição de reticulante) foi possível obter hidrogéis em pH 2 e 3 para essa concentração.

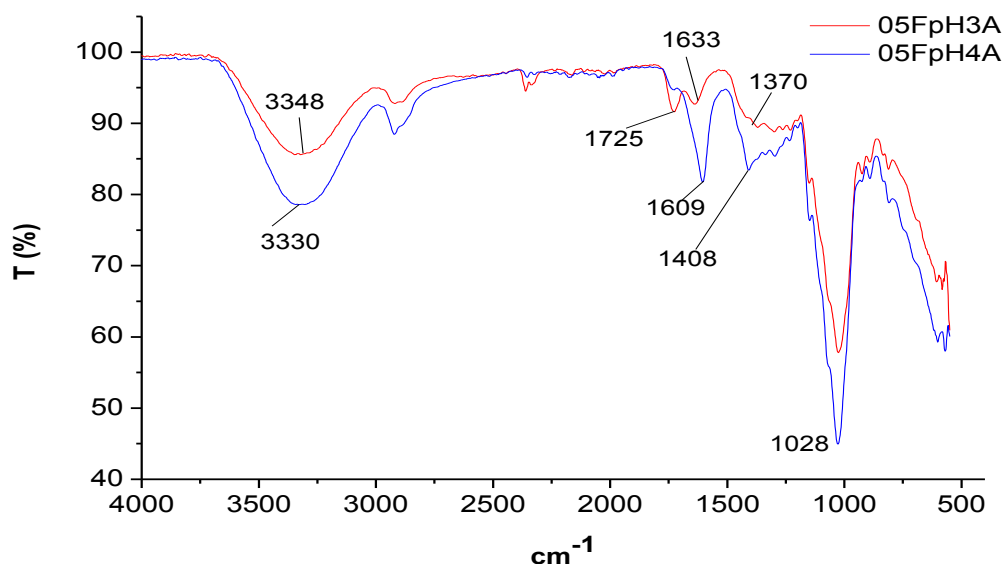
Para as concentrações de 0,5 e 1,0% m/v de gelana, apenas as amostras preparadas em pH 3 e 4 formaram hidrogel que intumesceram em 10 minutos e aumentaram ou mantiveram seus valores de intumescimentos após 30 minutos de imersão em água. Sendo assim, somente essas amostras foram caracterizadas.

A Figura 41 mostra os espectros de FTIR das amostras de gelana a 0,5 % (m/v). Pode-se notar que todas as amostras apresentaram, basicamente, as mesmas bandas características da gelana.

Pode-se observar um deslocamento das bandas de estiramento axial de grupos O-H na região de absorção próxima a 3350 cm^{-1} referente à formação de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares (SILVERSTEIN et al., 2009; TAKO et al., 2016). A banda foi deslocada de 3313 cm^{-1} (gelana pura) para 3348 e 3330 cm^{-1} para as amostras em pH 3 e pH 4, respectivamente. Observam-se, também nas regiões próximas a 3350 cm^{-1} e 1023 cm^{-1} , aumento na intensidade dessas bandas em pH 4 devido a formação de ligações de hidrogênio (SILVERSTEIN et al., 2009). Pode-se observar também, na amostra em pH 3, o aparecimento

de uma absorção em 1725 cm^{-1} característica de $\text{C}=\text{O}$ de ácido carboxílico (estiramento da ligação $\text{C}=\text{O}$) e diferenças nas intensidades na banda de absorção na região de 1630 cm^{-1} referente ao estiramento assimétrico COO^- em relação á absorção da gelana desacetilada pura (SMITH, 1999). Isso pode ser explicado pelo aumento de íons hidrogênio (H^+) provocado pela redução do pH e pela baixa ionização dos grupamentos COOH em meio ácido presentes nas moléculas da gelana. Com o aumento do pH para 4, esse pico na região em torno de 1730 cm^{-1} não é mais observado, já que o aumento do pH favorece a ionização dos grupos carboxílicos presentes nas moléculas de gelana. Na região de 1400 cm^{-1} , relacionada ao estiramento simétrico dos grupos carboxilato, é possível observar, na amostra em pH 3, um deslocamento da banca característica de estiramento simétrico COO^- em relação a gelana LA pura (1405 cm^{-1}) e em relação ao hidrogel obtido em pH 4 (1408 cm^{-1}). A absorção em pH 3 foi deslocada para 1370 cm^{-1} e isso pode estar relacionado também a menor ionização dos grupos carboxilato em pH 3, já que a o pKa dos grupos COOH presentes nas cadeias de gelana é em torno de 3,5 (SMITH, 1999; AGNIHOTRI; JAWALKAR; AMINABHAVI, 2006; SILVERSTEIN et al., 2009; ULLAH et al., 2015).

Figura 41 - Curvas de FTIR dos hidrogéis preparados variando-se o pH a temperatura de 85°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana na concentração de 0,5% (m/v).

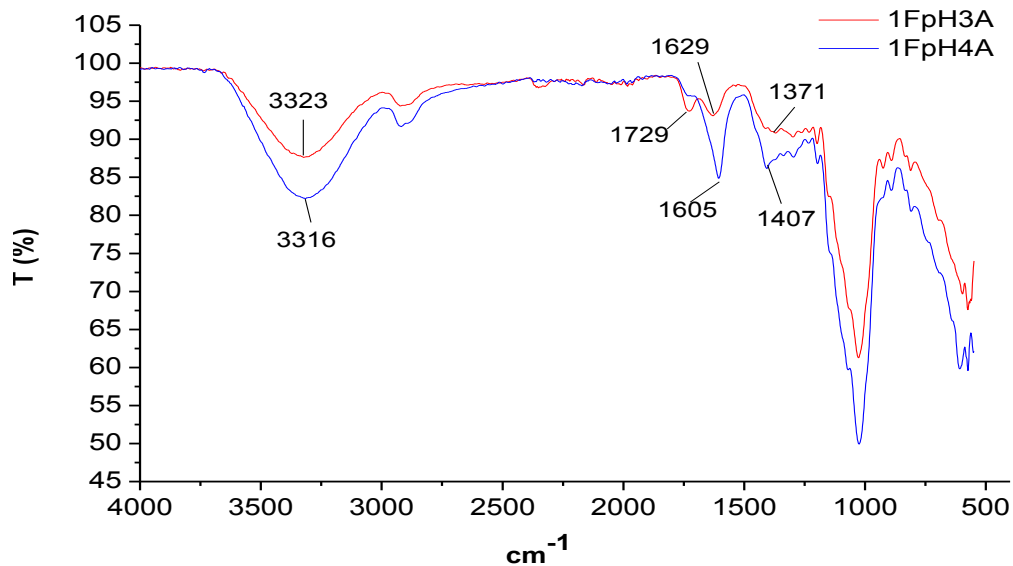


Fonte: O autor, 2017.

Para os hidrogéis preparados com 1,0% de gelana, pode-se observar na Figura 42, o mesmo comportamento que foi observado para as amostras preparadas com 0,5% de gelana,

com o aparecimento de uma banda de absorção em torno de 1730 cm^{-1} e deslocamentos nas principais bandas do espectro.

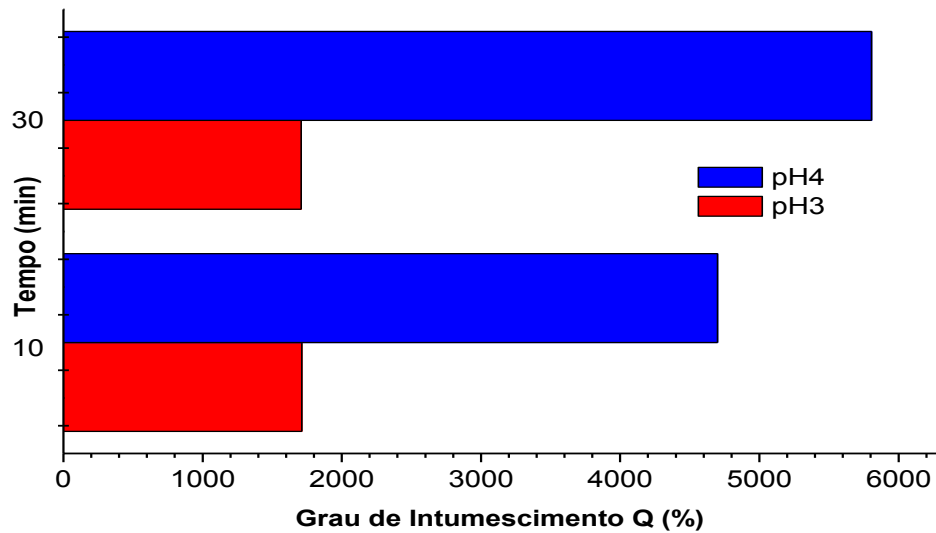
Figura 42 - Curvas de FTIR dos hidrogéis preparados variando-se o pH a temperatura de 85°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana na concentração de 1,0% (m/v).



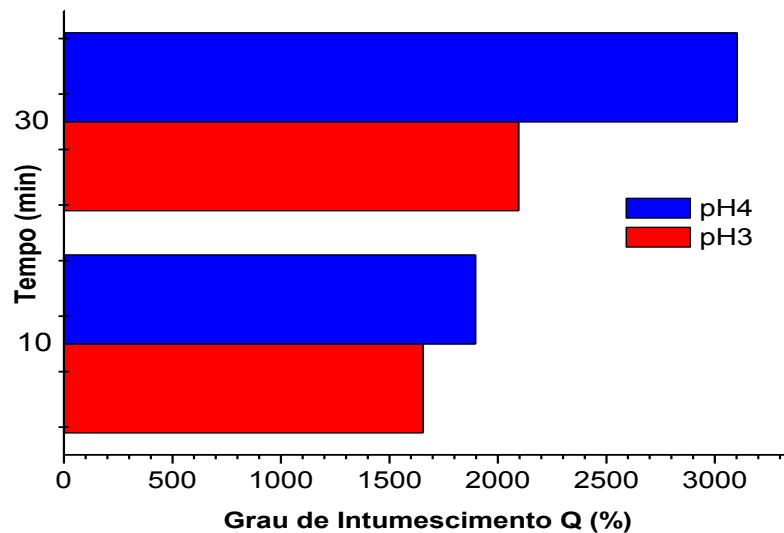
Fonte: O autor, 2017.

Quanto ao grau de intumescimento (Q), para as concentrações de 0,5 e 1,0% (m/v) de gelana, pode-se observar na Figura 43, que a amostra obtida em pH 4 apresentou maior valor de “Q” do que a amostra preparada em pH 3, provavelmente, devido a menor concentração de íons H^+ , se comparada com as amostras em pH 3, o que faz com que o efeito de agregação intermolecular seja menos pronunciado. Entretanto, com o aumento da concentração de gelana de 0,5% para 1,0% observa-se um menor valor de “Q” para a amostra obtida na concentração de 1,0% em pH 4, o que pode estar relacionado à morfologia das amostras (Figura 44).

Figura 43 – Grau de intumescimento (Q) dos hidrogéis preparados variando-se o pH a temperatura de 85°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,5 (a); 1,0 (b)



(a)



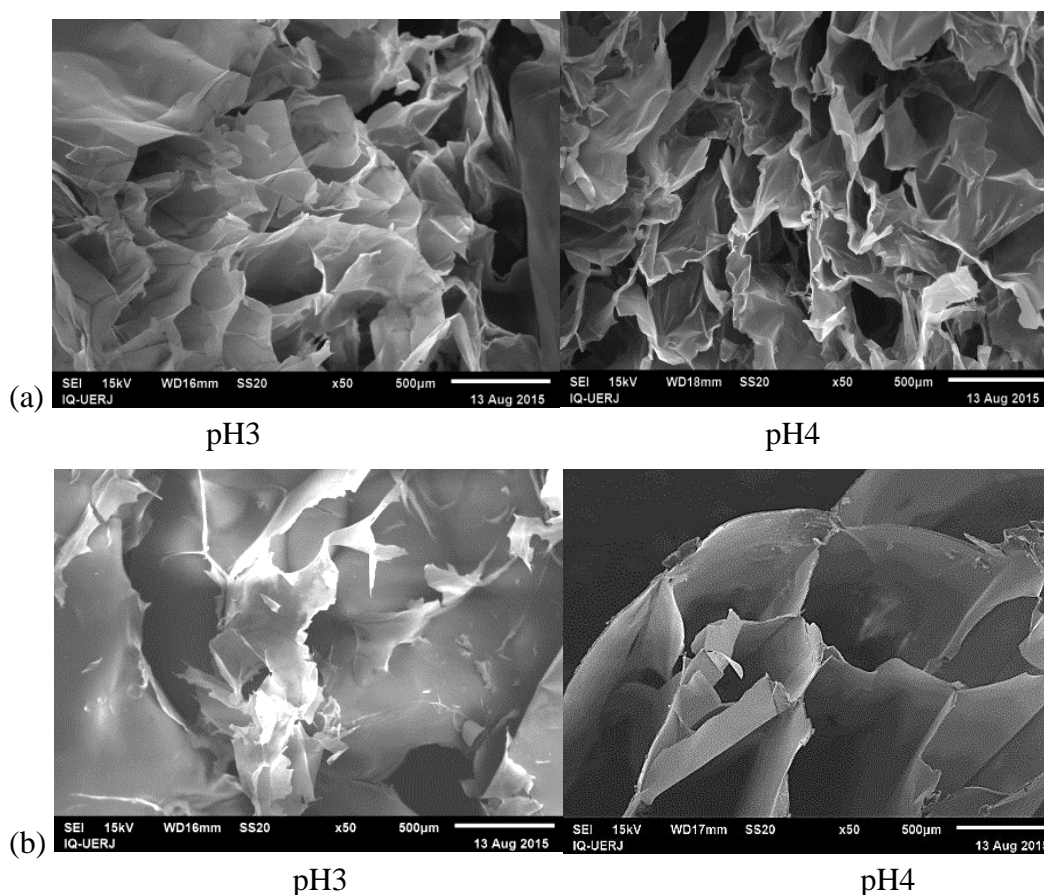
(b)

Fonte: O autor, 2017.

Pode-se observar nas micrografias das amostras preparadas com 0,5 %m/v (Figura 44a), a formação de estruturas com grande quantidade de poros irregulares, tendendo a ser maiores nas amostras em pH 4. Além disso, as amostras preparadas com solução de gelana a

0,5 % m/v tenderam a apresentar uma maior quantidade de poros de menor tamanho do que as amostras preparadas com 1,0 % de gelana. Este resultado corrobora com os menores valores de grau de intumescimento das amostras preparadas com 1,0 % de gelana (Figura 43b), uma vez que, quanto menor o tamanho dos poros, maior a área para retenção de água.

Figura 44—Micrografias de microscopia eletrônica de varredura dos hidrogéis preparados variando-se o pH a temperatura de 85°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,5 (a) e 1,0 (b).



Fonte: O autor, 2017.

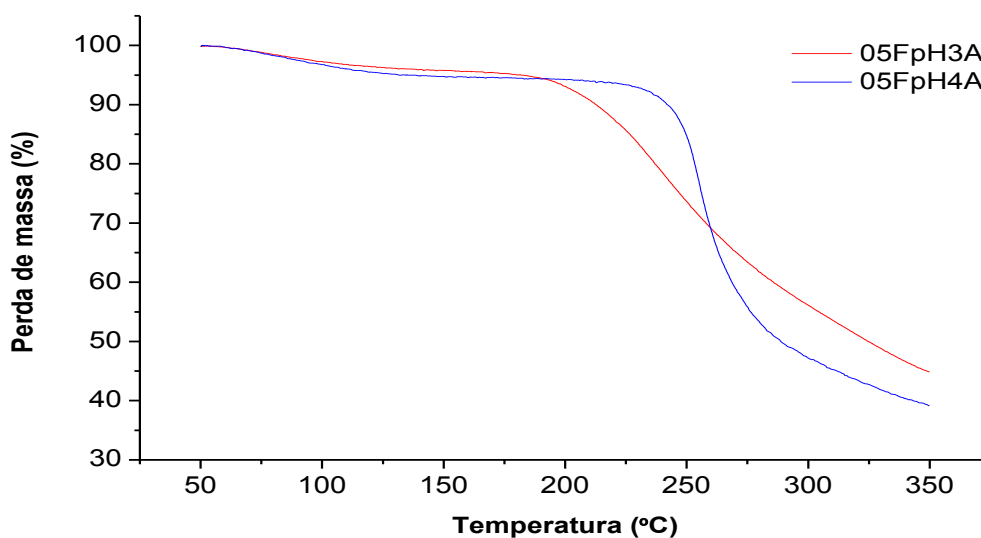
Quanto ao comportamento térmico, nas amostras de gelana a 0,5% (m/v) observa-se na Figura 45(a) um aumento significativo na resistência térmica da amostra em pH 4 ($T_{\text{onset}} = 246^\circ\text{C}$) se comparada a amostra obtida em pH 3 ($T_{\text{onset}} = 210^\circ\text{C}$), o que pode ser atribuído ao novo rearranjo das moléculas de gelana obtido após o aquecimento. Durante o resfriamento, as duplas hélices podem ter se agregado melhor, formando zonas de junção mais fortes e coesas para este valor de pH. Entretanto, a redução do pH para 3 com o consequente aumento do número de íons H^+ e o aquecimento da solução de gelana podem ter modificado a maneira

com que as cadeias de gelana de agregaram, causando o afastamento entre as duplas hélices o que pode ter influenciado no empacotamento das cadeias de gelana.

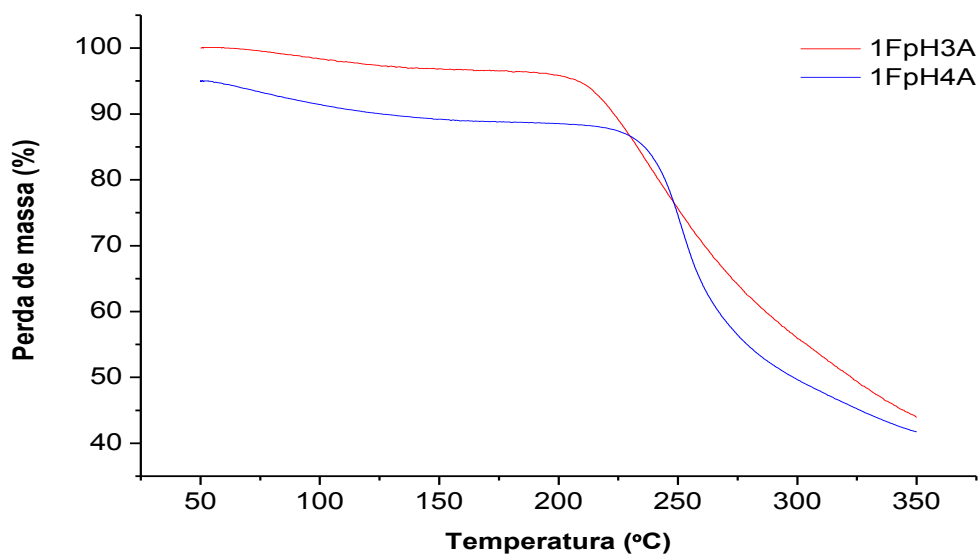
Na concentração de 1,0% de gelana, observa-se, na Figura 45(b), o mesmo comportamento da concentração de 0,5%. A amostra obtida em pH 4 apresentou maior resistência térmica ($T_{\text{onset}} = 239^{\circ}\text{C}$) do que a obtida em pH 3 ($T_{\text{onset}} = 214^{\circ}\text{C}$), o que pode estar novamente relacionado ao efeito da temperatura no rearranjo das cadeias de gelana, e o que esse rearranjo possa ter ocasionado.

Pode-se observar, também, que as amostras de gelana na concentração de 1,0% apresentaram maior resistência térmica do que as amostras na concentração de 0,5 %, tanto em pH 3 quanto em pH 4. Isto pode estar relacionado ao aumento de cadeias de gelana interligadas através de duplas hélices que necessitariam de maior energia térmica para o início de sua decomposição.

Figura 45 – Curvas de TG dos hidrogéis preparados variando-se o pH a temperatura de 85°C sem adição de reticulante, utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,5 (a) e 1,0 (b)



(a)

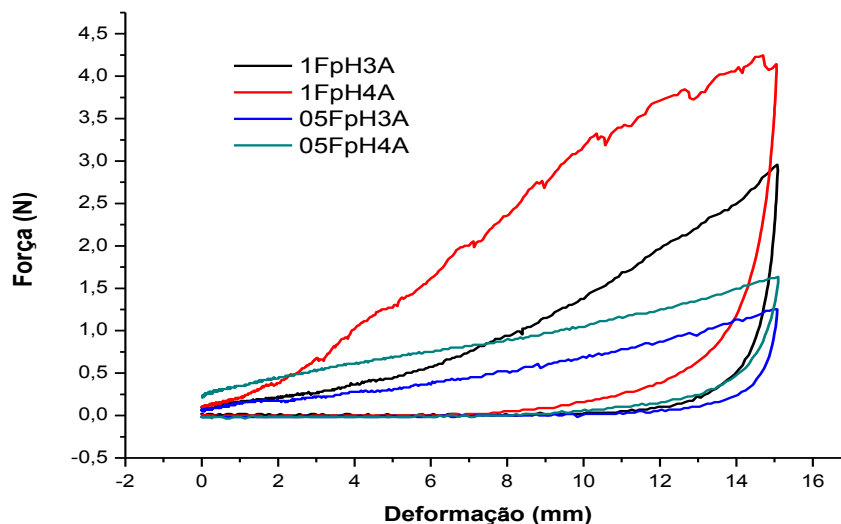


(b)

Fonte: O autor, 2017.

Quanto ao teste de compressão, pode ser observado que a resistência aumentou com o aumento da concentração de gelana (Figura 46). Maiores valores de força para os géis de gelana, em ensaios de compressão, estão relacionados à concentração do polímero, ou seja, o aumento na concentração de gelana pode aumentar a densidade de reticulações, formando géis mais fortes e resistentes. Os resultados obtidos também corroboram com o que foi observado no intumescimento, onde os hidrogéis com maior capacidade de intumescimento (0,5% (m/v) de gelana) foram os que apresentaram menor resistência mecânica. Além disso, a redução no pH pode reduzir a força do gel resultante (CAMELIN et al., 1993; TANG et al., 1994; TANG; TUNG; ZENG, 1996; MAO; TANG; SWANSON, 1999).

Figura 46 - Curvas de força *versus* deformação dos hidrogéis preparados variando-se o pH a temperatura de 85°C sem adição de reticulante.

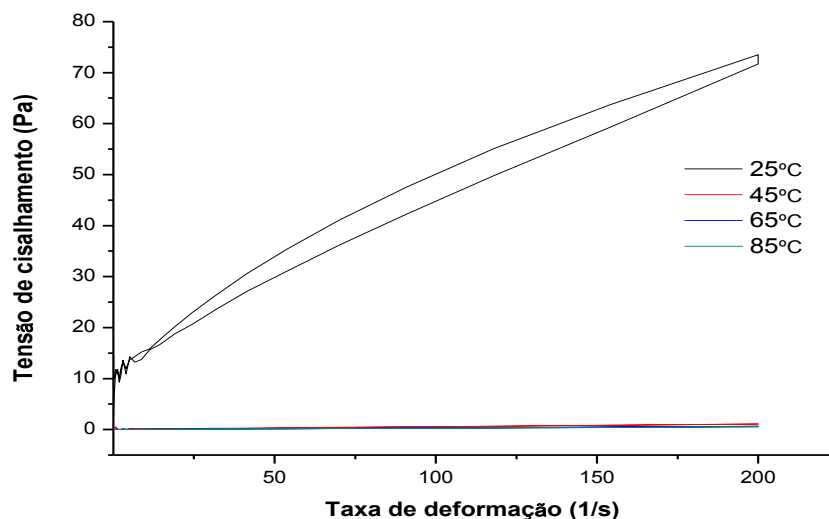


Fonte: O autor, 2017.

Quanto aos ensaios reológicos, pode-se observar na Figura 47, que a 25°C o fenômeno da histerese (tixotropia) caracteriza a formação de gel. Nota-se que, neste caso, a tensão de cisalhamento foi bastante superior à da amostra da Figura 35. Além disso, a redução da viscosidade com o aumento da taxa de deformação é característica de pseudoplasticidade. Nas demais temperaturas de estudo (45°C, 65°C e 85°C) observa-se que a tensão de cisalhamento é próxima de zero, independente da taxa de deformação, indica que não há resistência ao torque e que a viscosidade das amostras é muito pequena.

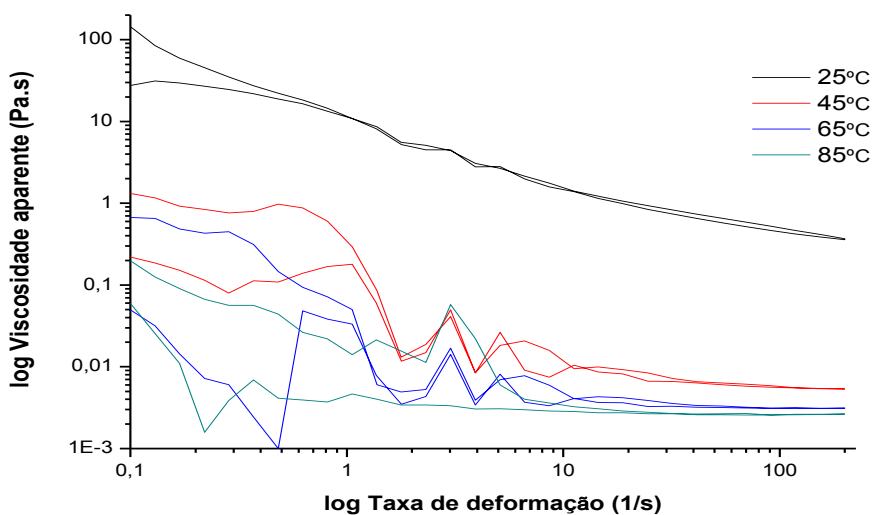
Na Figura 48, observa-se a 25°C uma pequena histerese o que caracteriza a tixotropia e a redução da viscosidade com o aumento da taxa de deformação, típica de fluidos pseudoplásticos. Nas demais temperaturas, observa-se um perfil de deformação anômalo, que pode estar associado à falta de sensibilidade do equipamento.

Figura 47 - Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelatina em pH 3 em diferentes temperaturas.



Fonte: O autor, 2017.

Figura 48 - Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelatina em pH 3 em diferentes temperaturas.



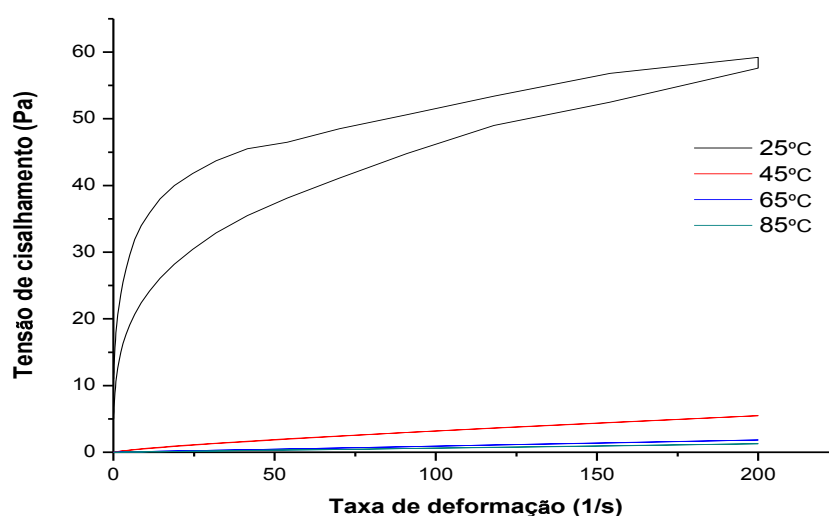
Fonte: O autor, 2017.

Em pH 5, pode-se observar na Figura 49 que, a 25°C, a formação de histerese (tixotropia) caracteriza a possibilidade de formação de gel. Porém, neste pH, houve a diminuição considerável da tensão de cisalhamento. Além disso, a redução da viscosidade

com o aumento da taxa de deformação é característica de pseudoplasticidade. A 45°C observa-se uma relação linear entre tensão e deformação, típica de um fluido newtoniano. Nas demais temperaturas de estudo (65°C e 85°C) observa-se que a tensão de cisalhamento é próxima de zero, independente da taxa de deformação, o que nos faz supor que não há resistência ao torque e que a viscosidade das amostras é muito pequena.

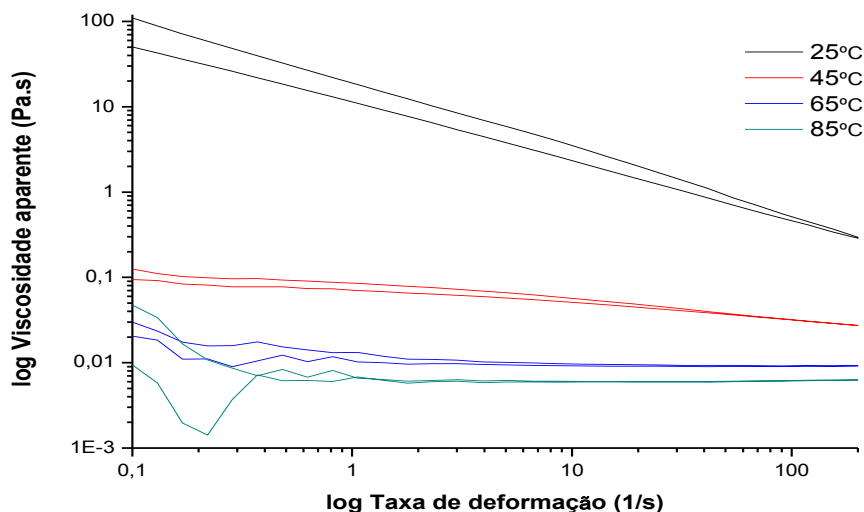
Na Figura 50, observa-se a 25°C uma pequena histerese e a redução da viscosidade com o aumento da taxa de deformação, típica de fluidos pseudoplásticos. A 45°C também se observa um comportamento pseudoplástico, porém a viscosidade é muito inferior do que a obtida a 25°C. Nas demais temperaturas, pode se observar que a viscosidade das amostras é muito baixa e tende a ficar constante com o aumento da taxa de deformação.

Figura 49 - Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelatina em pH 5 em diferentes temperaturas.



Fonte: O autor, 2017.

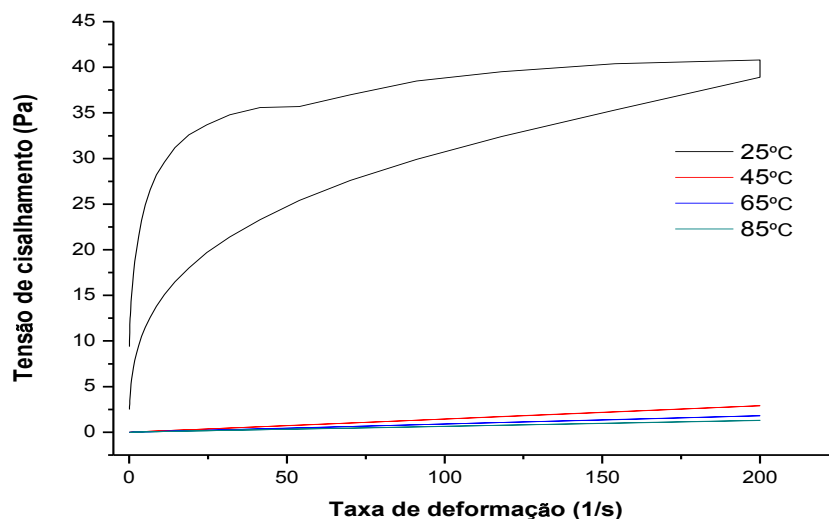
Figura 50 - Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelatina em pH 5 em diferentes temperaturas.



Fonte: O autor, 2017.

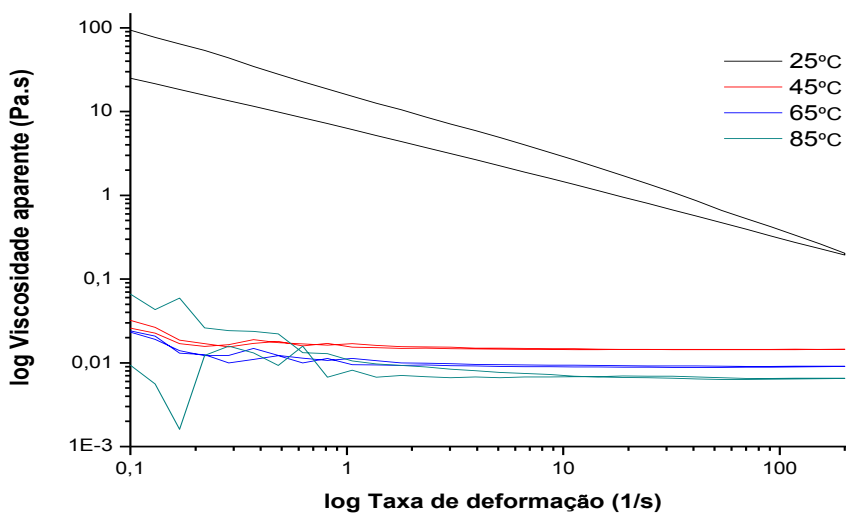
Em pH 8 (Figura 51), pode-se observar novamente a formação de histerese a 25°C (tixotropia) que caracteriza a possibilidade de formação de gel. Entretanto, é possível notar que a tensão de cisalhamento diminuiu significativamente, mostrando que, se houver a formação do hidrogel, este não terá força suficiente para se manter. Nas demais temperaturas, pode-se observar que a tensão de cisalhamento é praticamente constante, com o aumento da taxa de deformação, comportamento típico de fluidos newtonianos. Na Figura 52, observa-se a 25°C uma pequena histerese e a redução da viscosidade com o aumento da taxa de deformação, típica de fluidos pseudoplásticos.

Figura 51 - Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelatina em pH 8 em diferentes temperaturas.



Fonte: O autor, 2017.

Figura 52 - Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelatina em pH 8 em diferentes temperaturas..



Fonte: O autor, 2017.

Após a realização das caracterizações dessa metodologia, seguem abaixo (Tabela 7), os resultados obtidos para grau de intumescimento Q (%) e temperatura inicial de

decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão (σ_{max}) dos hidrogéis.

Tabela 7 - Valores de grau de intumescimento (Q), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão (σ_{max}) para os hidrogéis obtidos pela variação do pH a temperatura de 85°C sem adição de reticulante.

Hidrogéis	Q (%)	T_{onset} (°C)	F (N)	$\sigma_{\text{máx}}$ (kPa)
05FpH3A	1709 ± 47	210	1,24 ± 0,30	3,96 ± 0,98
05FpH4A	5805 ± 332	246	1,63 ± 0,54	5,19 ± 0,76
1FpH3A	2095 ± 176	214	2,95 ± 0,78	9,40 ± 1,13
1FpH4A	3104 ± 188	239	4,20 ± 0,34	13,38 ± 0,56

Fonte: O autor, 2017.

Pode-se observar pelos resultados listados na Tabela 7 que os hidrogéis obtidos em pH 3, independente da concentração de gelana sofreram grande redução na resistência térmica. Houve um aumento na tensão máxima de compressão em relação à metodologia anterior, sendo que as amostras 1FpH3A e 1FpH4A podem ser selecionadas para aplicações específicas como condicionamento de solos e liberação controlada de herbicidas. Pode-se observar nessas amostras selecionadas que conforme se aumenta a tensão máxima de compressão se reduz a capacidade de intumescimento.

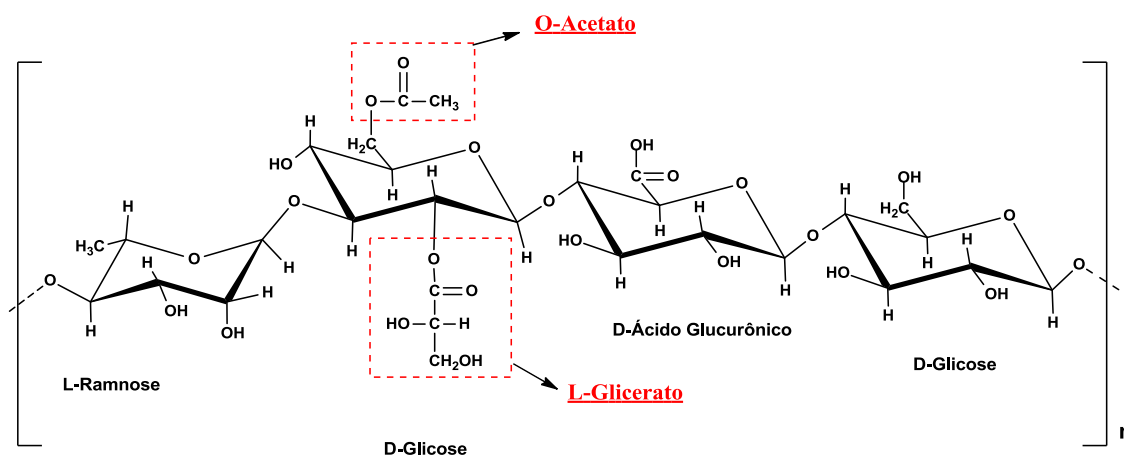
4.4. Hidrogéis à base de gelana altamente acetilada (HA)

Nessa etapa de estudo serão avaliados hidrogéis formados com a gelana nativa ou altamente acetilada (Kelcogel LT 100). Foram avaliados diferentes métodos de preparo de hidrogéis à base de gelana altamente acetilada, com o objetivo de conseguir preparar hidrogéis que apresentassem grau de intumescimento superior ao encontrado para a gelana desacetilada LA, além de tensão máxima de compressão próxima aos valores encontrados por Evangelidou *et al.* (2010) que seriam adequados para aplicações como, por exemplo, liberação controlada de herbicidas.

A gelana altamente acetilada é um polissacarídeo aniônico que consiste de repetidas unidades de um tetrassacarídeo contendo um glicerato por unidade repetida e um acetato a

cada duas unidades. Os substituintes L-glicerato e O-acetato estão localizados no C2 e C6 no mesmo resíduo de glicose (Figura 53). Essa forma altamente acetilada produz géis fracos devido à presença dos grupos gliceratos que ficam localizados dentro das duplas hélices, forçando uma rotação do grupo carboxílico localizado no resíduo D-glucuronato a fim se atingir uma conformação mais estável e formar ligações de hidrogênio intra e intermoleculares a fim de estabilizar as duplas hélices formadas. Os grupos gliceratos, apesar de localizados dentro das duplas hélices, causam estereopimpimento no momento de agregação das hélices para formar a rede tridimensional, formando géis fracos (KUO et al., 1986; CHANDRASERAN; MILLANE; ARNOTT, 1988; CHANDRASEKARAN; RHADA ; THAILAMBAL, 1992; MORRIS et al., 1996; KASAPIS et al., 1999; HUANG et al., 2003; RINAUDO, 2004; ABRAMOVIC; KLOFUTAR, 2006; FLORES-HUICOCHEA et al., 2013; MURILLO-MARTÍNEZ; TECANTE, 2014; MOHAMMED et al., 2015; VILELA; CUNHA, 2016).

Figura 53– Estrutura molecular de gelana altamente acetilada (gelana HA)



nativa ou goma gelana altamente acetilada

Fonte: O autor, 2017.

4.4.1. Método HA I - Estudo dos reticulantes em pH natural

Nesse método, foi avaliado o preparo de hidrogéis à base de gelana altamente acetilada nas concentrações de 0,25; 0,5 e 1,0% (m/v) com a adição de um reticulante monovalente (KCl) e um reticulante divalente (CaCl₂), no pH natural da gelana (em torno de 5,4) a fim de

se avaliar a formação de hidrogéis e sua capacidade de intumescimento em até 30 minutos de imersão em água.

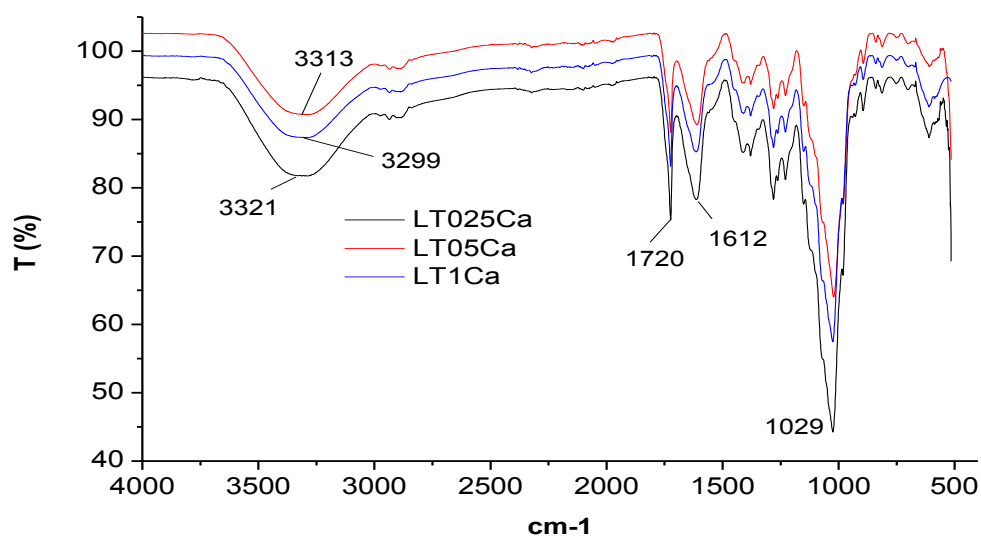
Pode-se observar na Figura 54(a), em que as amostras foram reticuladas com o cátion Ca^{+2} , um deslocamento das bandas de estiramento axial de grupos O-H na região de absorção próxima a 3350 cm^{-1} , o que pode estar relacionado às possíveis interações entre os íons Ca^{+2} e os grupos OH presentes nas cadeias de gelana (SILVERSTEIN et al., 2009; VERMA; PANDIT, 2012). A banda foi deslocada de 3299 cm^{-1} (gelana HA pura) para 3321 e 3313 cm^{-1} para as amostras com concentração de gelana de 0,25% e 0,5% (m/v), respectivamente. Para a concentração de 1,0% (m/v) não foi observado deslocamento, sendo mantido o valor de 3299 cm^{-1} . Nas demais regiões do espectro não foram observados deslocamentos das bandas entre as amostras.

Na Figura 54(b), onde as amostras foram reticuladas com o cátion K^+ , observa-se uma menor intensidade de absorção do que observado nas amostras reticuladas com Ca^{+2} , independente da concentração de gelana, o que pode estar relacionado à habilidade da gelana HA em se ligar com cátions. As interações dentro e entre as duplas hélices deixam os grupos carboxilato, em cada unidade repetida cercados de moléculas de solvente e cátions. Os íons K^+ se ligam a uma molécula de água e a cinco átomos de oxigênio, onde a reticulação das duplas hélices se dará de forma indireta, sendo auxiliada por moléculas de água. Isso faz com que as reticulações com os íons monovalentes como o K^+ sejam mais fracas do que com os íons divalents como o íon Ca^{+2} , como também observado na gelana LA (CHANDRASEKARAN; THAILAMBAL, 1990; CHANDRASEKARAN; RHADA; THAILAMBAL, 1992).

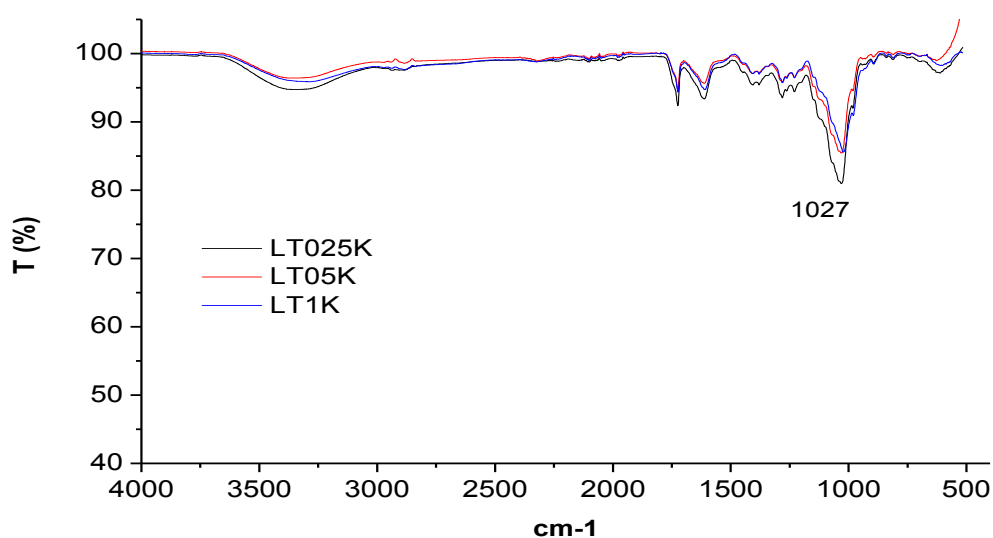
Tanto cátions divalents como monovalentes estabilizam as redes pela reticulação das duplas hélices da gelana, através dos grupos carboxilatos das suas moléculas. Entretanto, seguem diferentes mecanismos de gelificação. Cátions divalente como o Ca^{2+} , reticulam as duplas hélices diretamente (dupla hélice- Ca^{+2} -dupla hélice), enquanto cátions monovalentes como o K^+ , reticulam indiretamente (dupla hélice- K^+ -água- K^+ -dupla hélice) (CHANDRASEKARAN; THAILAMBAL, 1990; CHANDRASEKARAN; RHADA; THAILAMBAL, 1992; CHANDRASEKARAN et al., 1995; HUANG et al., 2003; HUANG et al., 2004). Os cátions monovalentes protegem a repulsão eletrostática e favorecem a agregação das duplas hélices. Os cátions divalents formam ligações iônicas diretamente com os ácidos carboxílicos das diferentes cadeias de gelana, resultando na agregação das duplas hélices através de ligações intercadeia (DAI et al., 2010; MORRIS et al., 2012). Esses diferentes mecanismos de gelificação fazem com que os íons divalents sejam mais efetivos

na formação do gel que os íons monovalentes (HUANG et al., 2004; MORRIS et al., 2012). Além disso, o estereopimpimento causado pelos grupos gliceratos na gelana HA enfraquecem ainda mais essas reticulações.

Figura 54 - Curvas de FTIR dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com os reticulantes CaCl_2 (a) e KCl (b), nas concentrações de gelana de 0,25, 0,5 e 1,0 (% m/v).



(a)

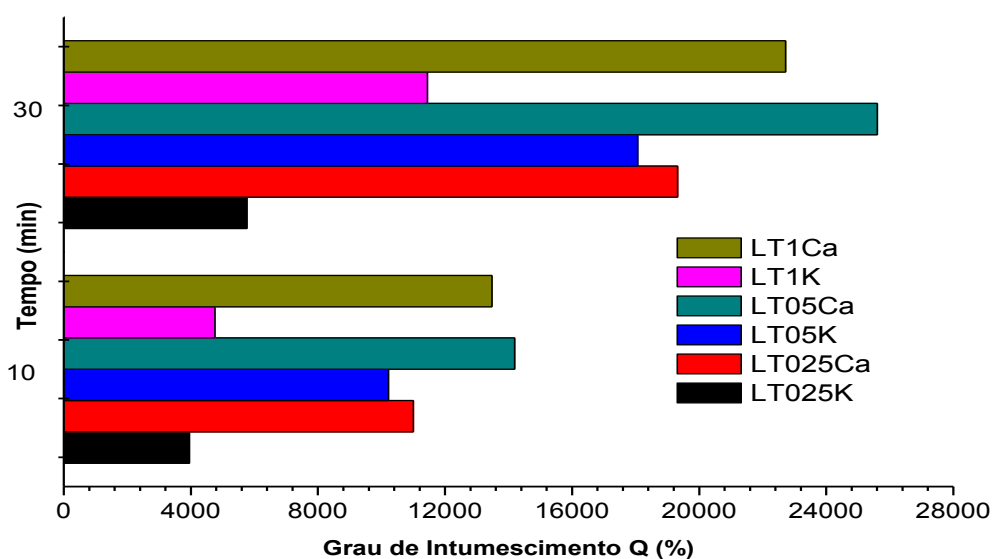


(b)

Fonte: O autor, 2017.

Quanto ao grau de intumescimento, pode-se observar na Figura 55, que todos os hidrogéis obtidos são superabsorventes e todos aumentaram sua capacidade de inchamento após 30 minutos de imersão em água.

Figura 55 - Grau de intumescimento (Q) dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados variando-se o agente reticulante (Ca^{2+} ou K^+), utilizando solução de gelana nas concentrações de 0,25; 0,5 e 1,0 (% m/v).



Fonte: O autor, 2017.

Independente da concentração da solução de gelana, os maiores valores de intumescimento foram obtidos com o reticulante divalente Ca^{+2} , comportamento contrário ao esperado já que a gelana HA, apesar de não ser sensível a cátions devido a fatores causados pelo estereoiimpedimento do substituinte glicerato, apresenta maior afinidade com os cátions divalentes do que com os cátions monovalentes. O que pode ter ocorrido é que algumas interações com os íons Ca^{+2} podem ter sido rompidas devido à protonação parcial do grupo carboxilato presente nas cadeias de gelana, reduzindo os locais disponíveis para reticulação com os cátions Ca^{+2} e, por consequência, reduzindo a agregação entre as duplas hélices (CHANDRASEKARAN; RHADA; THAILAMBAL, 1992).

Da mesma maneira que a gelana desacetilada (LA), a gelana HA apresenta uma estrutura em dupla hélice e a agregação dessas duplas hélices forma uma rede tridimensional. Entretanto, na HA, os grupos gliceratos, localizados no interior das duplas hélices, forçam o grupo carboxilato presente no resíduo glucuronato lateral a girar, alterando as características

de ligação com íons a fim de aliviar o impedimento estérico. Já o grupo acetato, posicionado na periferia da dupla hélice, pode ter pouco ou nenhum efeito na agregação das duplas hélices da gelana. Isso pode explicar a fraca capacidade de gelificação da HA (HUANG, et al., 2003).

Logo, a presença dos grupos acetato e glicerato não interferem na formação das duplas hélices, mas alteram a capacidade de ligação com cátions, sendo a gelana HA menos sensível a cátions do que a gelana desacetilada (CHANDRASEKARAN; RHADA; THAILAMBAL, 1992).

Por outro lado, os grupos glicerato, acomodados no interior das duplas hélices, aumentam a estabilidade térmica da estrutura através da formação de ligações de hidrogênio adicionais intra e intermoleculares, ocasionando uma redução na quantidade de sítios disponíveis para ligação com cátions, reduzindo a força do gel formado (MORRIS et al., 2012; MURILLO-MARTÍNEZ; TECANTE, 2014).

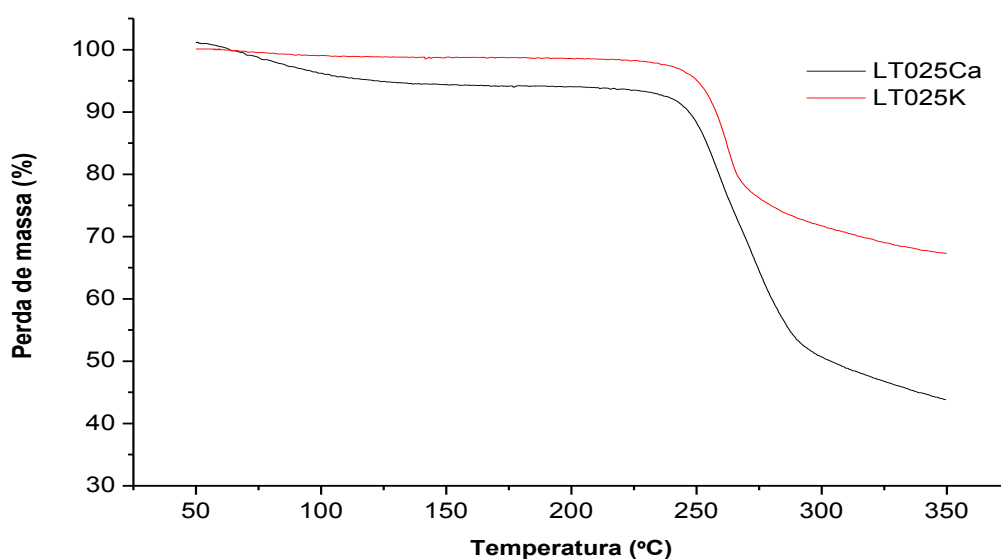
Os cátions Ca^{+2} promovem a formação das hélices e a agregação das macromoléculas pela formação de ligações iônicas com os grupos carboxilato das moléculas de gelana. Além disso, os cátions Ca^{+2} afetam a densidade de carga das macromoléculas de gelana e alteram a barreira eletrostática, tornando-a mais ou menos repulsiva. Em uma solução de gelana, pode haver uma concentração de Ca^{+2} , denominada concentração ótima, que possui cátions suficientes para se ligarem a todos os grupos carboxila das moléculas de gelana e minimizar a força repulsiva entre as macromoléculas. Nessa concentração, o sistema é estável e as moléculas de gelana têm a máxima habilidade para formar gel. Quando a concentração de Ca^{+2} é menor que a concentração ótima, os íons Ca^{+2} permitem a formação das hélices enquanto o efeito repulsivo causado pela barreira eletrostática é menor que o efeito de formação das hélices. Desse modo, um aumento na concentração de Ca^{+2} aumentaria a associação das macromoléculas (HUANG et al., 2008).

Entre os cátions utilizados nesta Tese, era esperado que o cátion divalente Ca^{+2} fosse mais efetivo na reticulação do que o cátion monovalente K^{+} , entretanto o que pode ter ocorrido é que a quantidade de íons Ca^{+2} pode não ter sido suficiente para neutralizar todos os grupamentos (COO^{-}) provenientes da gelana. Esse aumento do caráter aniônico da solução pode ter ocasionado repulsão eletrostática entre as cadeias de gelana, com posterior aumento das distâncias entre cadeias e, conseqüentemente, aumentando o grau de intumescimento (Q).

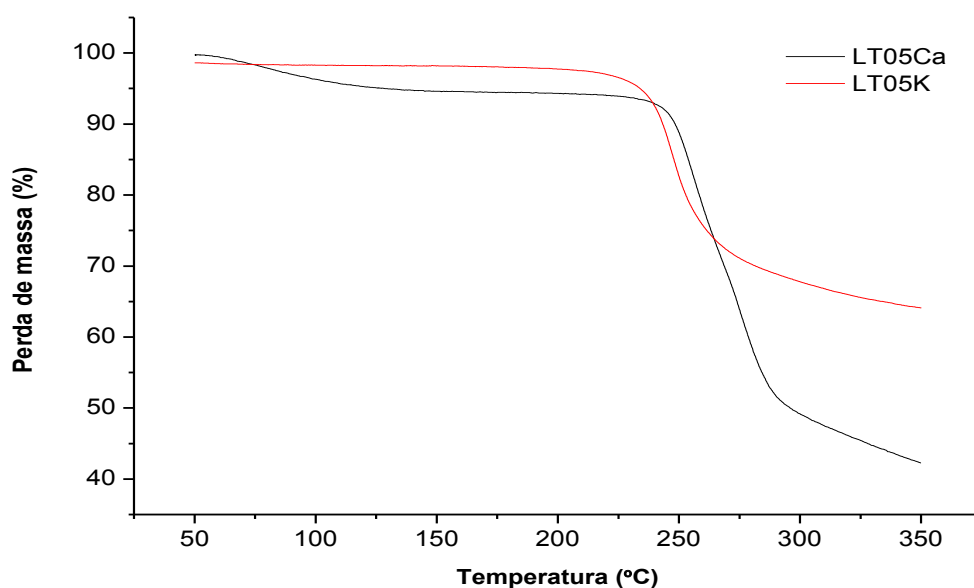
Quanto ao comportamento térmico, nas amostras de gelana a 0,25% (m/v) observa-se na Figura 56(a) que o hidrogel reticulado com o cátion monovalente tendeu a apresentar maior resistência térmica ($T_{\text{onset}} = 252^{\circ}\text{C}$) do que o reticulado com o cátion divalente ($T_{\text{onset}} = 247^{\circ}\text{C}$), o que pode ser explicado pelo mecanismo de formação do gel.

A estrutura da gelana HA é muito mais enovelada que a da gelana desacetilada, devido ao aumento no número de ligações de hidrogênio, causando uma mudança no espaço conformacional disponível para rotações. Logo, o par de moléculas que constitui a hélice é estabilizado por ligações de hidrogênio no grupo carboxilato. Na forma de sal de K, o íon K^+ é coordenado pelo grupo carboxilato, que está envolvido por uma ligação de hidrogênio intercadeia. Os íons K^+ estão localizados na parte externa da hélice de modo que, além de estabilizarem a formação da hélice, também permitem que as hélices se agreguem, resultando na formação do gel. Para o sal de cálcio, o modelo é similar, porém, o íon Ca^{+2} substitui dois íons K^+ e uma molécula de água. As cadeias laterais da gelana HA não interferem com a agregação das hélices, mas os grupos gliceratos interferem, resultando em um gel mais elástico e macio (MORRIS, et al., 2012; LORENZO, et al., 2013).

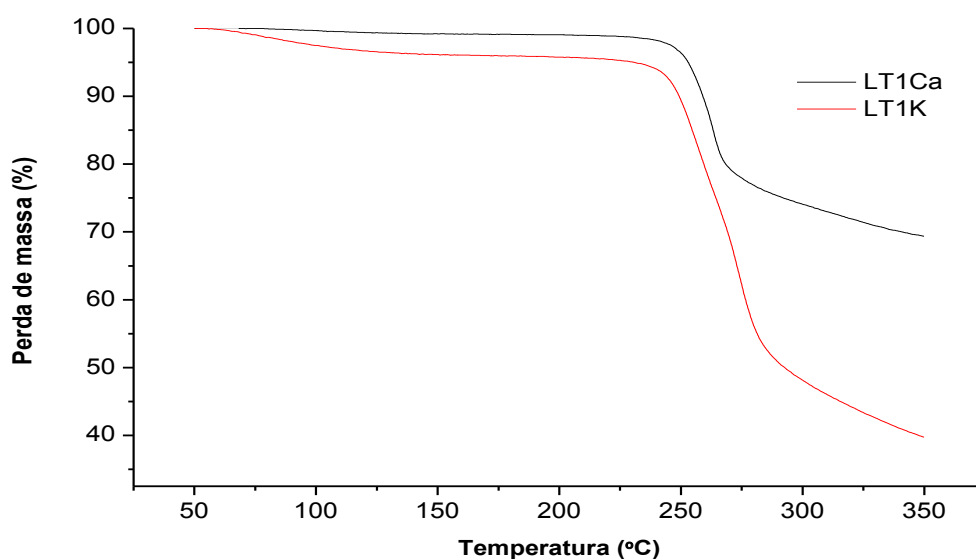
Figura 56 – Curvas de TG dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados variando-se o agente reticulante (Ca^{2+} ou K^+), utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b) e 1,0 (c)



(a)



(b)



(c)

Fonte: O autor, 2017.

A resistência térmica do gel de gelena reticulado com cálcio ($T_{\text{onset}} = 247^{\circ}\text{C}$) foi similar ao encontrado para a gelena altamente acetilada pura ($T_{\text{onset}} = 246^{\circ}\text{C}$), o que significa que, devido ao estado conformacional da gelena acetilada, aos fatores de impedimento estérico causados pelos gliceratos e pelo tamanho do íon divalente, poucos cátions divalentes se ligaram às duplas hélices, não alterando a resistência térmica do material. Já para o cátion monovalente, pode-se observar um aumento significativo na resistência térmica ($T_{\text{onset}} = 252^{\circ}\text{C}$), já que os fatores estéricos foram menos pronunciados, devido a melhor acomodação

do íon K^+ entre as cadeias de gelana, favorecendo sua ligação com as duplas hélices e, como consequência, aumentando a resistência térmica do gel reticulado com o cátion monovalente.

Na concentração de gelana para 0,5% (m/v) observa-se, na Figura 56(b), que a amostra reticulada com o cátion divalente apresentou a mesma resistência térmica do que a amostra reticulada com o cátion monovalente (T_{onset} da amostra com o cátion divalente foi de 246°C e o da amostra com o cátion monovalente foi de 242°C).

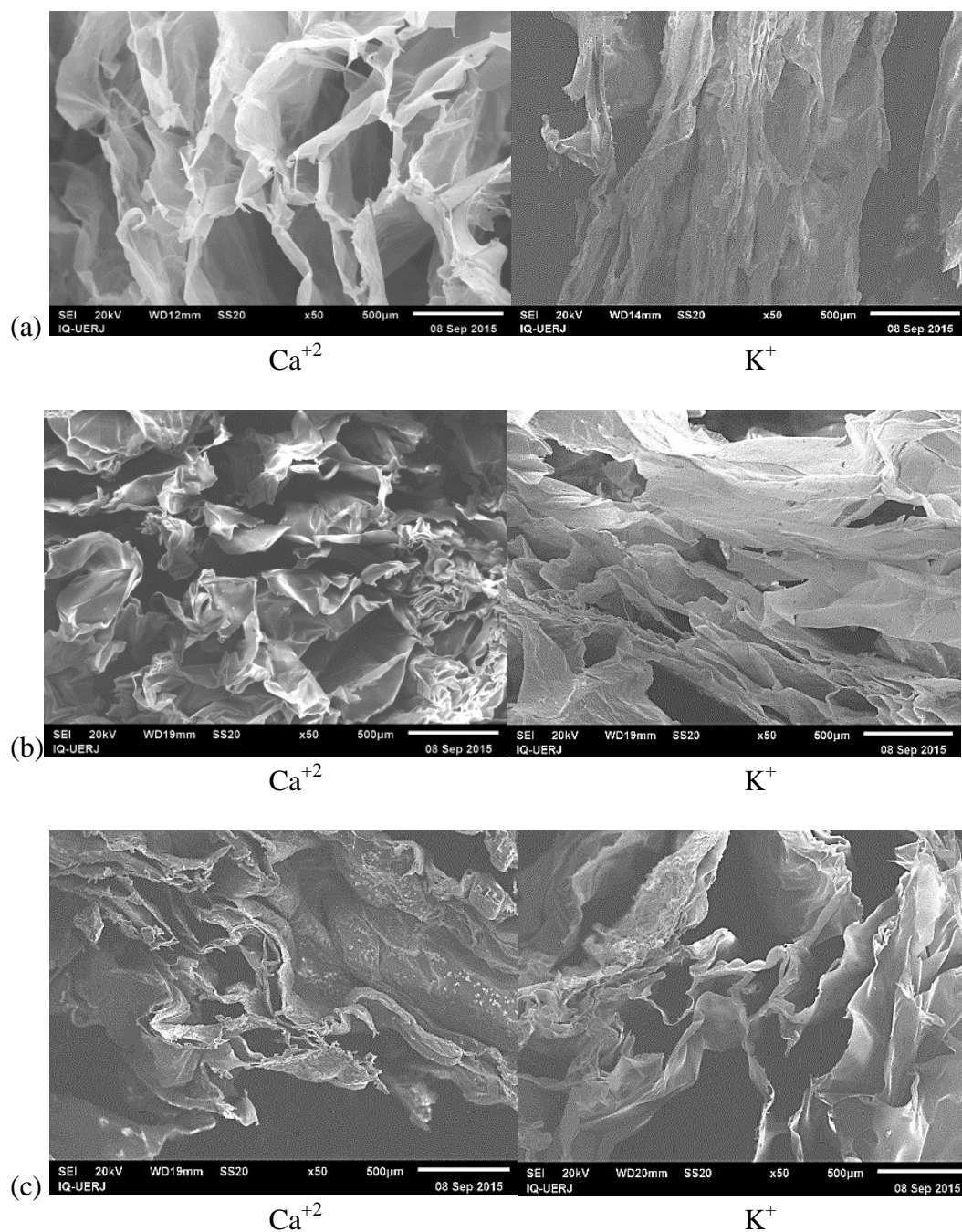
Com o aumento da concentração para 1,0% (m/v), observa-se, na Figura 56(c), que o comportamento térmico já se modifica, onde as amostras reticuladas com o cátion divalente tenderam a apresentar maior resistência térmica do que as amostras reticuladas com o cátion monovalente (T_{onset} da amostra com o cátion monovalente foi de 246°C e o da amostra com o cátion divalente foi de 252°C). Isto pode estar relacionado com o aumento da concentração de gelana, pois apesar do impedimento estérico causado pelos íons glicerato localizados próximos aos grupos carboxilatos, alguns íons Ca^{+2} podem se ligar a esses íons COO^- , formando ligações mais fortes do que as ligações com os íons monovalentes K^+ .

Quanto à morfologia, pode-se observar na Figura 57(a) que a gelana altamente acetilada (HA), na concentração de 0,25%, reticulada com $CaCl_2$, apresenta estrutura composta por poros grandes enquanto que, a amostra reticulada com KCl apresentou morfologia menos porosa, o que está de acordo com os resultados obtidos no intumescimento, onde o inchamento da amostra reticulada com Ca^{+2} foi muito superior ao inchamento da amostra reticulada com K^+ .

Para a concentração de 0,5%, observa-se na Figura 57(b) uma estrutura mais foliácea na amostra reticulada com K^+ . Além disso, a amostra reticulada com Ca^{+2} se apresentou mais porosa, corroborando com os resultados obtidos no intumescimento, onde, para as amostras preparadas com a concentração de 0,5%, o intumescimento com Ca^{+2} foi maior do que com K^+ .

Na concentração de 1,0%, as micrografias da Figura 57(c) são bem parecidas, onde se pode observar a existência de vazios ou volume livre, que podem apresentar boa capacidade de retenção de água. Mais uma vez, o intumescimento com a amostra reticulada com Ca^{+2} foi superior ao com K^+ .

Figura 57– Micrografias de SEM dos hidrogéis à base de gelatina HA, preparados variando-se o agente reticulante (Ca^{2+} ou K^+), utilizando solução de gelatina nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b); 1,0 (c).



Fonte: O autor, 2017.

Após a realização das caracterizações dessa metodologia, seguem abaixo (Tabela 8), os resultados obtidos para grau de intumescimento Q (%) e temperatura inicial de decomposição (T_{onset}) dos hidrogéis.

Tabela 8 - Valores de grau de intumescimento (Q) e temperatura inicial de decomposição (T_{onset}) para os hidrogéis obtidos no estudo dos reticulantes em pH natural (5,4).

Hidrogéis	Q (%)	T_{onset} (°C)
LT025Ca	19325 ± 756	247
LT025K	5764 ± 498	252
LT05Ca	25610 ± 645	246
LT05K	18067 ± 1013	242
LT1Ca	22716 ± 566	252
LT1K	11448 ± 723	246

Fonte: O autor, 2017.

Conforme exposto na Tabela 8, a capacidade de intumescimento dos hidrogéis de gelana HA, de maneira geral, é muito superior aos obtidos nos hidrogéis de gelana desacetilada LA, o que comprova o caráter elástico desse tipo de gelana. Os intumescimentos nas amostras reticuladas com o reticulante divalente Ca^{+2} foram superiores, independente da concentração de gelana. Quanto à resistência térmica, todas as amostras apresentaram resistência térmica similar ou superior ao da gelana HA pura (246°C).

4.4.2. Método HA II - Estudo da variação do pH

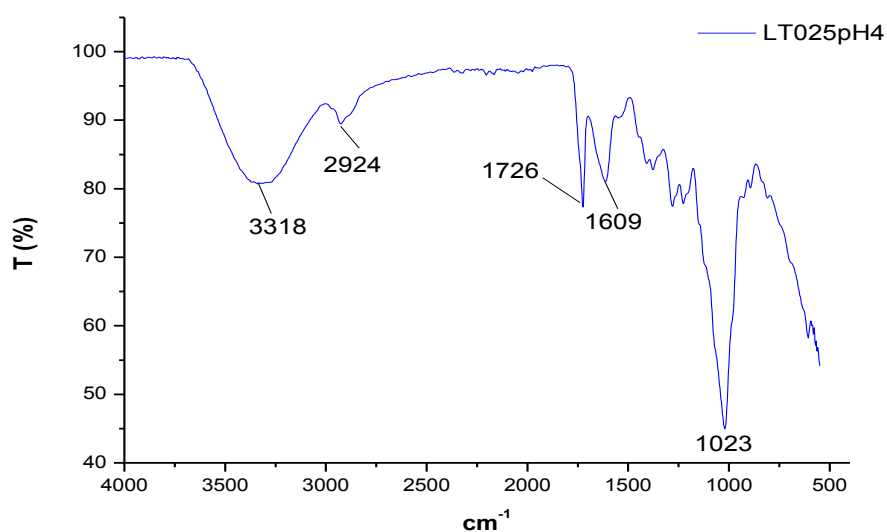
Nesta etapa de estudo, foi avaliado o preparo de amostras de gelana altamente acetilada nas concentrações de 0,25%, 0,5% e 1.0% (m/v) variando-se o pH na faixa ácida (2, 3 e 4) e na faixa alcalina (8, 9 e 10), a fim de se avaliar a formação de hidrogéis e sua capacidade de intumescimento em até 30 minutos de imersão em água.

Para concentração de 0,25% de gelana só foi observada a formação do hidrogel em pH 4, já que foi a única amostra que apresentou capacidade de inchamento em 10 minutos de imersão em água, com um pequeno aumento na capacidade de inchamento quando se elevou o tempo de imersão para 30 minutos. Logo, foi a única amostra caracterizada nessa concentração.

O espectro de FTIR para a amostra na concentração de 0,25% (m/v) em pH 4 apresentou deslocamento da banda de estiramento axial de grupos O-H de 3299 cm^{-1} (gelana

pura) para 3318 cm^{-1} (Figura 58), o que pode ser atribuído à formação das ligações de hidrogênio intra e intermoleculares (SILVERSTEIN et al., 2009; TAKO et al., 2016). As demais bandas do espectro do hidrogel não sofreram deslocamento significativo em relação às bandas características da gelana HA pura.

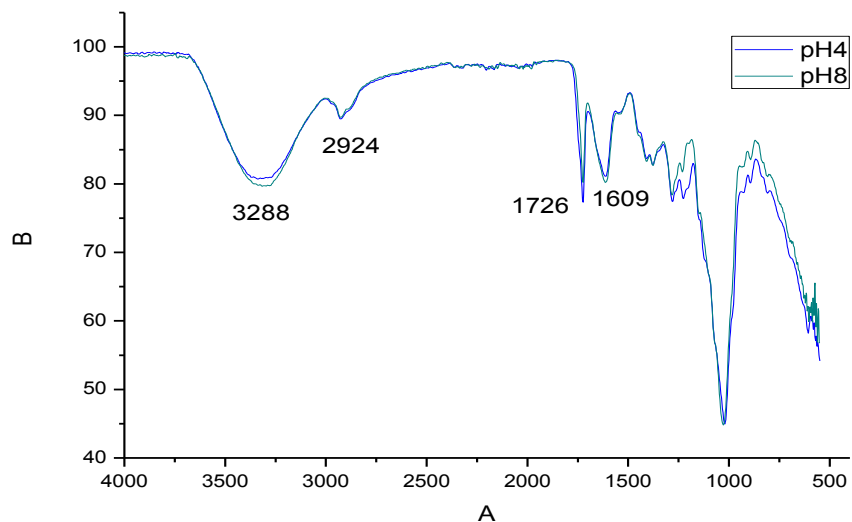
Figura 58 - Espectro de FTIR do hidrogel à base de gelana HA, preparado em pH 4 com concentração de gelana de 0,25% (m/v).



Fonte: O autor, 2017.

Na concentração de 0,5% (m/v) de gelana, pode-se observar um deslocamento das bandas de estiramento axial de grupos O-H, das amostras de hidrogel obtidas em pH 4 e 8 (Figura 59), para um valor inferior ao que foi observado para a HA pura (Figura 14). A banda foi deslocada de 3299 cm^{-1} (gelana pura) para 3288 cm^{-1} (hidrogéis). Isso pode ser atribuído à formação das ligações de hidrogênio intra e intermoleculares (SILVERSTEIN et al., 2009; TAKO et al., 2016).

Figura 59 - Espectros de FTIR dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com diferentes valores de pH com concentração de gelana de 0,5 % (m/v).

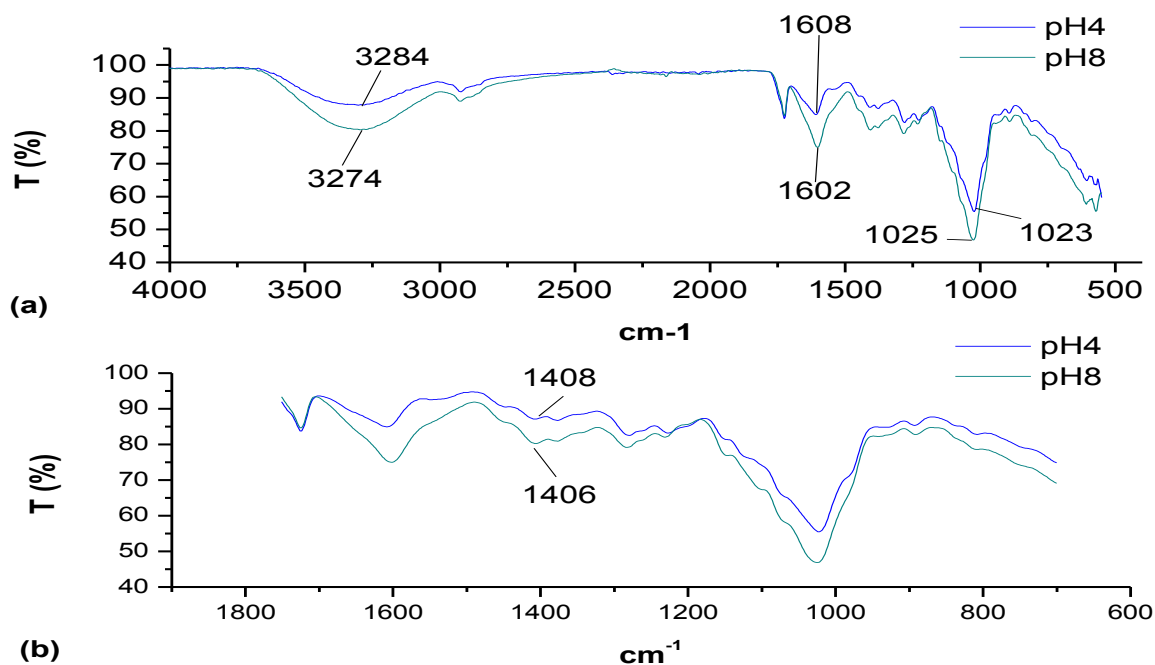


Fonte: O autor, 2017.

Com a solução aquosa de gelana na concentração de 1,0 % m/v, pode-se observar, novamente, um deslocamento das bandas de estiramento axial de grupos O-H das amostras obtidas em pH 4 e 8 para um valor inferior (Figura 60a) ao que foi observado para a HA pura (Figura 14). A banda foi deslocada de 3299 cm^{-1} (gelana pura) para 3284 cm^{-1} e 3274 cm^{-1} nos hidrogéis, respectivamente. Observa-se, também, um aumento na intensidade nessa mesma banda relacionada a hidroxilas na amostra obtida em pH 8, o que pode estar relacionado ao aumento de grupamentos $(\text{OH})^-$ disponíveis com o aumento do pH.

É possível observar um deslocamento da banda referente ao estiramento assimétrico de COO^- relacionada ao ânion carboxilato. Na HA pura e na amostra em pH 4, a banda encontra-se praticamente no mesmo número de onda (1609 cm^{-1} e 1608 cm^{-1} , respectivamente). Já para a amostra em pH 8, essa banda tendeu a ser deslocada para 1602 cm^{-1} (Figura 60a). Quando se compara as bandas na região de 1400 cm^{-1} , relacionadas ao estiramento simétrico COO^- , também se observa um pequeno deslocamento nessa região, porém essa alteração não é significativa (Figura 60b). Observa-se, entretanto, uma diferença nas intensidades, nessa região, entre as amostras em pH 4 e 8, provavelmente, causada pelos diferentes graus de reticulação das moléculas de gelana, que ocorre por meio da agregação das hélices duplas (SMITH, 1999; AGNIHOTRI; JAWALKAR; AMINABHAVI, 2006).

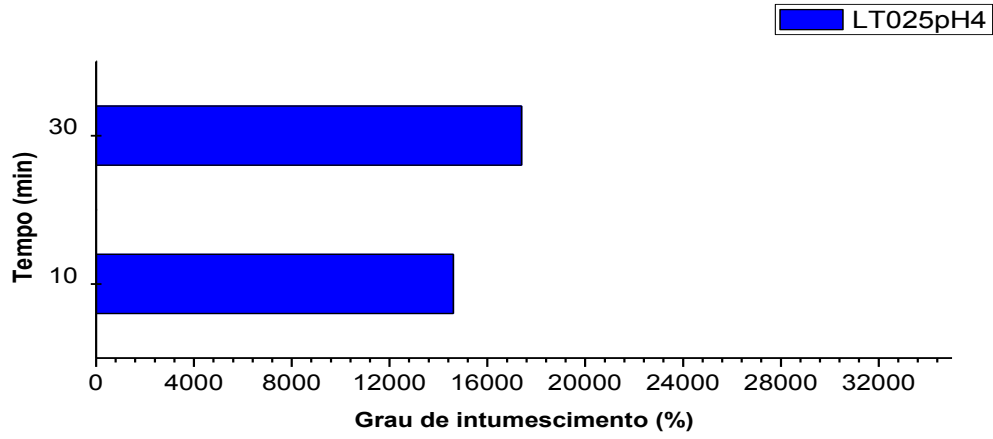
Figura 60 - Espectros de FTIR dos hidrogéis à base de HA, preparados com diferentes valores de pH: (a) espectro de 400 a 4000 cm^{-1} ; (b) detalhe dos espectros na região entre 700 e 1800 cm^{-1} (Dado: solução de gelana = 1,0 % m/v).



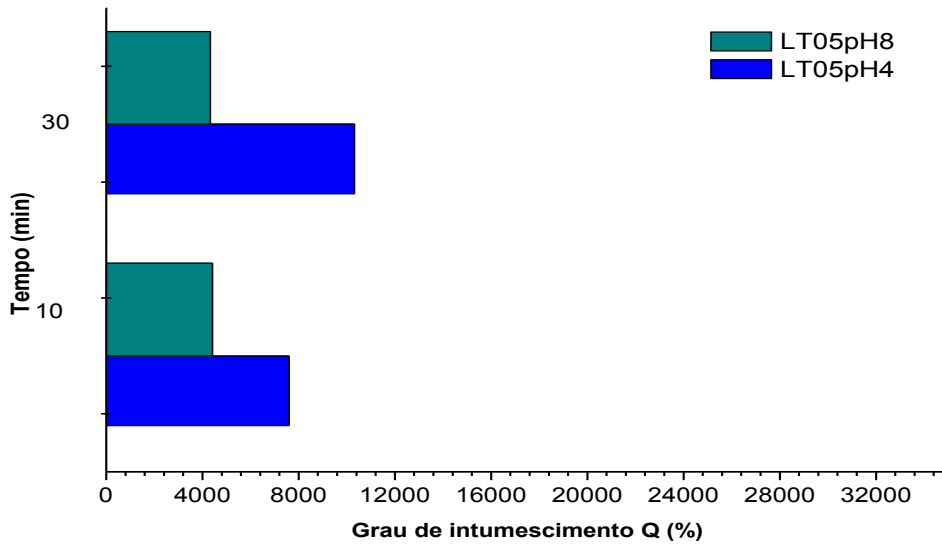
Fonte: O autor, 2017.

Quanto ao intumescimento, pode se observar na Figura 61, que em todas as concentrações estudadas, os maiores intumescimentos foram obtidos em pH 4, e que em pH 8 o aumento no intumescimento entre 10 e 30 minutos foi pequeno, mantendo-se praticamente constante.

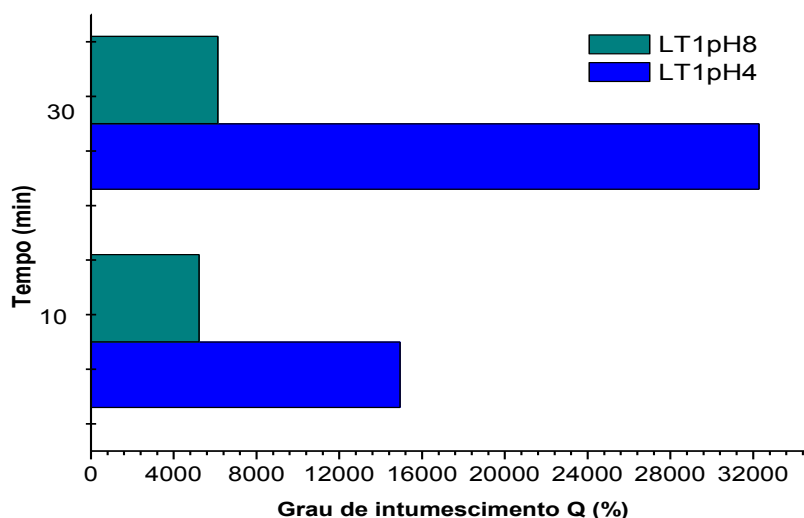
Figura 61 – Grau de intumescimento (Q) dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados variando-se o pH, utilizando solução de gelana nas concentrações (m/v): 0,25% (a), 0,5% (b) e 1,0% (c)



(a)



(b)



(c)

Fonte: O autor, 2017.

Hidrogéis contendo grupos ácidos como a gelana tornam-se mais ionizáveis em maiores valores de pH e hidrogéis básicos mostram maior ionização em menores valores de pH. Logo, hidrogéis ácidos tendem a inchar mais quando o pH do meio aumenta enquanto que hidrogéis básicos exibem comportamento contrário (DELIGKARIS et al., 2010; KARTHIKA; VISHALAKSHI, 2013).

A gelana altamente acetilada é um polissacarídeo aniônico linear e possui um valor de pKa próximo a 3,5. Sendo assim, em soluções onde o pH é maior que o pKa, a gelana apresenta-se como um poliânion, já que o grau de ionização aumenta, causando um aumento na repulsão eletrostática entre as suas cadeias (BRANNON-PEPPAS; PEPPAS, 1990; KHARE; PEPPAS, 1994; PICONE, et al., 2010). Esse polissacarídeo tem uma média de densidade de carga de 0,25 mol de carga negativa/mol de monossacarídeo na forma de ácido carboxílico, que é um valor baixo se comparado a outros polissacarídeos como pectina e carragena (DE JONG; VAN DE VELDE, 2007; PICONE, et al., 2010).

Dessa forma, o pH, em um polieletrólito aniônico como a gelana, pode afetar a conformação de suas cadeias em meio aquoso pela troca na natureza aniônica das cadeias de gelana determinadas pelo grau de dissociação dos grupos carboxila, que variam com o pH (HORINAKA et al., 2004; YAMAMOTO ; CUNHA, 2007).

O comportamento de inchamento observado nesta Tese foi contrário ao esperado, já que os maiores intumescimentos foram observados em pH ácido. Isto pode ser explicado pelo efeito de estabilização das duplas hélices pelos grupos gliceratos, através de uma alteração

conformacional que envolve a rotação dos grupos carboxilatos em aproximadamente 30°. Essa alteração fornece espaço suficiente para que o grupo glicerato adote uma conformação retorcida, em que todos os três átomos de oxigênio envolvidos, auxiliem na estabilização da dupla hélice modificada. Essa alteração conformacional envolve a formação de uma nova ligação de hidrogênio e a redução no comprimento de outra ligação de hidrogênio já existente. Essas duas ligações de hidrogênio intramoleculares oferecem uma grande estabilidade para a gelana altamente acetilada (CHANDRASEKARAN; THAILAMBAL, 1990; TAKO et al., 2009; TAKO et al., 2016).

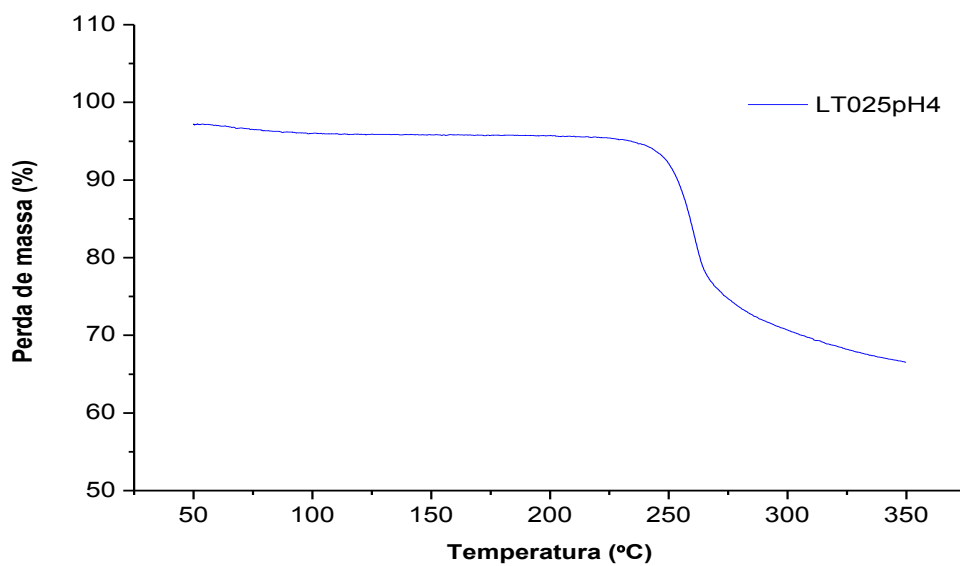
Em pH ácido, quando o grupo carboxilato é protonado, um dos átomos de oxigênio do grupo glicerato pode manter a mesma dupla hélice da forma não protonada, que é melhor estabilizada por outra ligação de hidrogênio intramolecular, onde esse oxigênio do glicerato servirá comoceptor de elétrons (CHANDRASEKARAN; THAILAMBAL, 1990). Assim, supõe-se que o maior intumescimento em pH ácido, encontrado neste estudo, independente da concentração de gelana, pode estar associado à essa estabilidade adicional, devido à alteração conformacional da molécula de gelana HA.

Quanto aos resultados de análise térmica, pode-se observar na Figura 62(a), que na concentração de 0,25% (m/v), o T_{onset} da amostra em pH 4 foi 250°C, muito próximo ao valor encontrado quando se aumentou a concentração de gelana para 0,5% (m/v), também em pH 4, que foi de 248°C. De acordo com a variação máxima permitida referente à técnica ($\pm 4^\circ\text{C}$), pode-se afirmar que essa diferença de valores não é significativa.

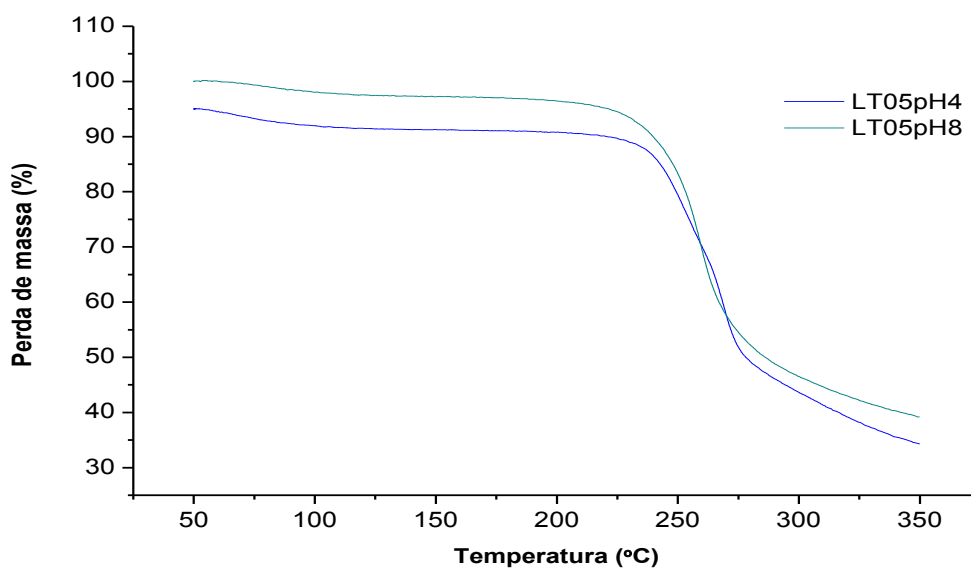
Comparando-se os resultados obtidos para a concentração de 0,5% (m/v), em diferentes valores de pH, observa-se na Figura 62(b), que os hidrogéis produzidos em pH 4 e 8 apresentaram, praticamente, a mesma resistência térmica, já que os valores obtidos foram de 248°C e 245 °C, respectivamente.

Para a concentração de 1,0% (m/v), observa-se na Figura 62(c) que o hidrogel produzido em pH 4 apresentou maior resistência térmica que o preparado em pH 8 (249°C e 240 °C), respectivamente.

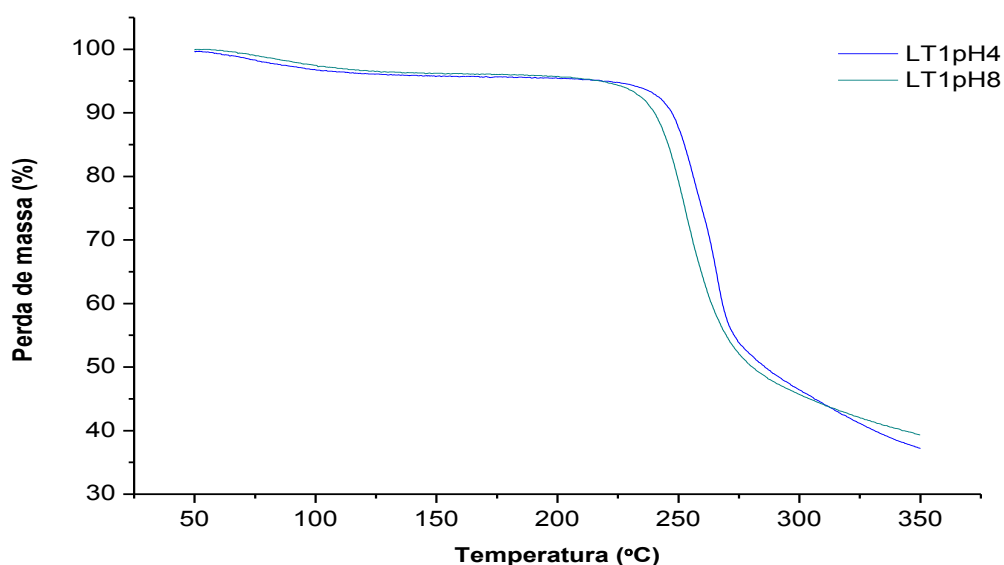
Figura 62 – Curvas de TG dos hidrogéis à base de gelatina HA, preparados variando-se o pH, utilizando solução de gelatina nas concentrações (% m/v): 0,25 (a) 0,5 (b), 1,0 (c).



(a)



(b)

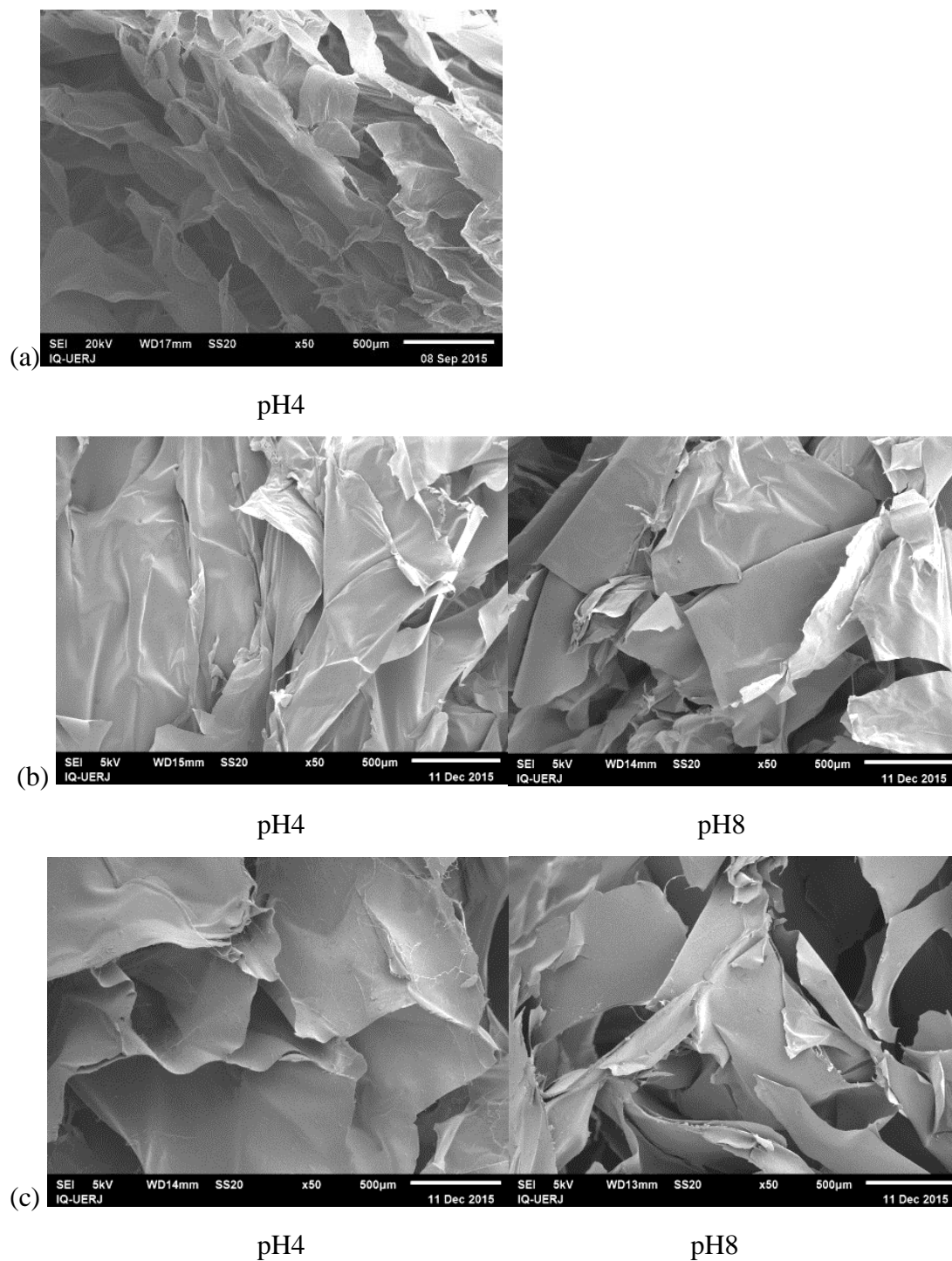


(c)

Fonte: O autor, 2017.

Quanto à morfologia, pode-se observar na Figura 63 que todas as amostras apresentaram estrutura foliácea, não rugosa, com a existência de volumes livres irregulares na concentração de 0,25% (Figura 63(a)). Para a concentração de 0,5%, podem ser vistas na Figura 63(b) estruturas bastante irregulares e quebradiças, principalmente em pH 8, porém existem alguns espaços livres que podem justificar as condições para retenção de água. Para as amostras preparadas com 1,0% de gelatina HA (Figura 63(c)), a micrografia em pH 4 mostra um aspecto foliáceo, contendo vazios que se assemelham a poros grandes, enquanto que em pH 8 observa-se uma estrutura mais quebradiça e desorganizada, porém ainda assim com espaços vazios que justificariam um bom intumescimento.

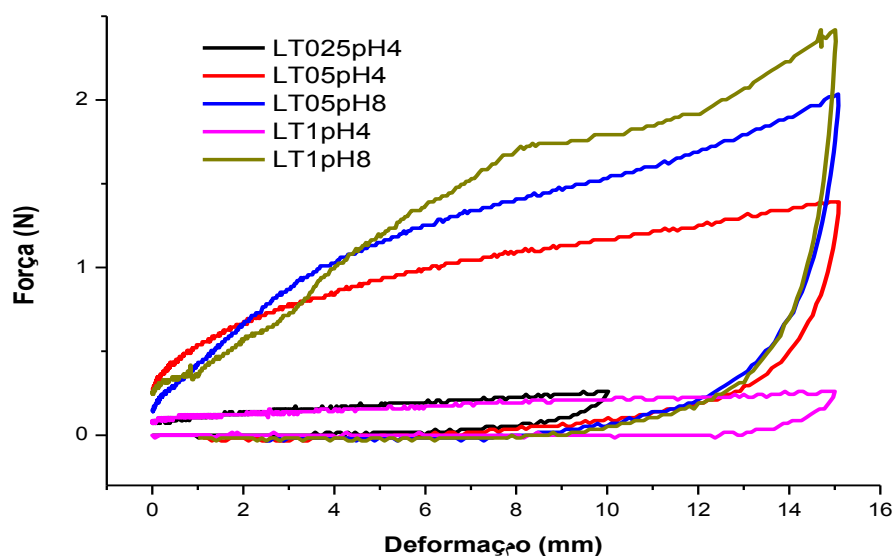
Figura 63 – Micrografias de SEM dos hidrogéis à base de gelatina HA, preparados variando-se o pH, utilizando solução de gelatina nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b); 1,0 (c).



Fonte: O autor, 2017.

Quanto à resistência à compressão, pode-se observar na Figura 64, que os hidrogéis em pH ácido apresentaram as menores resistências à compressão do que os preparados em pH básico, o que está de acordo com os resultados obtidos para capacidade de intumescimento desses hidrogéis, onde os maiores intumescimentos foram obtidos nas amostras preparadas em pH ácido. As propriedades mecânicas dos hidrogéis podem estar relacionadas com sua capacidade de intumescimento. Em geral, quanto maior a capacidade de inchamento do hidrogel menor é sua resistência mecânica. Isso ocorre devido aos efeitos de plastificação do solvente no polímero, levando a redução na temperatura de transição vítrea da mistura e ao enfraquecimento do material (Anseth et al., 1996).

Figura 64 - Curvas de força *versus* deformação dos hidrogéis à base de gelatina HA preparados variando-se o pH, utilizando solução de gelatina em diferentes concentrações (0,25; 0,5 e 1,0 % m/v).



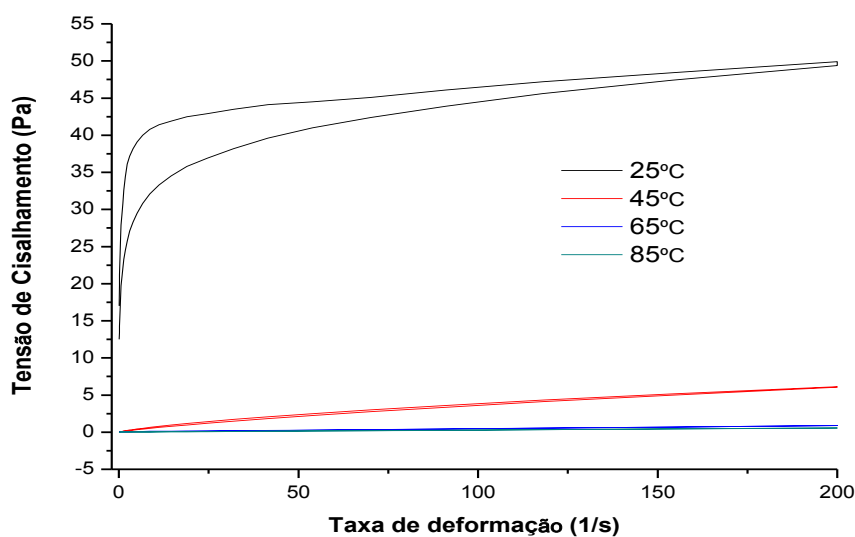
Fonte: O autor, 2017.

Quanto aos ensaios reológicos, pode-se observar na temperatura de 25°C (Figura 65) uma curva ascendente característica de um fluido não newtoniano pseudoplástico, onde a tensão de cisalhamento aumenta com a elevação da taxa de deformação. Entretanto, a curva descendente não se sobrepõe a curva ascendente, apresentando histerese. Esse comportamento é típico de um fluido dependente do tempo denominado fluido tixotrópico. A 45°C também se observa um aumento na tensão de cisalhamento com o aumento da taxa de deformação, porém

não se observa histerese. Já nas temperaturas de 65 e 85°C, a tensão de cisalhamento é muito pequena e praticamente constante independente do aumento na taxa de deformação, o que pode estar relacionado à baixa viscosidade das amostras.

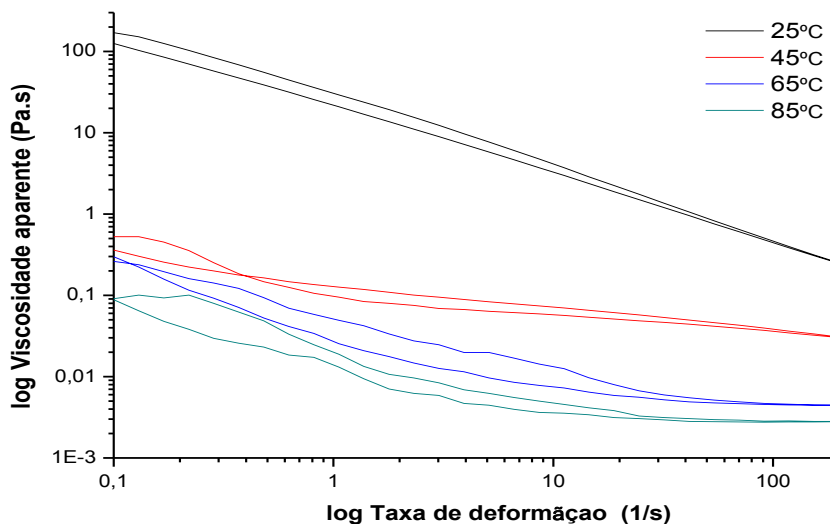
Na Figura 66, observa-se histerese em todas as temperaturas estudadas, o que caracteriza a tixotropia e a redução da viscosidade com o aumento da taxa de deformação, típica de fluidos pseudoplásticos.

Figura 65 - Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelatina em pH 3 em diferentes temperaturas.



Fonte: O autor, 2017.

Figura 66 - Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelatina em pH 3 em diferentes temperaturas.

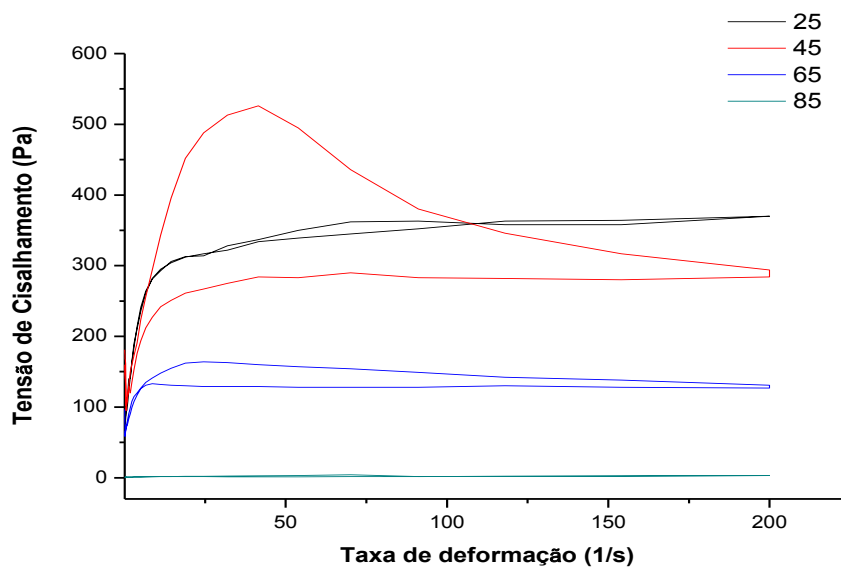


Fonte: O autor, 2017.

Em pH 5, pode-se observar (Figura 67) aumento na tensão de cisalhamento com a elevação da taxa de deformação em todas as temperaturas estudadas, típico de fluidos pseudoplásticos. A 85°C pode-se observar que a tensão de cisalhamento é a mesma independente do aumento da taxa de deformação. Observa-se, também, que as curvas nas temperaturas de 25, 45 e 65°C não se sobrepõem, caracterizando a dependência do tempo de aplicação da tensão e formando histerese, típico de fluidos tixotrópicos.

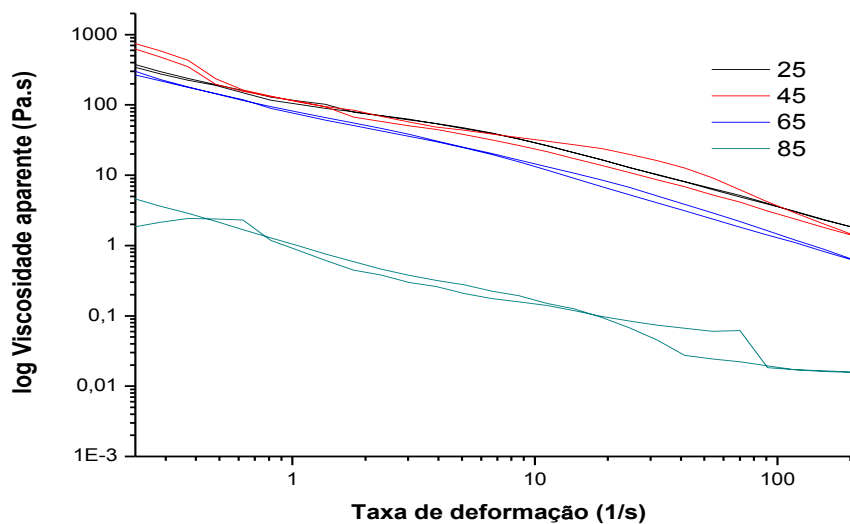
Na Figura 68, pode-se constatar que a viscosidade diminui com o aumento da taxa de deformação, típico de fluidos pseudoplásticos.

Figura 67 - Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 5 em diferentes temperaturas.



Fonte: O autor, 2017.

Figura 68 - Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 5 em diferentes temperaturas.

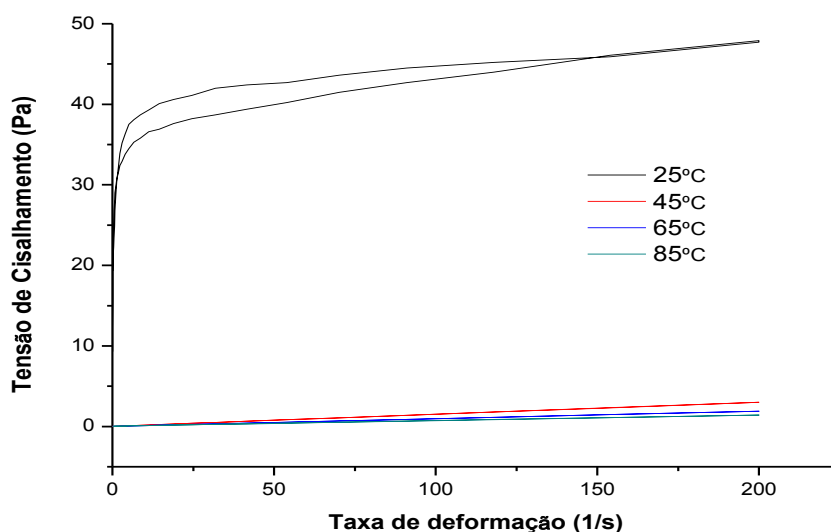


Fonte: O autor, 2017.

Em pH 8, pode-se observar (Figura 69) histerese apenas em 25°C. Nas demais temperaturas estudadas a tensão cisalhante foi muito pequena mesmo com o aumento da taxa de deformação, mantendo-se praticamente constante.

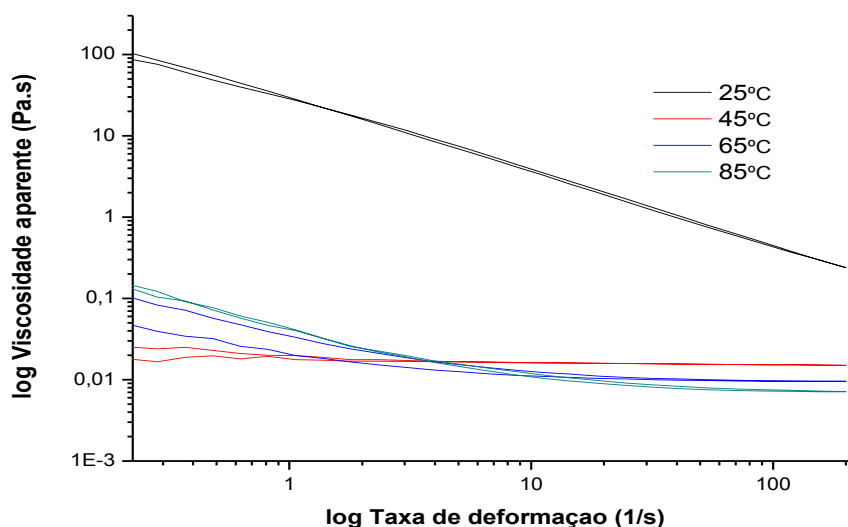
Na Figura 70, pode-se constatar que a 25°C, a viscosidade diminuiu com o aumento da taxa de deformação, comportamento este, típico de fluidos pseudoplásticos. Nas demais temperaturas também se pode observar uma pequena redução na viscosidade, porém muito menor do que a 25°C.

Figura 69 - Curvas de tensão em função da taxa de deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 5 em diferentes temperaturas.



Fonte: O autor, 2017.

Figura 70 - Curvas de viscosidade em função da deformação dos hidrogéis preparados com 1,0% (m/v) de gelana em pH 5 em diferentes temperaturas.



Fonte: O autor, 2017.

Após a realização das caracterizações dessa metodologia, seguem abaixo (Tabela 9), os resultados obtidos para grau de intumescimento Q (%), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão ($\sigma_{\text{máx}}$) dos hidrogéis.

Tabela 9 - Valores de grau de intumescimento (Q), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão ($\sigma_{\text{máx}}$) para os hidrogéis obtidos no estudo da variação do pH.

Hidrogéis	Q (%)	T_{onset} (°C)	F (N)	$\sigma_{\text{máx}}$ (kPa)
LT025pH4	17400 ± 1010	250	0,27 ± 0,07	0,85 ± 0,22
LT05pH4	10317 ± 357	248	1,39 ± 0,23	4,41 ± 0,94
LT05pH8	4323 ± 298	245	2,02 ± 0,50	6,44 ± 1,22
LT1pH4	32281 ± 1890	249	0,27 ± 0,13	0,85 ± 0,41
LT1pH8	6132 ± 618	240	2,46 ± 0,38	7,84 ± 1,84

Fonte: O autor, 2017.

Dos resultados relatados na Tabela 9, pode-se observar na amostra LT1pH4, o maior valor de intumescimento encontrado nesse trabalho até o momento porém sua tensão máxima a compressão é muito pequena, o que nos faz concluir que esse gel, quanto a resistência mecânica é um gel fraco. O mesmo acontece também na amostra LT025pH4. A amostra LT1pH8 apresenta a maior tensão máxima a compressão e também uma alta capacidade de intumescimento, sendo uma amostra indicada para testes posteriores.

4.4.3. Método HA III - Estudo do acerto do pH antes da adição do reticulante divalente (CaCl₂)

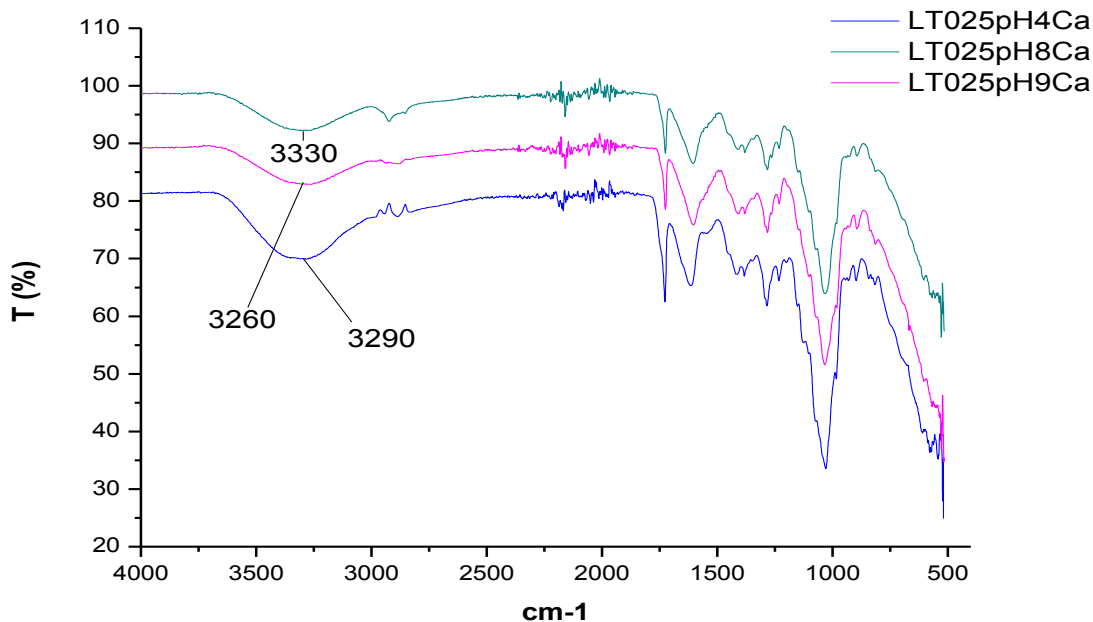
O objetivo nesta etapa do estudo, e no estudo subsequente, foi avaliar a influência do acerto do pH e da adição do agente reticulante divalente (CaCl₂) na formação do hidrogel. Nesta etapa, o ajuste do pH foi realizado antes da adição do agente reticulante.

O espectro de FTIR da amostra de hidrogel preparada com a solução de gelana a 0,25 % (m/v) (Figura 71) mostra que a intensidade da banda característica de estiramento axial de grupos O-H da unidade glucopiranosose em pH 4 é maior do que nas demais amostras (pH

básico), indicando, que provavelmente, existe uma diferença no grau de ligações de hidrogênio entre as cadeias poliméricas de cada amostra. Com o aumento do pH (meio básico) ocorre um aumento no caráter iônico da gelana, diminuindo assim a associação de hélices. Tal fato tende a provocar a formação de uma rede menos reticulada. Neste caso, o grau de ligações de hidrogênio entre as hélices duplas será menor. Provavelmente, este deve ser o motivo pelo qual, as amostras preparadas com solução de gelana a 0,25 % m/v e em pH básico, apresentaram bandas de absorção com menores intensidades. Observa-se também, uma tendência ao deslocamento dessa banda de estiramento axial de grupos O-H em relação à banda obtida na gelana HA pura em função da alteração de pH e a consequente formação de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares.

A banda de estiramento O-H da amostra preparada em pH 4, com a adição do CaCl_2 após o acerto do pH, foi deslocada para 3290 cm^{-1} , em relação à HA pura (3299 cm^{-1}). Já as amostras preparadas em pH básico (8 e 9) tiveram suas bandas deslocadas para 3330 cm^{-1} e 3260 cm^{-1} , respectivamente. Como essa região é sensível à formação de ligações de hidrogênio, os deslocamentos observados podem estar associados a diferentes graus de formação das ligações de hidrogênio intra e intermoleculares (SILVERSTEIN et al., 2009. TAKO et al., 2009; TAKO et al., 2016).

Figura 71 - Espectros de FTIR dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH antes da adição do reticulante CaCl_2 , utilizando solução de gelana a 0,25% (m/v)



Fonte: O autor, 2017.

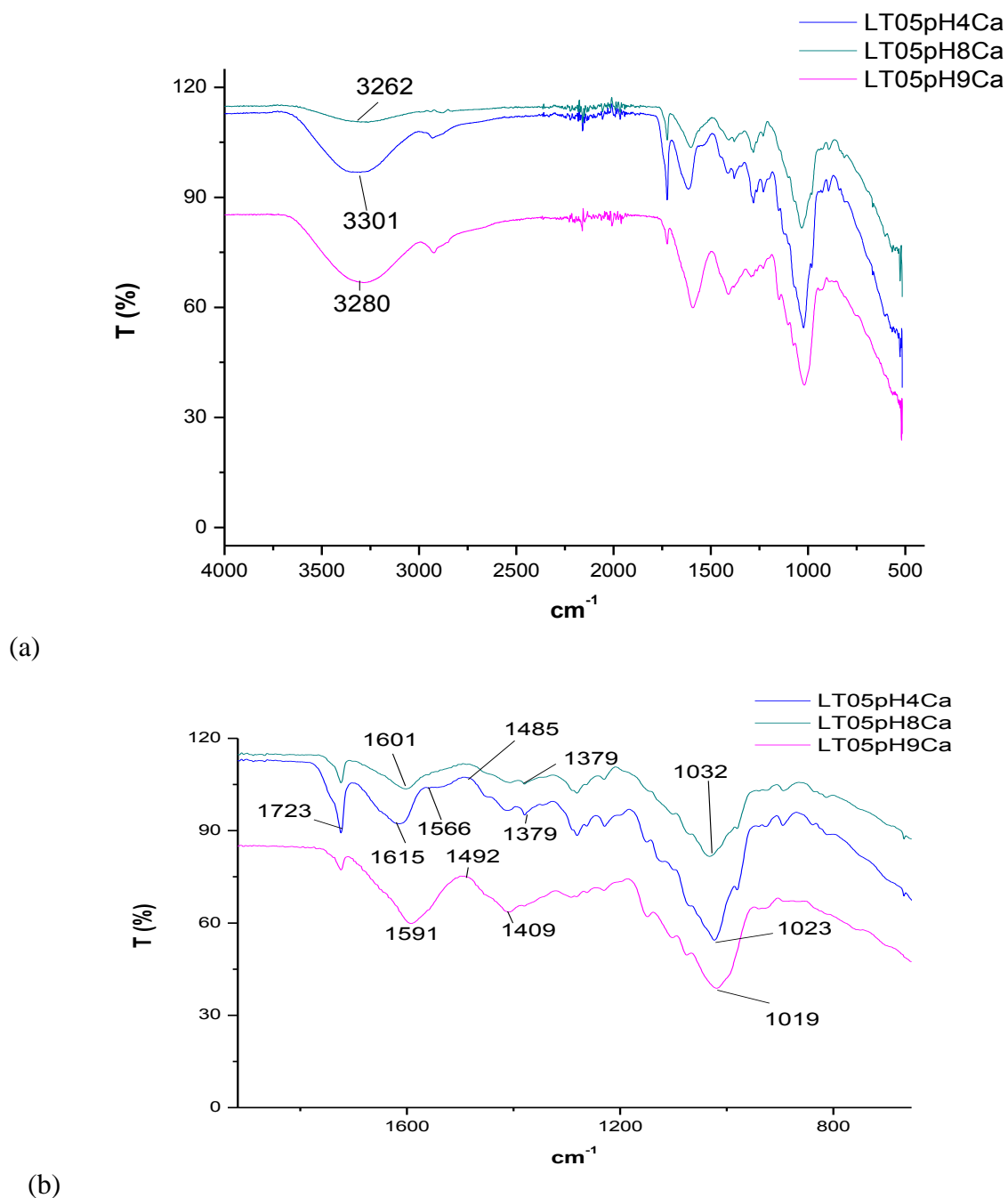
Com o aumento da concentração de gelana para 0,5% (Figura 72) podem ser observados vários deslocamentos nas principais bandas dos espectros dos hidrogéis em comparação às bandas de absorção da HA pura como observado na concentração de 0,25% (m/v).

Na banda de estiramento axial de grupos O-H, a amostra preparada em pH 4 não apresentou deslocamento em relação à banda obtida na HA pura (3299 cm^{-1}). Sua absorção foi em 3301 cm^{-1} . Já as amostras em pH 8 e 9 foram deslocadas para 3262 cm^{-1} e 3280 cm^{-1} , comprimentos de onda inferiores a gelana HA pura.

Podem ser observados, também, deslocamentos nas regiões de 1610 cm^{-1} , 1410 cm^{-1} , 1280 cm^{-1} e 1023 cm^{-1} referentes ao estiramento assimétrico de COO^- , estiramento simétrico de COO^- , estiramento C-O-C e estiramento vibracional C-O de hidroxila, respectivamente.

Observam-se, também, diferentes intensidades nas regiões de 1610 cm^{-1} e 1410 cm^{-1} relacionadas ao aumento da ionização dos grupos COOH , relacionados à variação do pH dos hidrogéis (ULLAH et al., 2015).

Figura 72 - Espectros de FTIR dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH antes da adição do reticulante CaCl_2 : (a) espectro de 400 a 4000 cm^{-1} ; (b) detalhe dos espectros na região entre 700 e 1800 cm^{-1} (Dado: solução de gelana = $0,5\text{ \% m/v}$).

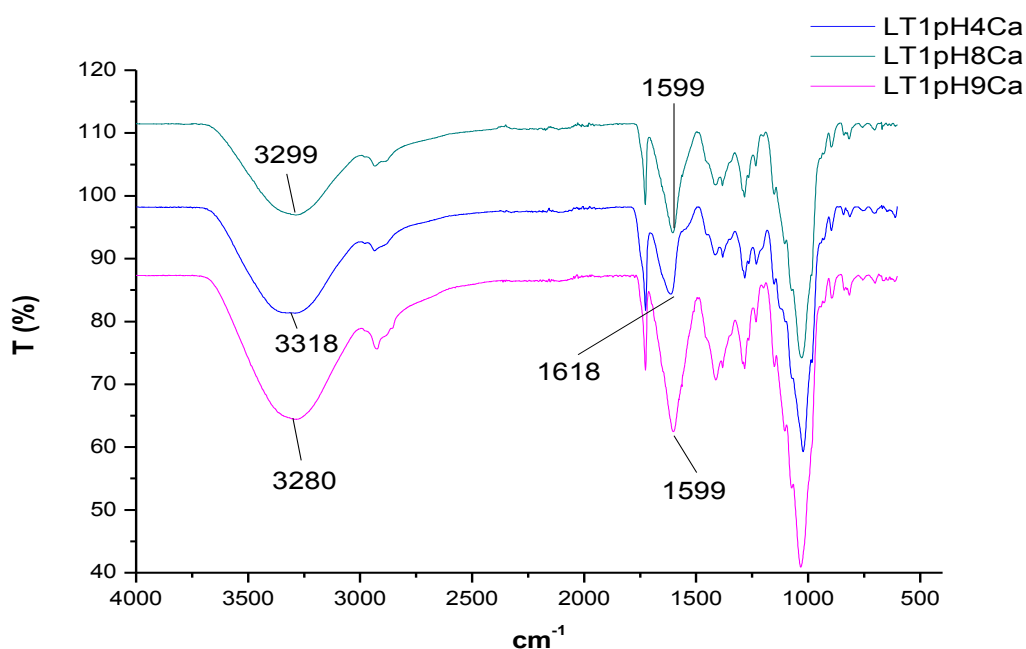


Fonte: O autor, 2017.

Na concentração de $1,0\%$ de gelana (Figura 73) podem ser observados novamente vários deslocamentos nas principais bandas dos espectros dos hidrogéis em comparação às bandas de absorção da HA pura. Na banda de estiramento axial de grupos O-H, as amostras preparadas em pH 4 e pH 9 apresentaram deslocamento em relação à banda obtida na HA

pura (3299 cm^{-1}). Suas absorções foram em 3318 cm^{-1} e 3280 cm^{-1} , respectivamente. Já a amostra em pH 8 não apresentou deslocamento nessa banda de absorção, mantendo sua banda de absorção idêntica à banda observada na HA (3299 cm^{-1}). Além disso, podem ser observados, também, deslocamentos na região de 1610 cm^{-1} referentes ao estiramento assimétrico de COO^- que podem estar relacionados ao aumento de interação com os íons Ca^{+2} provenientes da adição do reticulante CaCl_2 . As amostras em pH alcalino e com maior ionização dos grupos COOH foram deslocadas para menores números de onda (1599 cm^{-1}) enquanto a amostra em pH ácido, com menor ionização, foi deslocada para maior número de onda (1618 cm^{-1}).

Figura 73 - Espectros de FTIR dos hidrogéis à base de gelatina HA, preparados com acerto de pH antes da adição do reticulante CaCl_2 , utilizando solução de gelatina a 1,0% (m/v)



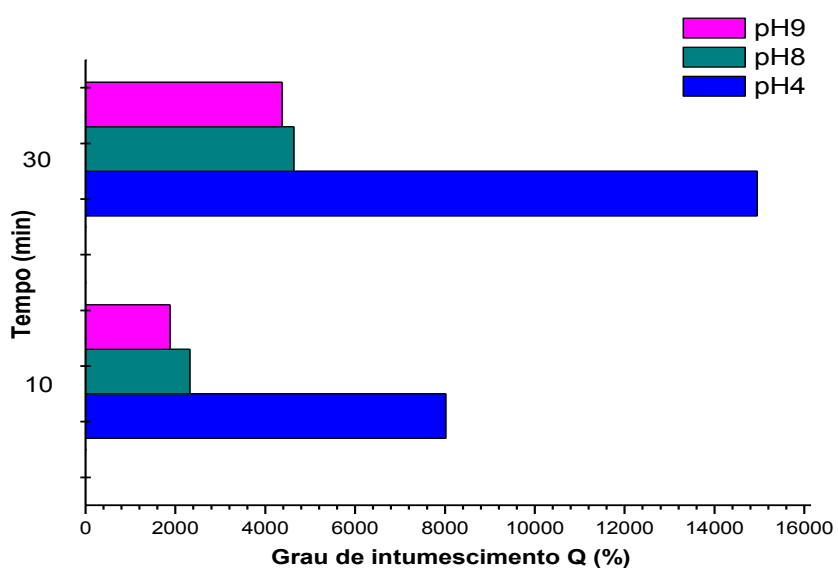
Fonte: O autor, 2017.

A Figura 74 mostra os valores de grau de intumescimento (Q) para as amostras de hidrogéis à base de gelatina HA, preparadas pelo método III.

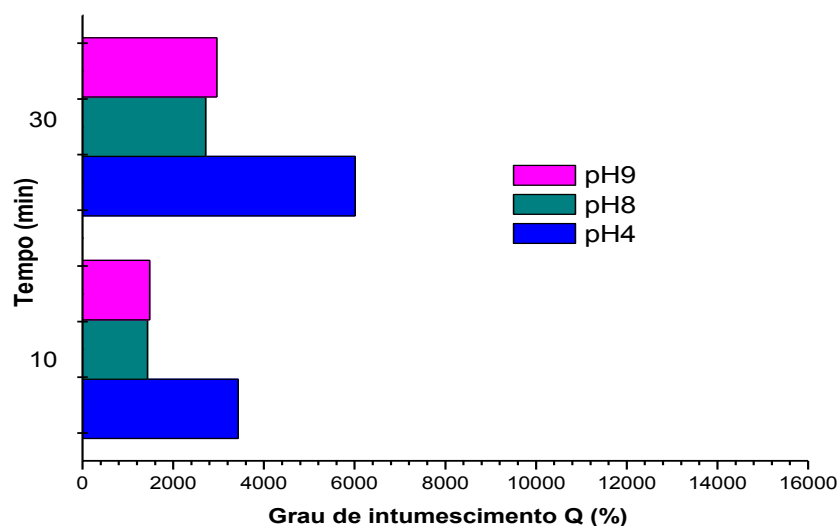
A adição do reticulante CaCl_2 não modificou a tendência do maior intumescimento ocorrer nas amostras preparadas em pH ácido, independente da concentração de gelatina. Isso pode estar relacionado à alteração conformacional que a molécula de gelatina HA sofre em pH ácido e a uma menor reticulação das cadeias de gelatina com os íons Ca^{2+} provenientes do

reticulante (reticulação ionotrópica), o que pode ter originado hidrogéis com grau de inchamento menor.

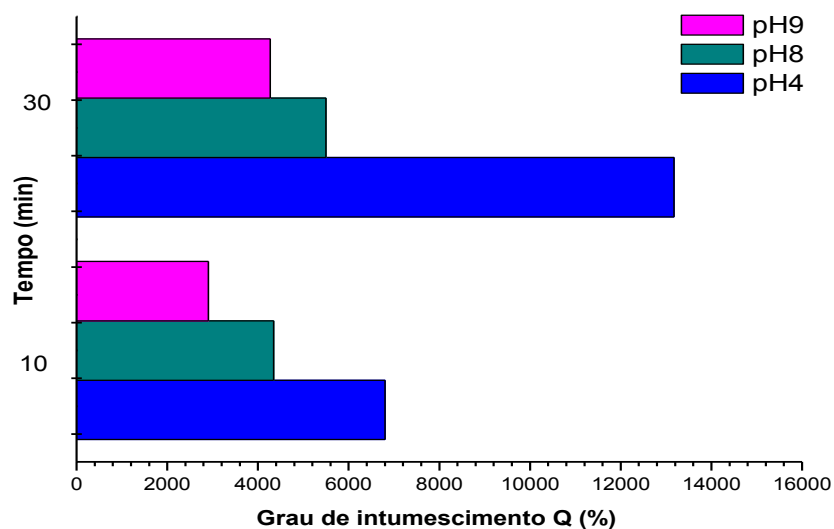
Figura 74 – Grau de intumescimento (Q) do hidrogel à base de gelana HA, preparados com acerto de pH antes da adição do reticulante CaCl_2 , utilizando solução de gelana nas concentrações (m/v): 0,25% (a), 0,5% (b) e 1,0% (c).



(a)



(b)

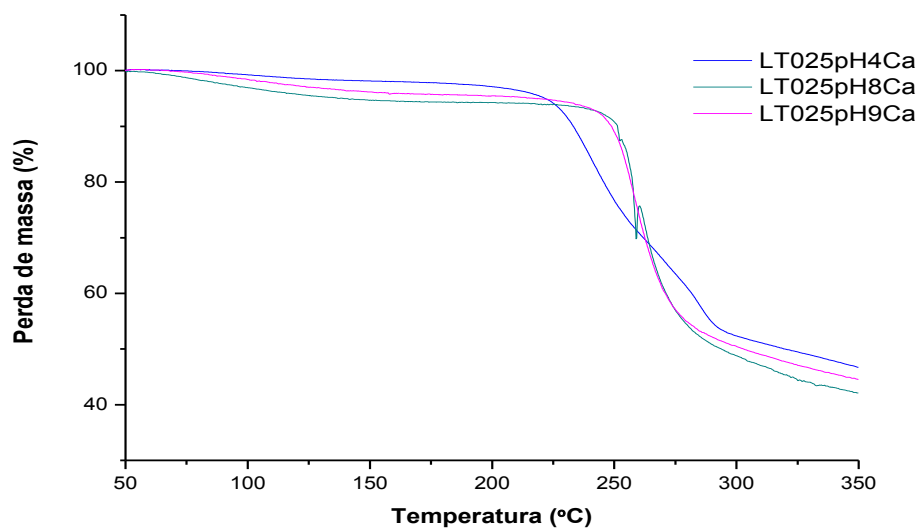


(c)

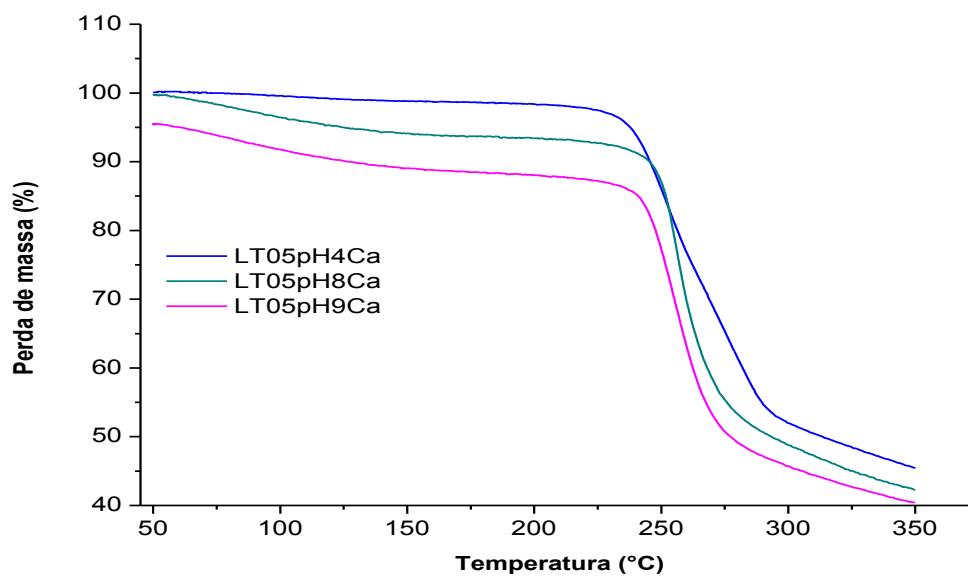
Fonte: O autor, 2017.

Quanto à resistência térmica, observa-se na Figura 75, que para todas as concentrações de estudo (0,25%, 0,5% e 1,0%), a menor resistência térmica foi obtida para os hidrogéis obtidos em pH 4 (T_{onset} iguais a 226°C, 238°C e 241°C, respectivamente). Este resultado corrobora com aqueles obtidos em relação ao grau de intumescimento, nos quais as amostras obtidas em pH 4 foram as que apresentaram maior valor de Q. As cadeias de gelatina estão menos ionizadas em pH 4 e, com isso, menos reticuladas ionotropicamente. Dessa forma, apresentam menor resistência térmica e maior capacidade de intumescimento, em relação às amostras preparadas em pH básico.

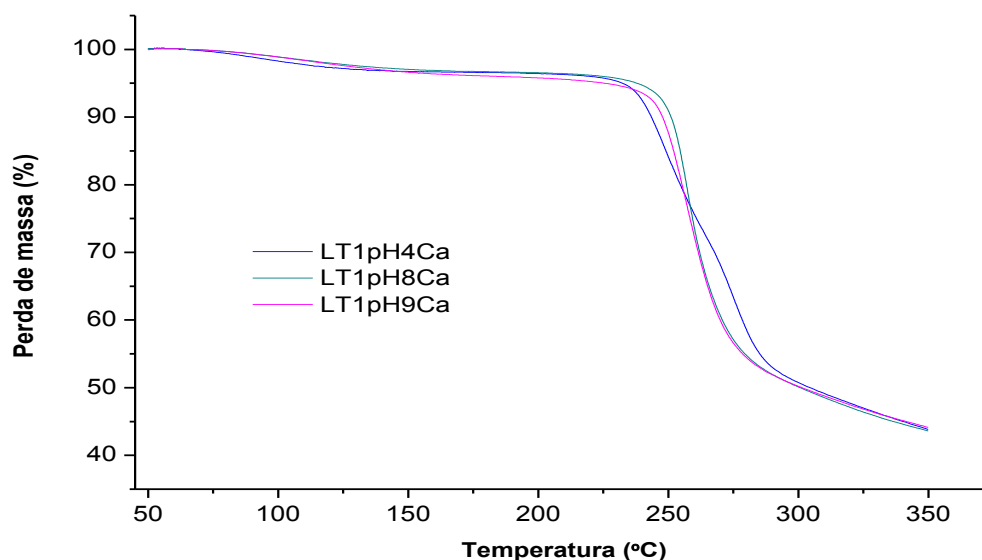
Figura 75 – Curvas de TG dos hidrogéis à base de gelatina HA, preparados com acerto de pH antes da adição do reticulante CaCl_2 , utilizando solução de gelatina nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b) e 1,0 (c).



(a)



(b)



(c)

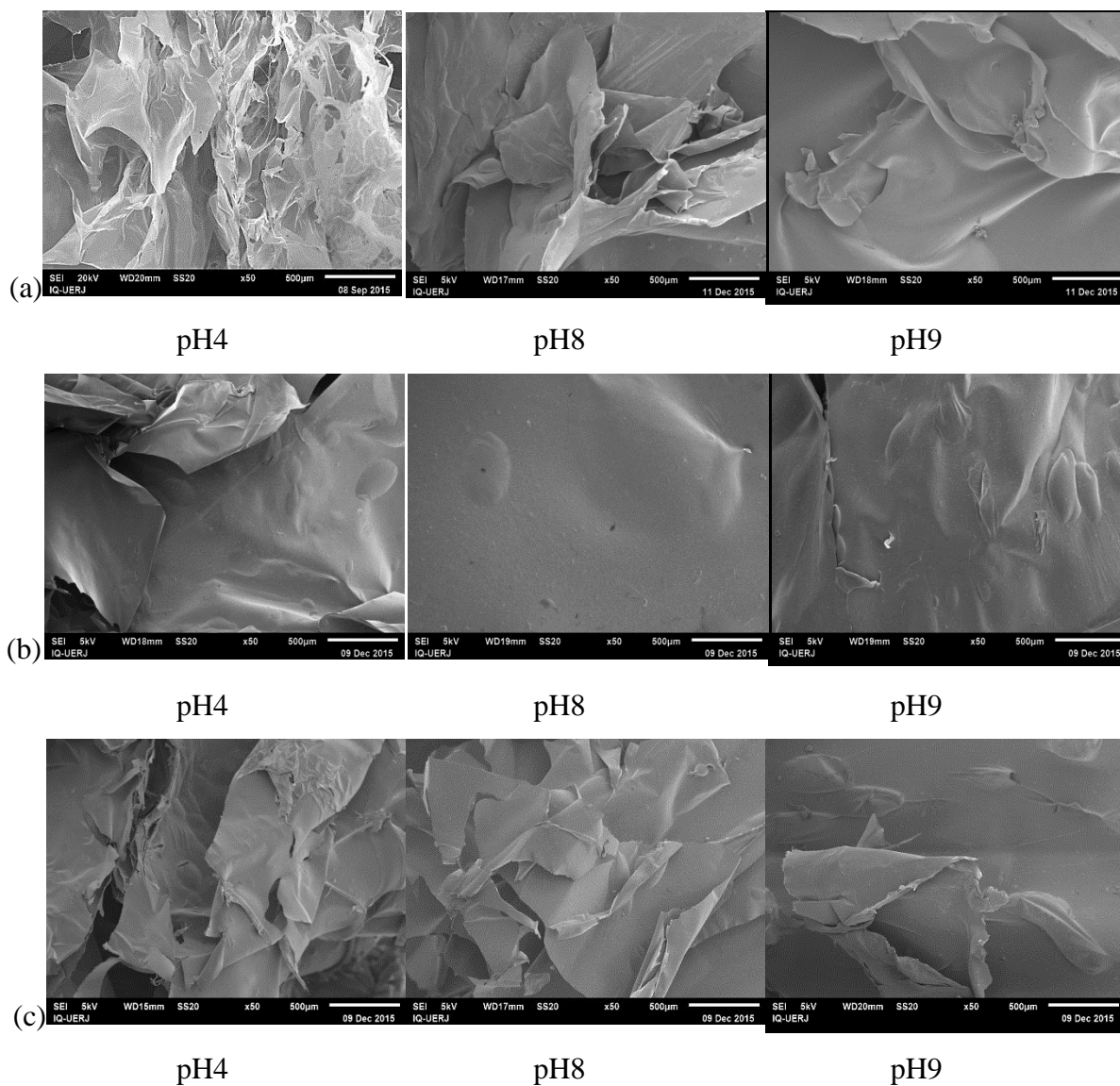
Fonte: O autor, 2017.

Ao analisar a morfologia dos hidrogéis, pode-se observar na Figura 76(a) que o hidrogel obtido em pH 4 com a concentração de gelana HA de 0,25% apresentou uma estrutura mais porosa, se comparada com os hidrogéis obtidos em pH 8 e 9 para a mesma concentração de HA, o que também contribui para o seu intumescimento ter sido maior em relação aos outros hidrogéis.

Na Figura 76(b), observa-se que a amostra preparada em pH 4 apresenta algumas irregularidades em sua morfologia, que podem justificar a maior retenção de água. As demais amostras, obtidas na mesma concentração de gelana HA, mostraram-se mais compactas e com superfície contínua, o que sugere menor absorção de água.

Para a concentração de 1,0% de gelana HA, podem-se observar na Figura 76(c), estruturas foliáceas com a presença de poros que vão diminuindo com o aumento do pH, o que corrobora com os resultados de intumescimento das amostras, onde os maiores valores foram obtidos em pH 4, com decréscimo nos valores de inchamento com o aumento do pH.

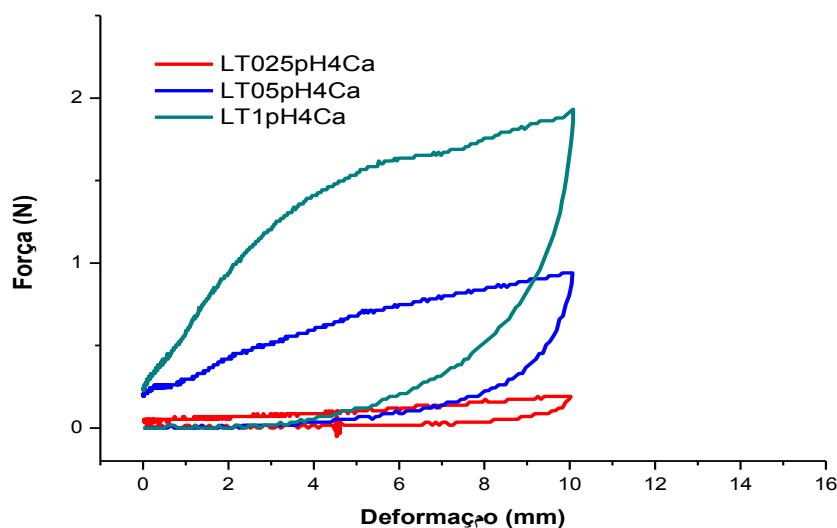
Figura 76 – Micrografias de SEM dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH antes da adição do reticulante CaCl_2 , utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b); 1,0 (c).



Fonte: O autor, 2017.

Na avaliação da resistência à compressão (Figura 77), pode-se observar que não foi possível a determinação da resistência à compressão dos hidrogéis em pH alcalino, já que as amostras eram muito quebradiças e não suportavam a força aplicada para a deformação. Dos resultados apresentados, a amostra preparada com 1,0% de gelana, em pH 4, apresentou maior resistência à compressão, que pode estar associada ao aumento da concentração de gelana, que proporciona um aumento na probabilidade de interações intermoleculares, em virtude da presença de um maior número de cadeias poliméricas presentes no meio.

Figura 77 - Curvas de força *versus* deformação dos hidrogéis à base de gelatina HA, preparados com acerto de pH antes da adição do reticulante CaCl_2 , utilizando solução de gelatina nas concentrações (% m/v): 0,25; 0,5 e 1,0.



Após a realização das caracterizações desse estudo, seguem abaixo (Tabela 10), os resultados obtidos para grau de intumescimento Q (%), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão ($\sigma_{\text{máx}}$) dos hidrogéis.

Tabela 10 - Valores de grau de intumescimento (Q), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão ($\sigma_{\text{máx}}$) para os hidrogéis obtidos no estudo do acerto do pH antes da adição do reticulante divalente CaCl_2 .

Hidrogéis	Q (%)	T_{onset} (°C)	F (N)	$\sigma_{\text{máx}}$ (kPa)
LT025pH4Ca	14954 ± 420	226	$0,22 \pm 0,08$	$0,69 \pm 0,10$
LT025pH8Ca	4635 ± 1312	250	--	--
LT025pH9Ca	4372 ± 1278	249	--	--
LT05pH4Ca	6013 ± 1706	238	$0,94 \pm 0,12$	$3,00 \pm 0,88$
LT05pH8Ca	2713 ± 769	248	--	--
LT05pH9Ca	2963 ± 658	244	--	--
LT1pH4Ca	13174 ± 680	241	$1,93 \pm 0,33$	$6,13 \pm 2,07$
LT1pH8Ca	5500 ± 356	250	--	--
LT1pH9Ca	4274 ± 1456	244	--	--

Fonte: O autor, 2017.

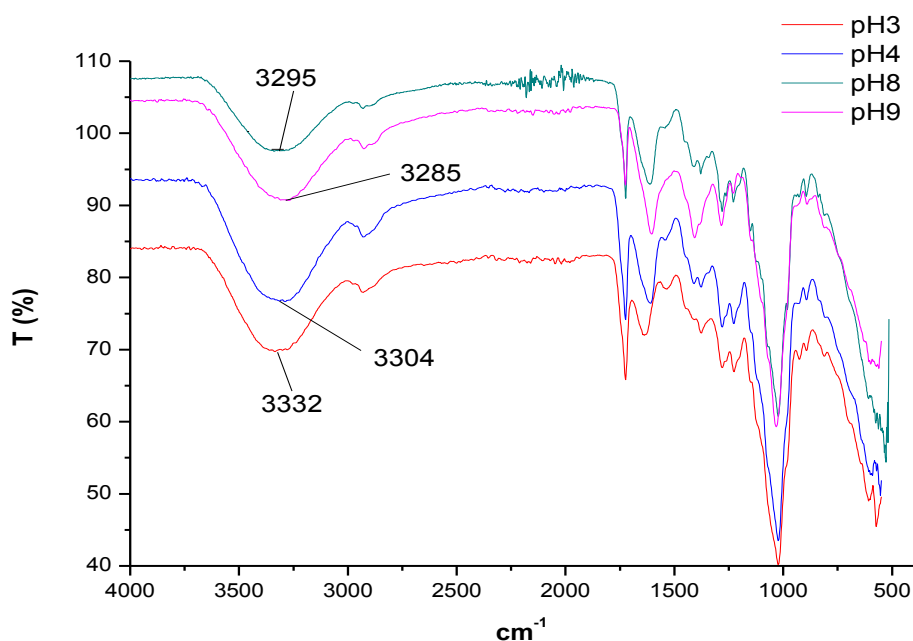
Ao analisar a Tabela 10, pode-se observar na amostra LT1pH4Ca uma redução no valor da capacidade de intumescimento com a adição do reticulante Ca^{+2} em relação a metodologia anterior que só ajustou o pH em 4, o que está de acordo já que ocorre o aumento da reticulação das cadeia de gelana através da ionização inonotrópica com o íon divalente Ca^{+2} . A reticulação ionotrópica também proporcionou um aumento significativo na tensão máxima de compressão que passou de 0,85 kPa para 6,13 kPa. Como pode ser observado, não foi possível a realização dos testes de compressão nas amostras obtidas em pH alcalino pois as mesmas não suportavam a força de deformação exercida.

4.4.4. Método HA IV -Estudo do acerto do pH após a adição do reticulante divalente (CaCl_2)

Como citado no estudo anterior, o objetivo desta etapa foi avaliar a influência do acerto do pH e da adição do agente reticulante divalente na formação do hidrogel. Nesta etapa, o pH será ajustado após a adição do agente reticulante.

O espectro de FTIR da amostra de hidrogel preparado com a solução de gelana a 0,25 % (m/v) (Figura 78) mostra um deslocamento da banda característica de estiramento axial de grupos O-H da unidade glucopirranose para comprimentos de onda inferiores ao obtido para a gelana HA pura (3299 cm^{-1}) nas amostras preparadas em pH 8 e 9 (3295 cm^{-1} e 3285 cm^{-1}), e para comprimentos de onda superiores na amostra preparada em pH 4 (3304 cm^{-1}). Isso indica que, possivelmente existe uma diferença no grau de ligações de hidrogênio entre as cadeias poliméricas de cada amostra que podem estar relacionadas à adição de CaCl_2 antes do acerto do pH que promove a reticulação ionotrópica e ao aumento do pH (meio básico) que aumenta o caráter iônico da gelana, diminuindo assim a associação de hélices. Tal fato tende a provocar a formação de uma rede menos reticulada. Neste caso, o grau de ligações de hidrogênio entre as hélices duplas será menor (SARTORI et al., 1997; SILVERSTEIN et al., 2009; TAKO et al., 2009; TAKO et al., 2016).

Figura 78 - Espectros de FTIR dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH após a adição do reticulante CaCl_2 , utilizando solução de gelana a 0,25 % (m/v)

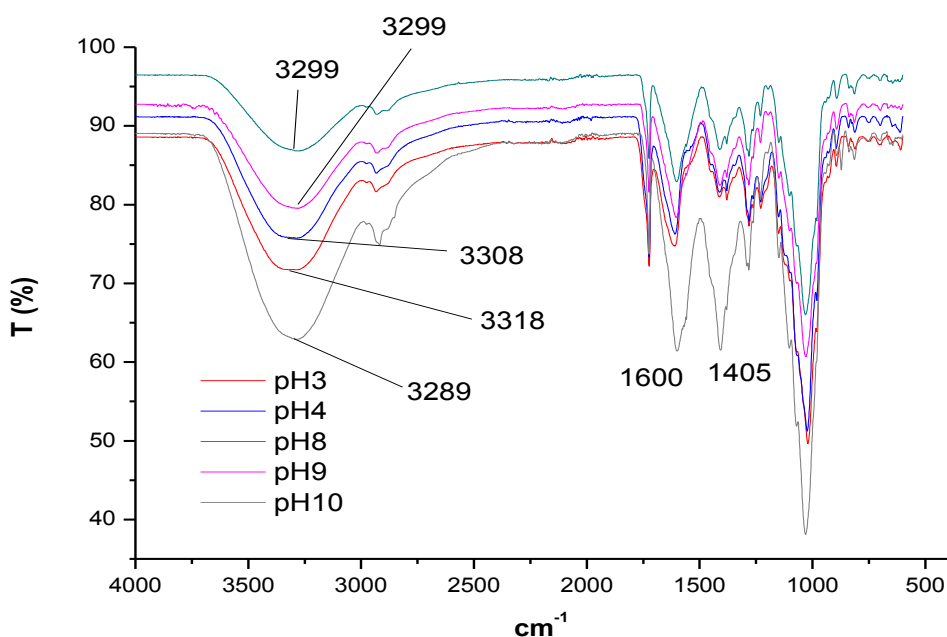


Fonte: O autor, 2017.

Com o aumento da concentração de gelana para 0,5% (Figura 79) pode-se observar a mesma tendência em relação ao deslocamento da banda de estiramento axial de grupos O-H do hidrogel, em relação à banda de absorção da HA pura. As amostras preparadas em pH 4 (ácido) apresentaram deslocamento para comprimentos de onda superiores em relação à banda obtida na HA pura (3299 cm^{-1}). Sua absorção foi em 3308 cm^{-1} . Já as amostras em pH 8, 9 não apresentaram deslocamento em relação a gelana HA pura enquanto que a amostra em pH 10 foi deslocada para um menor comprimento de onda (3299 cm^{-1}). Como relatado para a concentração de 0, 25% de gelana (m/v), à adição de CaCl_2 antes do acerto do pH promoveu a a reticulação ionotrópica e o posterior aumento do pH (meio básico) aumentaram a ionização dos grupos COOH, aumentando o caráter iônico da gelana e, diminuindo assim, a associação de hélices. Esses efeitos sinérgicos entre a reticulação ionotrópica e a reticulação por variação do pH podem ter reduzido o grau de ligações de hidrogênio entre as hélices duplas (SARTORI et al., 1997; SILVERSTEIN et al., 2009; TAKO et al., 2009; ULLAH et al., 2015; TAKO et al., 2016). Para a amostra em pH 10 pode se observar maiores absorções em todo o espectro que pode ter ocorrido é que a quantidade de grupos OH presentes nas cadeias de gelana e os ânions COO^- gerados pela ionização decorrentes do aumento do pH foram superiores a quantidade de reticulante divalente (Ca^{+2}) adicionado a mistura, resultando em

bandas de absorção intensas nas regiões de 3300 cm^{-1} e 1023 cm^{-1} relacionadas a estiramento axial OH e CO e nas regiões de 1600 cm^{-1} e 1400 cm^{-1} referentes a estiramento assimétrico COO^- e estiramento simétrico COO^- , respectivamente.

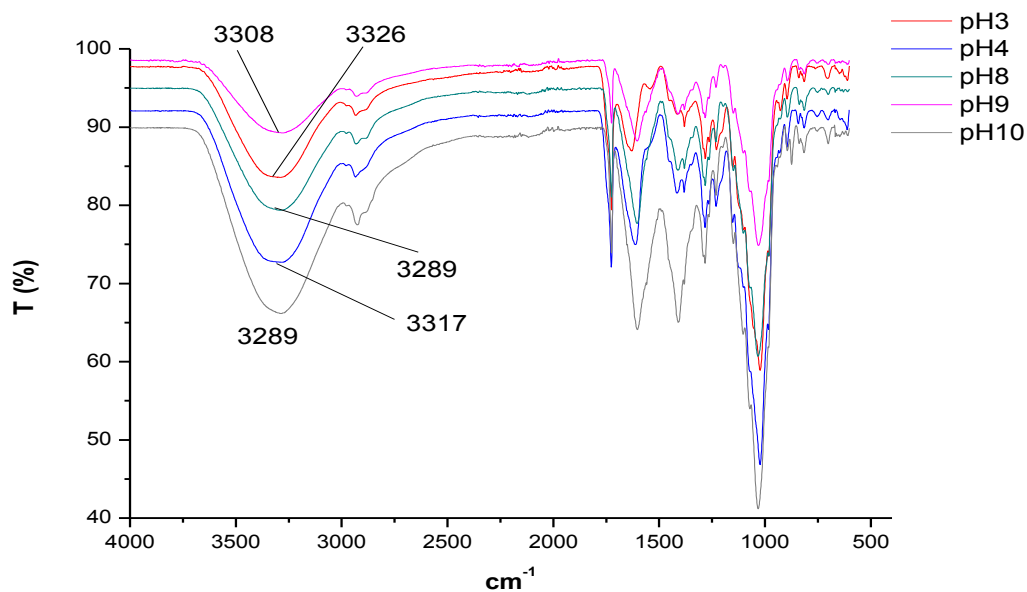
Figura 79 - Espectros de FTIR dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH após a adição do reticulante CaCl_2 , utilizando solução de gelana a 0,5 % (m/v)



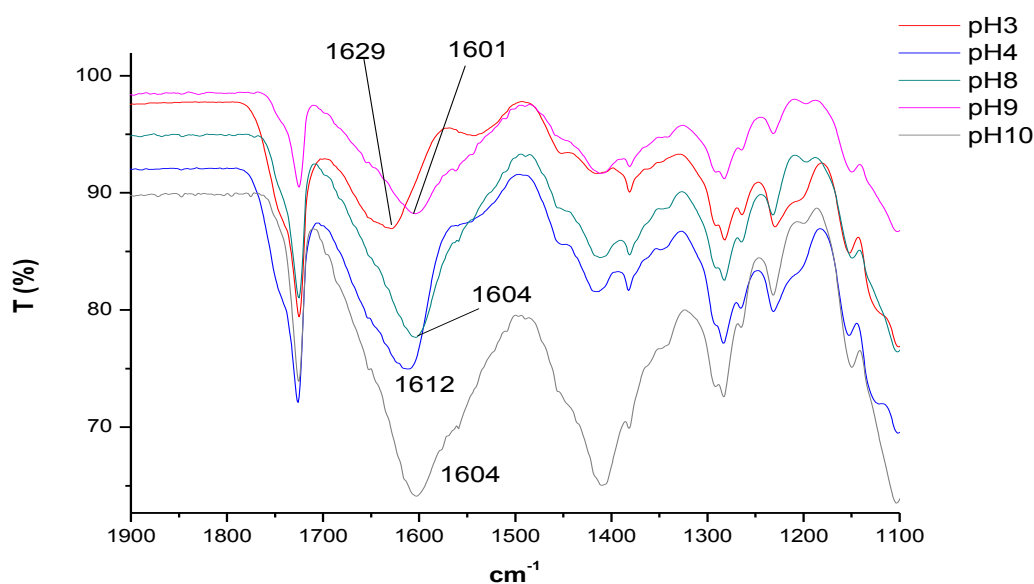
Fonte: O autor, 2017.

Na concentração de 1,0% de gelana (Figura 80) pode-se observar novamente a mesma tendência de deslocamentos e intensidade de bandas características conforme apontado anteriormente para a concentração de 0,5% (m/v).

Figura 80 - Espectros de FTIR dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH após a adição do reticulante CaCl_2 : (a) espectro de 400 a 4000 cm^{-1} ; (b) detalhe dos espectros na região entre 1100 e 1900 cm^{-1} (Dado: solução de gelana = 1,0 % m/v)



(a)



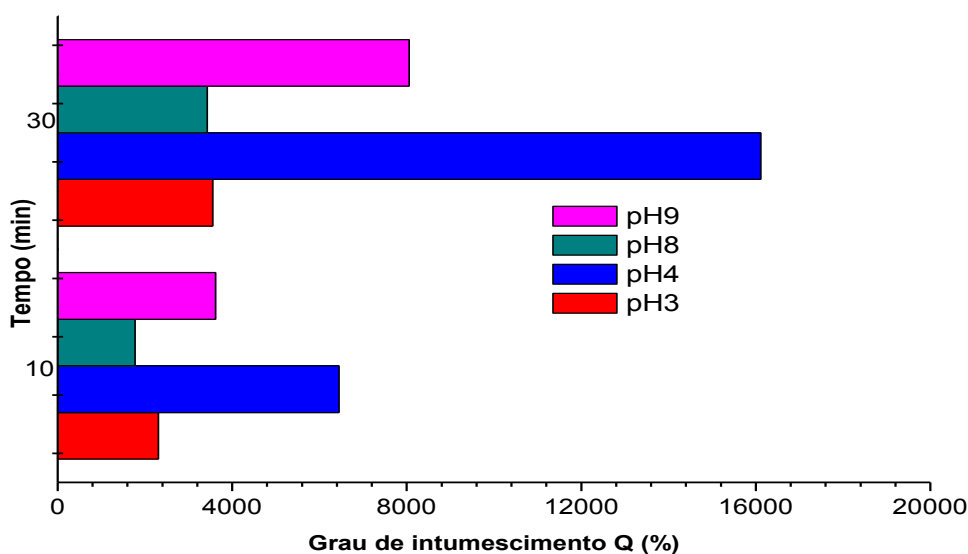
(b)

Fonte: O autor, 2017.

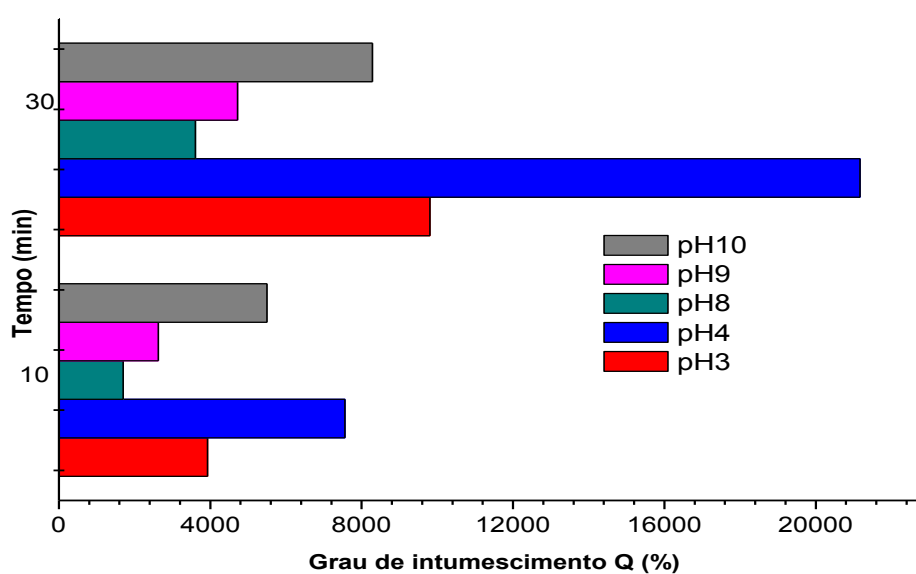
Quanto ao intumescimento, observa-se na Figura 81, que os menores intumescimentos, independente da concentração do polissacarídeo, foram obtidos em pH básico. Isso pode estar relacionado ao aumento no grau de reticulação das cadeias de gelana

com os íons Ca^{2+} provenientes do reticulante (reticulação ionotrópica), o que pode ter originado hidrogéis com maior grau de reticulação e, conseqüentemente grau de inchamento menor nas amostras preparadas em pH básico, uma vez que nessa faixa de pH as cadeias de gelana tornam-se ionizadas.

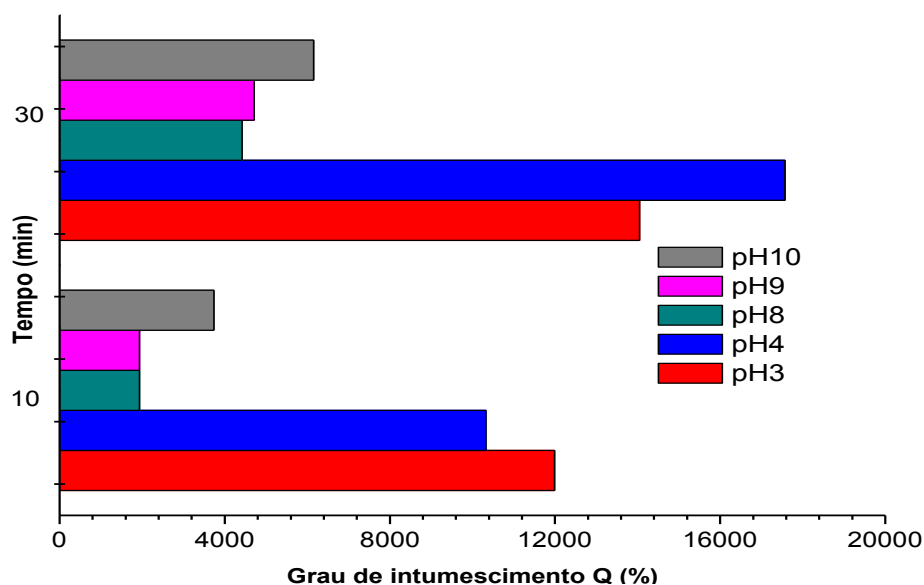
Figura 81 – Grau de intumescimento (Q) dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH após a adição do reticulante CaCl_2 , utilizando solução de gelana nas concentrações (m/v): 0,25% (a), 0,5% (b) e 1,0% (c)



(a)



(b)



(c)

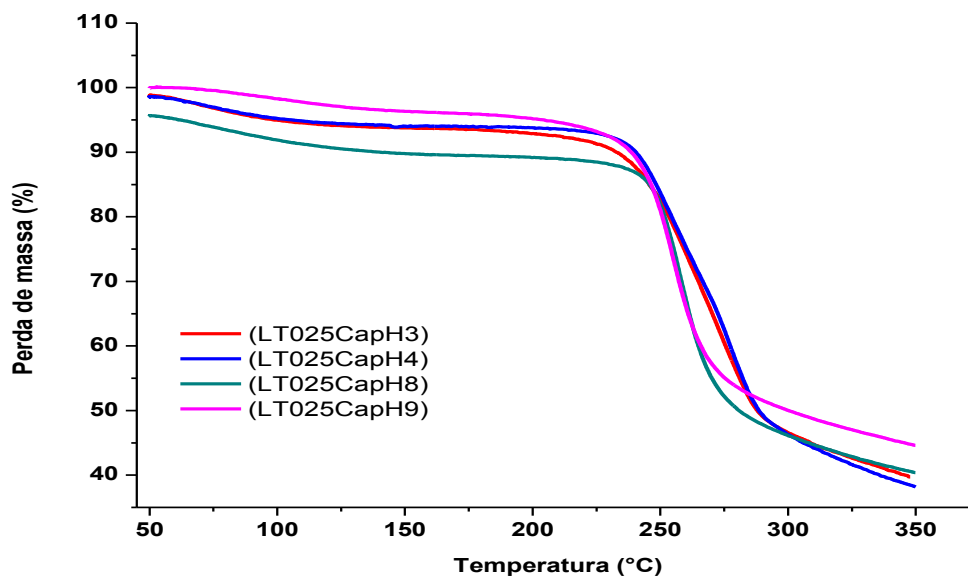
Fonte: O autor, 2017.

Quanto ao comportamento térmico, para a concentração de 0,25% pode-se observar na Figura 82(a) que a menor resistência térmica foi da amostra em pH 9 ($T_{\text{onset}} = 243^{\circ}\text{C}$), o que pode estar associado ao aumento do grau de ionização dos grupamentos COOH das cadeias de gelana com o aumento do pH, causando a repulsão eletrostática entre as cadeias, deixando-as mais afastadas e ocasionando a redução na resistência térmica do hidrogel. Já em pH 8 observa-se a maior resistência térmica entre as amostras ($T_{\text{onset}} = 247^{\circ}\text{C}$), que pode estar relacionado ao grau de ionização dos grupos COOH não ter sido suficiente para promover grande repulsão entre as cadeias de gelana, deixando as cadeias em dupla hélice mais agregadas.

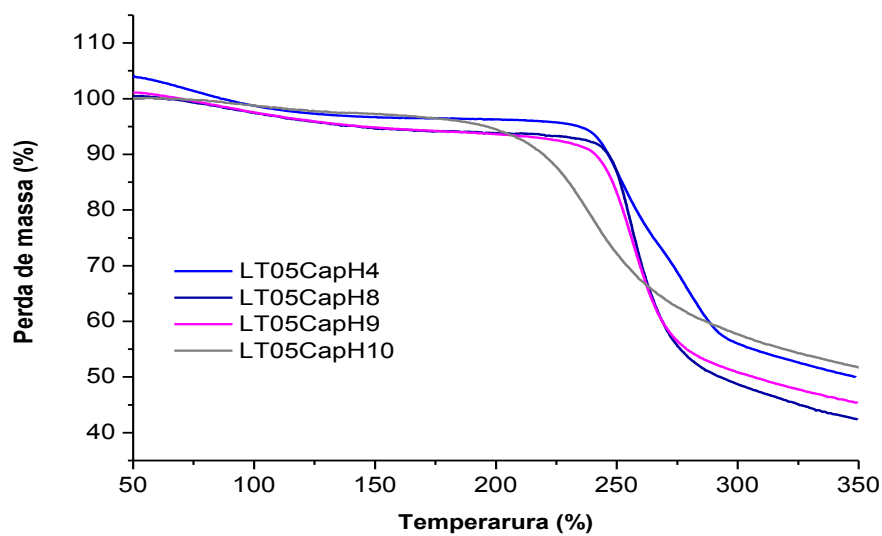
Para a concentração de 0,5%, pode-se observar na Figura 82(b) que a menor resistência térmica foi para a amostra em pH 10 (216°C), valor muito abaixo dos demais valores encontrados para essa mesma concentração, o que pode estar associado ao alto grau de ionização dos grupos COOH em pH alcalino e a possibilidade de início de colapso do hidrogel, o que reduz a resistência térmica. A maior resistência térmica foi na amostra de pH 8 ($T_{\text{onset}} = 248^{\circ}\text{C}$).

Avaliando a Figura 82(c), pode-se observar que o mesmo comportamento foi observado para a concentração de 1,0%, onde a menor resistência térmica foi na amostra de pH 10 ($T_{\text{onset}} = 221^{\circ}\text{C}$) e a maior resistência térmica em pH 8 ($T_{\text{onset}} = 248^{\circ}\text{C}$).

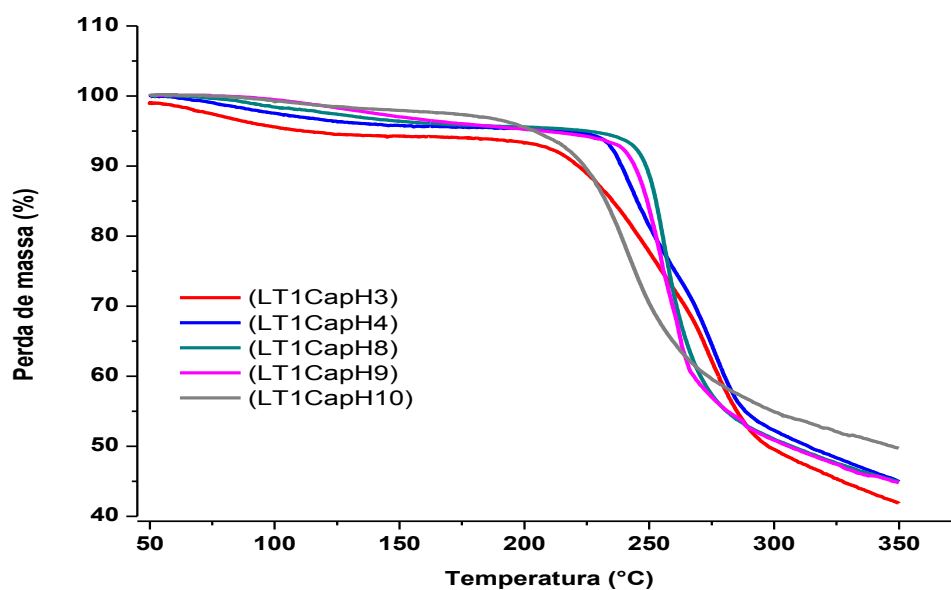
Figura 82 – Curvas de TG dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH após a adição do reticulante CaCl_2 , utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b); 1,0 (c).



(a)



(b)

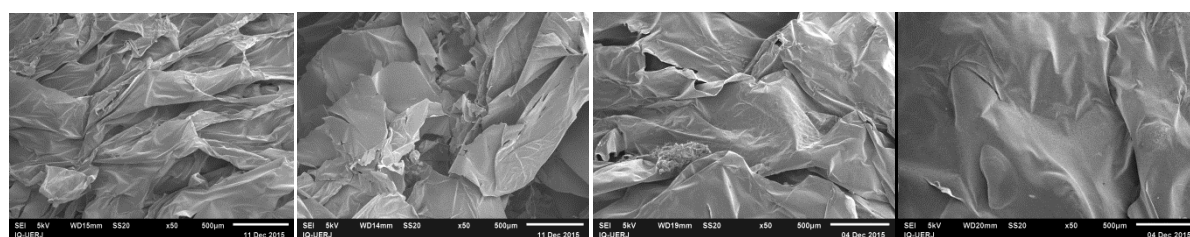


(c)

Fonte: O autor, 2017.

Quanto à morfologia dos hidrogéis, pode-se observar na Figura 83, que, para todas as concentrações de estudo, com o aumento do pH ocorreu a redução dos poros, onde a morfologia tendeu a passar de porosa para compacta.

Figura 83 – Micrografias de SEM dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH após a adição do reticulante CaCl_2 , utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b); 1,0 (c).

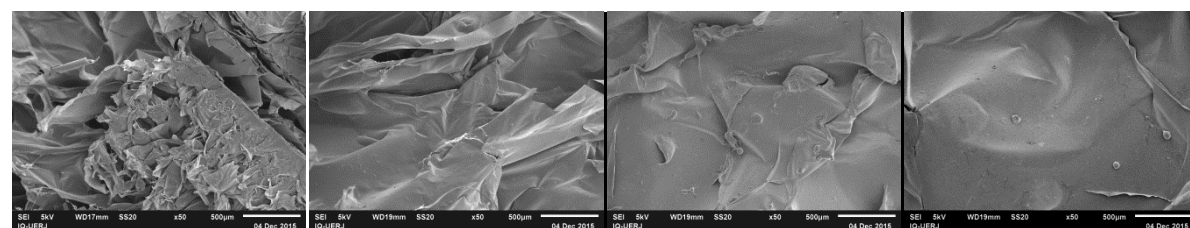


(a) pH3

pH4

pH8

pH9

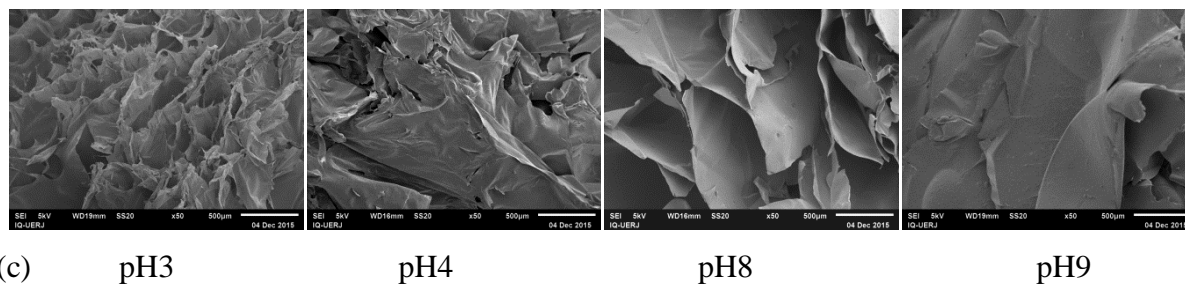


(b) pH3

pH4

pH8

pH9

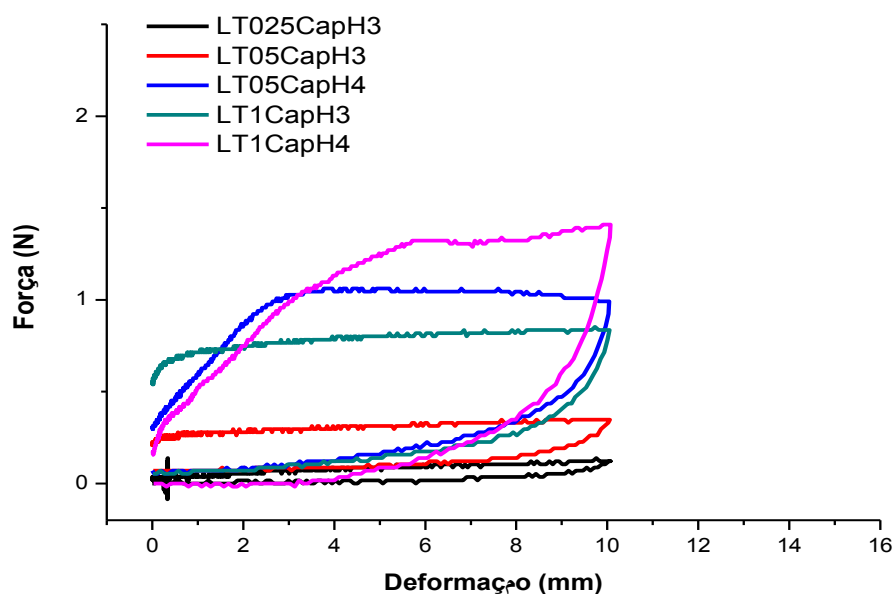


Fonte: O autor, 2017.

Na avaliação da resistência à compressão (Figura 84), pode-se observar que as amostras, de um modo geral, apresentaram baixa resistência mecânica. Além disso, não foi possível realizar o ensaio mecânico com os hidrogéis obtidos em pH alcalino, já que as amostras eram muito quebradiças e não suportavam a força aplicada para a deformação.

A presença dos volumosos substituintes acetila, no interior das duplas hélices, altera a conformação das cadeias, devido ao impedimento estérico, o que faz com que a gelana HA tenha menor proporção de cadeias associadas à rede do gel, resultando em um menor grau de reticulação e, por conseguinte, baixa resistência mecânica (HUANG et al., 2003; DE SILVA et al., 2013).

Figura 84 - Curvas força *versus* deformação dos hidrogéis à base de gelana HA, preparados com acerto de pH após a adição do reticulante CaCl_2 , utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25; 0,5; 1,0.



Após a realização das caracterizações dessa metodologia, seguem abaixo (Tabela 11), os resultados obtidos para grau de intumescimento Q (%), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão (σ_{max}) dos hidrogéis.

Tabela 11 - Valores de grau de intumescimento (Q), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão (σ_{max}) para os hidrogéis obtidos no estudo do acerto do pH após a adição do reticulante divalente CaCl_2 .

Hidrogéis	Q (%)	T_{onset} (°C)	F (N)	σ_{max} (kPa)
LT025CapH3	3555 ± 173	245	0,12 ± 0,07	0,38 ± 0,09
LT025CapH4	16109 ± 1098	246	--	--
LT025CapH8	3424 ± 166	247	--	--
LT025CapH9	8054 ± 875	243	--	--
LT05CapH3	9804 ± 1200	247	0,36 ± 0,10	1,17 ± 0,65
LT05CapH4	21168 ± 1578	242	0,97 ± 0,27	3,09 ± 0,98
LT05CapH8	3606 ± 190	248	--	--
LT05CapH9	4717 ± 218	245	--	--
LT05CapH10	8285 ± 980	216	--	--
LT1CapH3	14050 ± 1387	237	0,84 ± 0,10	2,67 ± 0,77
LT1CapH4	17573 ± 2789	244	1,42 ± 0,41	4,51 ± 0,66
LT1CapH8	4419 ± 237	248	--	--
LT1CapH9	4716 ± 349	244	--	--
LT1CapH10	6152 ± 690	221	--	--

Fonte: O autor, 2017.

Ao analisar a Tabela 11, pode-se observar na amostra LT1CapH4 um aumento no valor da capacidade de intumescimento e uma diminuição na tensão máxima de compressão em relação a metodologia anterior onde o reticulante CaCl_2 foi adicionado antes do acerto do pH. Essa amostra, juntamente com a amostra LT05CapH4 poderiam ser testadas em aplicações específicas como condicionamento de solos e liberação controlada de herbicidas por apresentarem os maiores valores de tensão máxima a compressão (3,09 kPa e 4,51 kPa,

respectivamente) e também altas capacidades de intumescimento (21168% e 17573%, respectivamente).

Como relatado na metodologia anterior, não foi possível a realização dos testes de compressão nas amostras obtidas em pH alcalino pois as mesmas não suportavam a força de deformação exercida.

4.5. Mistura das gelanas desacetilada (LA) e altamente acetilada (HA)

Nesta etapa do estudo, foram preparados hidrogéis misturando-se as duas gelanas.

A gelana apresenta estruturas químicas diferentes como apresentado anteriormente nesse trabalho: uma denominada nativa e uma desacetilada. Ambas tem a mesma estrutura linear feita de unidades repetidas de um tetrasacarídeo que é composto de β -D-glicose, β -D-ácido glucurônico e α -L-ramnose na razão molar de 2:1:1. A gelana nativa ou altamente acetilada contem dois grupamentos volumosos denominados acetato e glicerato localizados no mesmo resíduo de glicose da unidade repetida do tetrasacarídeo. A presença ou ausência desses grupos acetato e glicerato nas gelanas influenciam diretamente no potencial gelificante desses materiais e nas suas propriedades mecânicas e de capacidade de absorção de fluidos. As gelanas nativas ou altamente acetiladas (HA) produzem géis macios e elásticos que normalmente possuem alta capacidade intumescimento, porém baixa resistência mecânica. Por outro lado, os géis provenientes das gelanas desacetiladas são rígidos e quebradiços, possuindo baixa capacidade de intumescimento e elevadas propriedades mecânicas (SINGH; KWON, 2005).

Com o objetivo de se obter hidrogéis que possuam equilíbrio entre capacidade de intumescimento e resistência mecânica, decidiu-se avaliar diferentes metodologias de preparo misturando-se as gelanas.

4.5.1. Método LA/HA I: Estudo da adição do agente reticulante (CaCl_2)

O objetivo desse método foi avaliar o quanto a mistura das gelanas, com a posterior adição do agente reticulante divalente (CaCl_2) poderia influenciar os hidrogéis formados quanto ao inchamento e às propriedades térmicas e mecânicas. Não foi realizada qualquer alteração no pH da mistura, sendo o pH das gelanas em torno de 5,4.

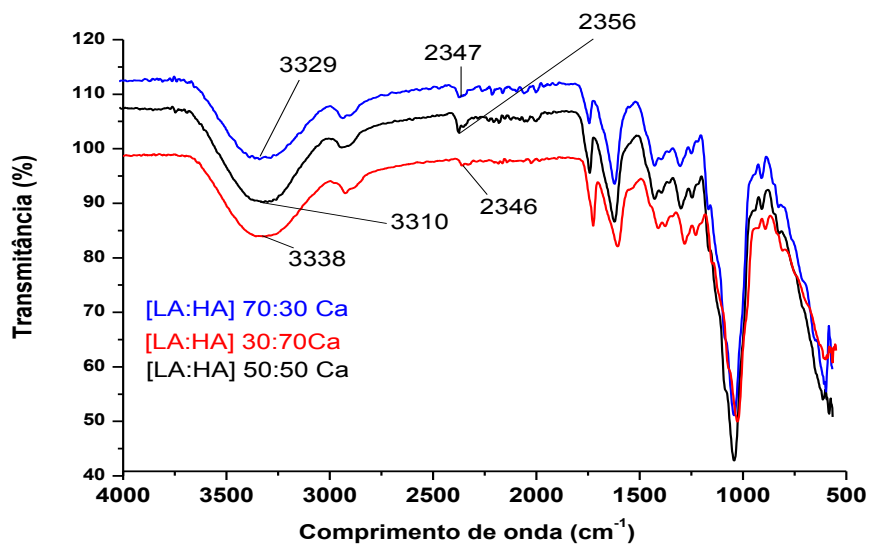
Quanto às análises por FTIR, pode se observar nos espectros da Figura 85(a) um deslocamento das bandas de estiramento axial de grupos O-H, na região de absorção próxima a 3350 cm^{-1} , que pode ser atribuído à formação das ligações de hidrogênio intra e intermoleculares. A referida banda foi deslocada de 3313 e 3299 cm^{-1} (gelana LA e HA pura, respectivamente) para 3338 , 3310 e 3329 cm^{-1} , para as amostras reticuladas com Ca^{+2} e com concentração de mistura de gelanas de $0,25\%$, na proporção LA/HA de $30/70$, $50/50$ e $70/30$, respectivamente.

Pode-se observar também na Figura 85(a), o surgimento de uma banda de acoplamento na região de 2350 cm^{-1} referente à deformação axial assimétrica CO, mais intensa à medida que a quantidade de gelana LA aumentou na mistura (SILVERSTEIN et al., 2009).

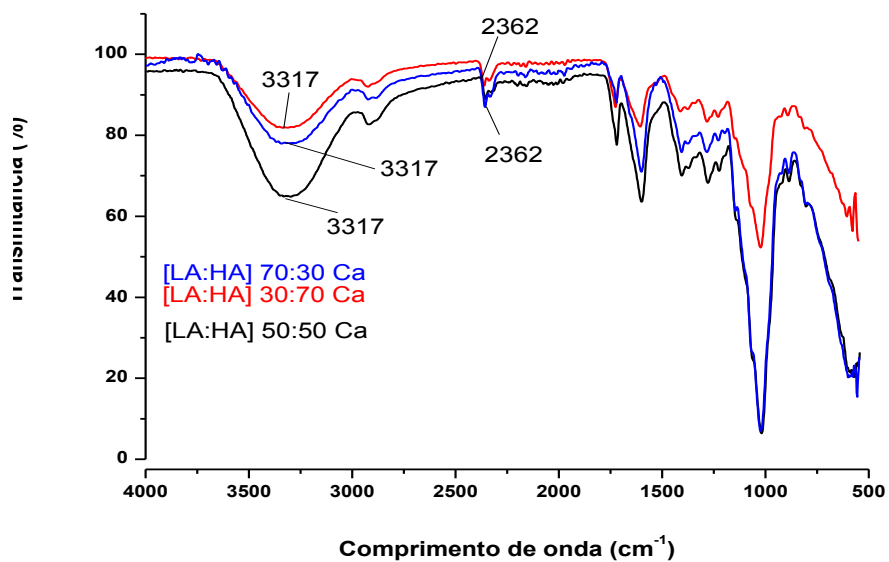
Na Figura 85(b), referente ao aumento da concentração da mistura de gelanas para $0,5\%$ (m/v), também se pode observar um deslocamento na banda referente ao estiramento OH em relação às gelanas LA e HA puras (3313 e 3299 cm^{-1} , respectivamente). Em todas as amostras a banda foi deslocada para 3317 cm^{-1} (SILVERSTEIN et al., 2009). Além disso, também, pode ser observado o surgimento de uma banda de acoplamento na região de 2362 cm^{-1} (SILVERSTEIN et al., 2009). Também podem ser observadas diferentes intensidades de absorção na banda em torno de 1023 cm^{-1} , relacionada à deformação angular da ligação C-O (SMITH, 1999; AGNIHOTRI; JAWALKAR; AMINABHAVI, 2006).

Aumentando-se a concentração da mistura das gelanas para $1,0\%$ (m/v), pode-se observar na Figura 85(c), o mesmo comportamento que foi observado para as concentrações da mistura em $0,25\%$ e $0,5\%$. A banda referente ao estiramento OH foi deslocada de 3313 e 3299 cm^{-1} (gelana LA e HA pura, respectivamente) para 3297 , 3297 e 3324 cm^{-1} para as amostras reticuladas com Ca^{+2} , com concentração de mistura de gelanas de $1,0\%$ na proporção LA/HA de $30/70$, $50/50$ e $70/30$, respectivamente.

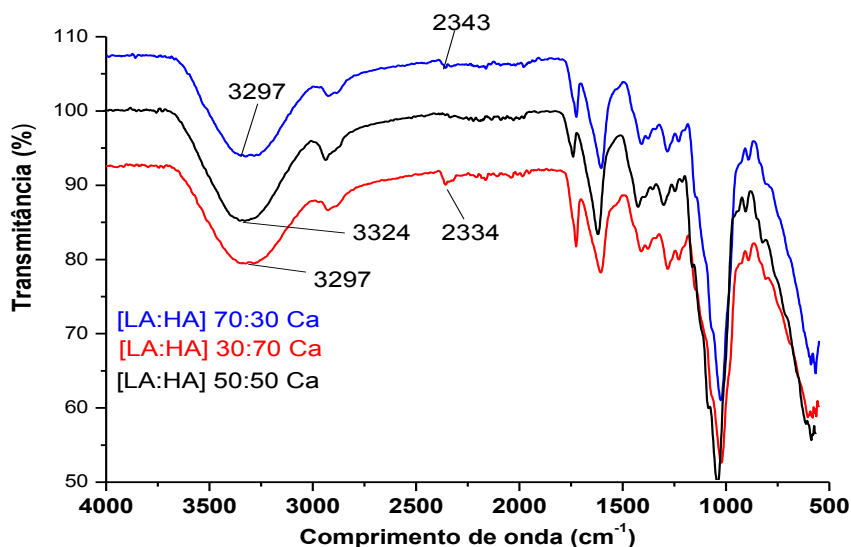
Figura 85 - Curvas de FTIR dos hidrogéis preparados com a mistura das gelanas e adição de reticulante CaCl_2 nas concentrações (m/v): 0,25% (a), 0,5% (b) e 1,0% (c).



(a)



(b)



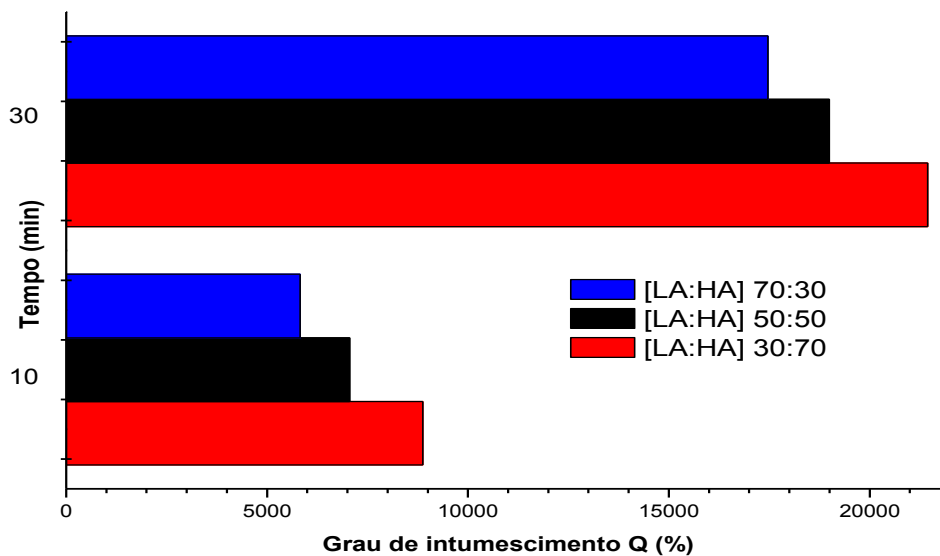
(c)

Fonte: O autor, 2017.

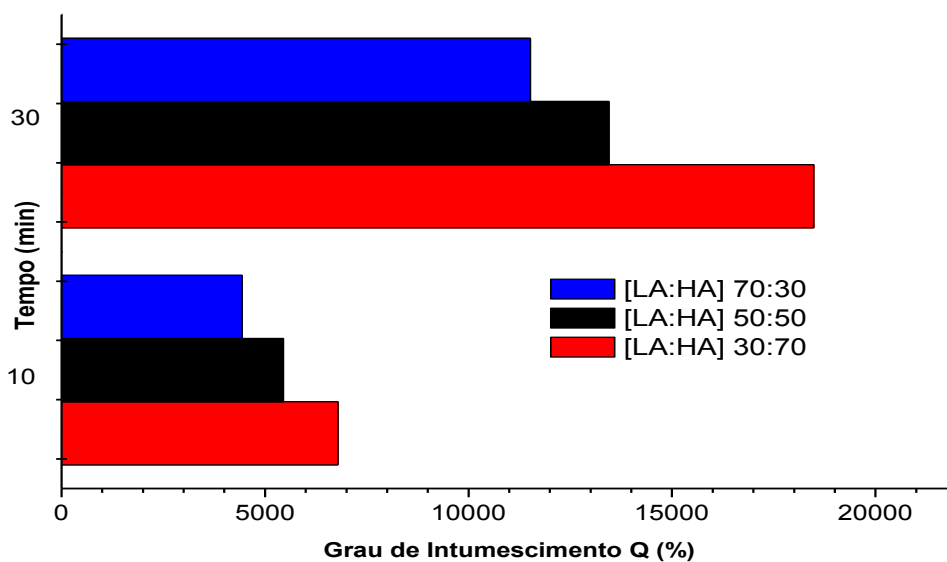
Quanto ao intumescimento, pode-se observar na Figura 86 que, independente da concentração final da mistura das gelanas (0,25%, 0,5% e 1,0%), os maiores intumescimentos foram obtidos para os hidrogéis que possuíam a maior proporção de gelana altamente acetilada (HA). Isso está de acordo com o que foi observado, nesta Tese, para o intumescimento dos hidrogéis preparados somente com a gelana HA, cujos valores foram, em média, superiores ao dos hidrogéis preparados com a gelana LA, independente da concentração da gelana, do pH ou do reticulante.

Esse maior inchamento dos hidrogéis à base de gelana HA pode estar atribuído às ligações de hidrogênio intramoleculares entre os grupos gliceratos que fornecem rigidez para as cadeias do polissacarídeo, enquanto que as ligações intermoleculares entre os grupos carboxilatos estabilizam as duplas hélices formadas. Conforme já discutido, a presença dos volumosos substituintes acetila, no interior das duplas hélices, faz com que a gelana HA tenha menor proporção de cadeias associadas à rede do gel, quando comparada com a gelana desacetilada. Logo, as redes da gelana HA não são reticuladas da mesma forma que a gelana LA, resultando em baixas propriedades mecânicas. Como o inchamento aumenta com a diminuição do grau de reticulação, a gelana altamente acetilada (HA) tenderá a apresentar maior grau de inchamento do que a gelana desacetilada (LA) (HUANG et al., 2003; DE SILVA et al., 2013).

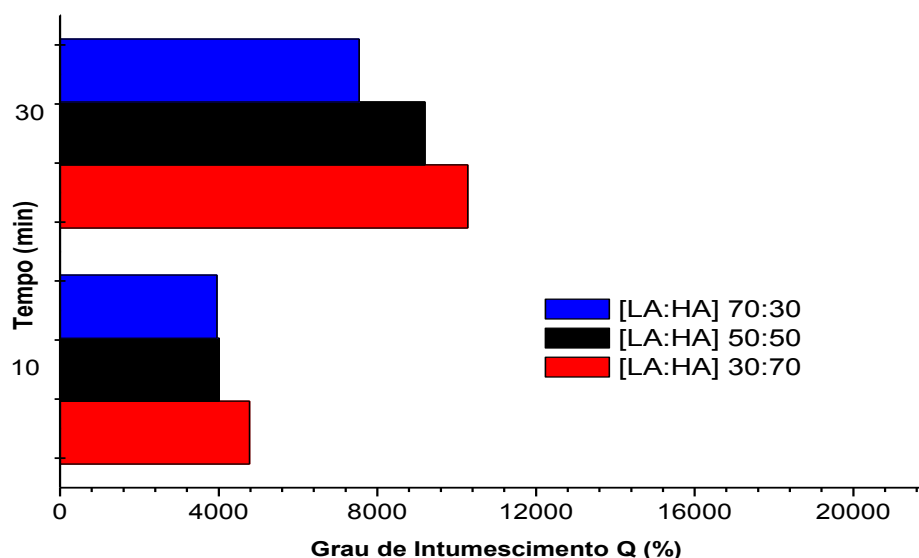
Figura 86 – Grau de intumescimento (Q) dos hidrogéis preparados com a mistura das gelanas e adição do reticulante CaCl_2 , nas concentrações de gelana (m/v): 0,25% (a), 0,5% (b) e 1,0% (c).



(a)



(b)



(c)

Fonte: O autor, 2017.

Quanto ao comportamento térmico, para a concentração total de polissacarídeos de 0,25%, pode-se observar que todos os hidrogéis tenderam a apresentar a mesma resistência térmica (Tabela 12), uma vez que os valores obtidos estão dentro do erro experimental permitido pelo equipamento ($\pm 4^{\circ}\text{C}$).

Tabela 12 – Valores das temperaturas de decomposição da mistura de gelanas na concentração de 0,25%

[LA:HA]	$T_{\text{onset}} (^{\circ}\text{C})$
30:70	256
50:50	258
70:30	254

Fonte: O autor, 2017.

O mesmo comportamento pode ser observado na Tabela 13, para os hidrogéis preparados com concentração total de gelana de 0,5%, onde todos apresentaram a mesma resistência térmica. Entretanto, nessa concentração de estudo, os valores obtidos não foram superiores aos das gelanas puras, o que pode estar associado ao impedimento estérico causado pelo aumento da concentração das gelanas, que está diretamente ligado ao aumento no número de cadeias da gelana HA.

Tabela 13 – Valores das temperaturas de decomposição da mistura de gelanas na concentração de 0,5%

[LA:HA]	T _{onset} (°C)
30:70	248
50:50	248
70:30	248

Fonte: O autor, 2017.

Já para a concentração total de 1,0%, pode-se observar na Tabela 14, que a maior resistência térmica foi obtida para a amostra preparada com maior quantidade de gelana desacetilada (70%), inclusive quando comparado aos valores das gelanas puras. Isso pode estar associado ao menor impedimento estérico da estrutura resultante, já que como a gelana desacetilada não possui os grupamentos acetato e glicerato, presentes na gelana HA, as interações com os cátions Ca⁺² são favorecidas, o que aproxima as duplas hélices e aumenta a resistência térmica.

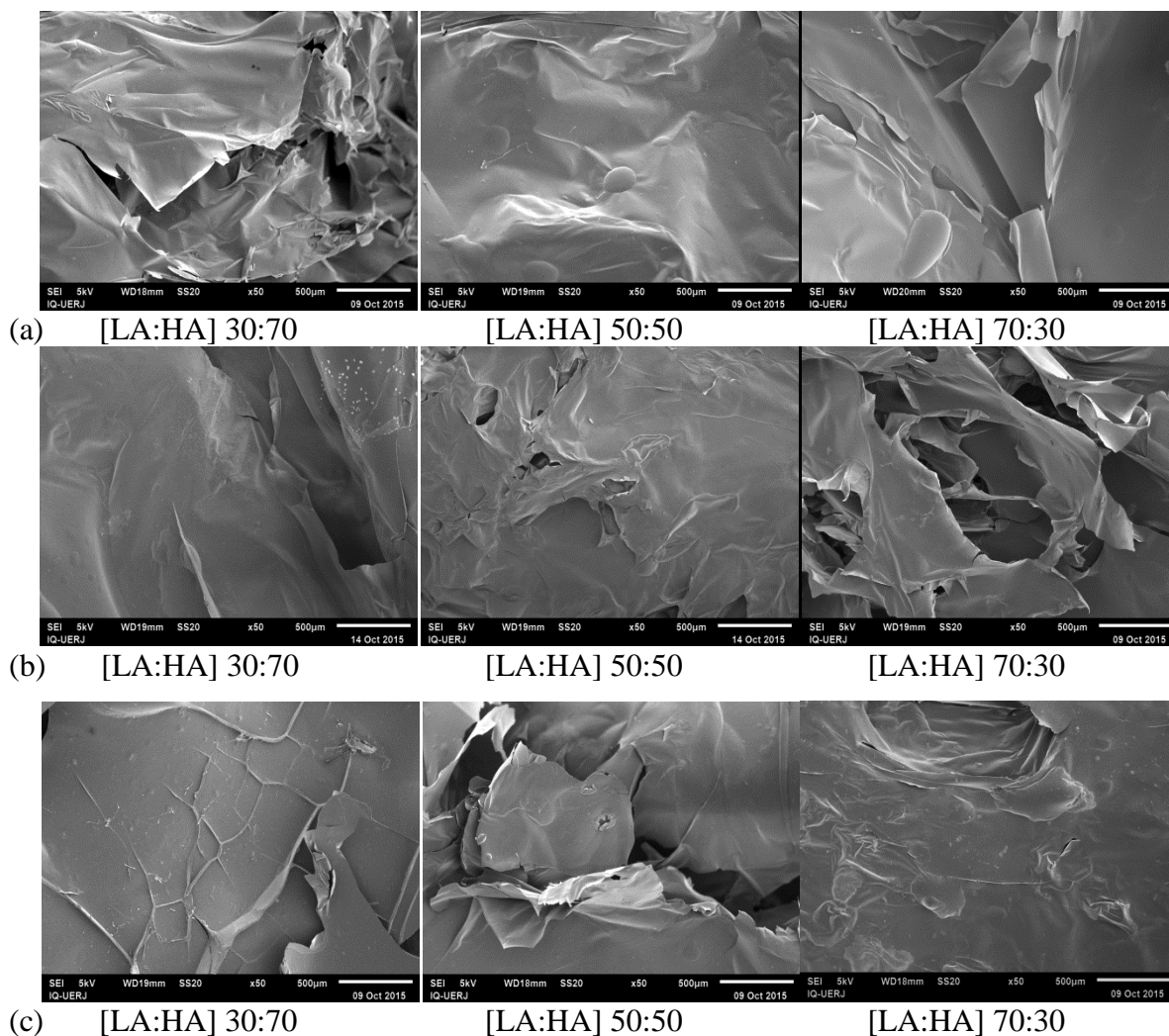
Tabela 14 – Valores das temperaturas de decomposição da mistura de gelanas na concentração de 1,0%

[LA:HA]	T _{onset} (°C)
30:70	246
50:50	249
70:30	251

Fonte: O autor, 2017.

Quanto à morfologia, pode-se observar na Figura 87 que, com o aumento da concentração da gelana desacetilada (LA), a estrutura tendeu a se tornar mais irregular e a apresentar espaços vazios.

Figura 87 – Micrografias de SEM dos hidrogéis preparados com a mistura das gelanas e adição do reticulante CaCl_2 , utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25 (a); 0,5 (b); 1,0 (c).



Fonte: O autor, 2017.

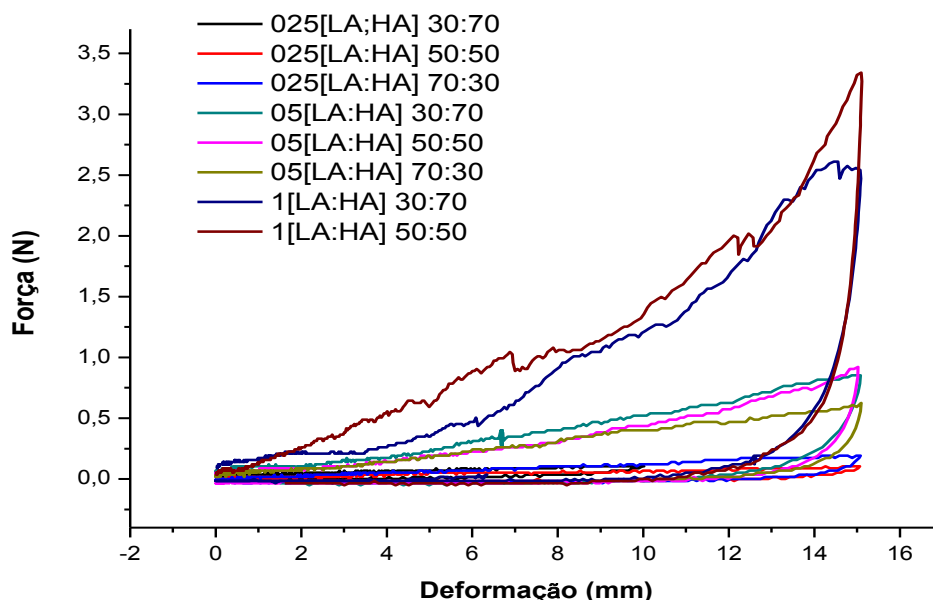
Na avaliação do ensaio mecânico (Figura 88), pode-se observar que as amostras que apresentaram maior resistência à compressão foram aquelas preparadas com a maior concentração de gelatina (1,0%), independente da razão LA:HA. Provavelmente, isso ocorreu em virtude do aumento no número de interações intermoleculares, devido à presença de um maior número de cadeias poliméricas presentes no meio (MAO; TANG; SWANSON, 2000).

De maneira geral, os hidrogéis formados com a gelatina LA são mais resistentes do que os formados com a gelatina HA, logo se espera que um aumento na proporção de gelatina LA na mistura entre as gelatinas leva a formação de géis mais fortes. Entretanto, isso não foi observado para os hidrogéis a 1,0%. Segundo Morris *et al.* (1996) e Mao *et al.*, (2000), a formação das duplas hélices nas misturas de gelatinas nem sempre envolvem filamentos de

ambos os tipos de gelanas. As gelanas LA e HA podem formar redes poliméricas separadas e interpenetrantes (IPN). As estruturas de redes interpenetrantes podem ser totalmente interpenetrantes onde ambos os polímeros são reticulados ou semi interpenetrantes, quando apenas cadeias de um dos polímeros são reticuladas enquanto os tipos de cadeias são lineares. Redes totalmente interpenetrantes são geralmente fortes e mais deformáveis que as semi interpenetrantes (MAO et al., 2000; DAS, 2013). É bem provável que na amostra 1[LA:HA] 30:70, uma pequena quantidade de cadeias da gelana LA estejam dispersas numa matrix contínua de gelana HA e que na amostra 1[LA:HA] 50:50, cadeias de ambas as gelanas possam formar redes contínuas separadamente formando redes totalmente interpenetrantes.

Não foi possível a realização do ensaio mecânico da amostra preparada com 1,0 % de gelanas, na razão LA:HA = 70:30, pois a amostra se apresentou quebradiça e não suportou a força aplicada para a deformação.

Figura 88 - Curvas força *versus* deformação dos hidrogéis preparados com a mistura das gelanas e adição do reticulante CaCl_2 , utilizando solução de gelana nas concentrações (% m/v): 0,25; 0,5 e 1,0.



Fonte: O autor, 2017.

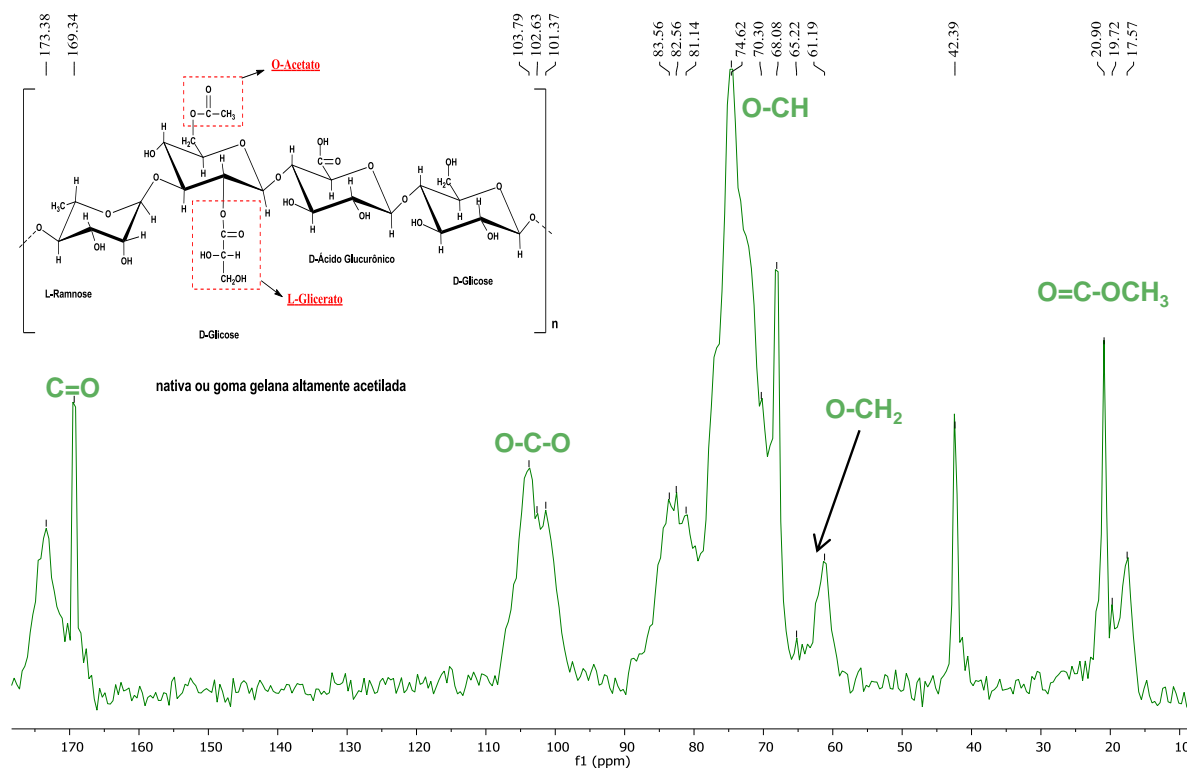
Após a análise dos resultados de resistência à compressão, decidiu-se separar as duas amostras que se apresentaram mais resistentes, para serem analisadas por NMR de ^{13}C no estado sólido, a fim de se comprovar se realmente houve a mistura das gelanas (LA e HA). As amostras selecionadas foram as seguintes:

- **1[LA:HA] 30:70** – Concentração de gelanas = 1,0 % e LA:HA = 30:70
- **1[LA:HA] 50:50** – Concentração de gelanas = 1,0 % e LA:HA = 50:50.

Pode-se observar nas Figuras 89 e 90, que em ambas as amostras, estão presentes os sinais característicos das gelanas (Tabelas 15 e 16). Analisando somente a presença da gelana HA, verifica-se os sinais em 20,8 e 20,9 ppm, correspondentes à presença do grupo acetato, proveniente de um dos resíduos de glicose; sinais em 42,3 ppm, referentes a CH_2 metilênico, e em 169,3 e 169,4 que correspondem a $\text{C}=\text{O}$ de éster proveniente dos grupamentos acetato e glicerato. Além disso, pode-se observar, também, um aumento da intensidade desses sinais, quando se compara os espectros, o que está relacionado ao aumento na proporção de gelana HA na mistura.

Figura 89 - Espectro de NMR de ^{13}C da amostra 1[LA:HA] 30:70.

MISTURA 1 - 30%GD + 70% GN



Fonte: O autor, 2017.

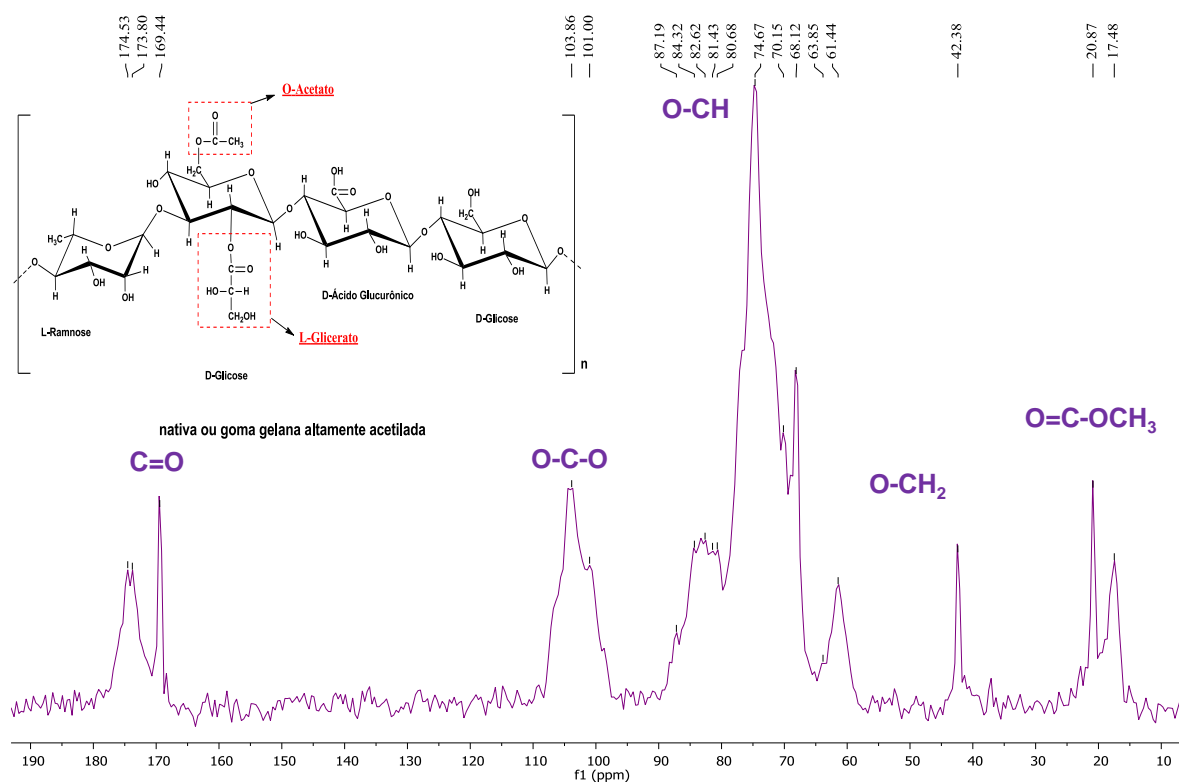
Tabela 15 - Deslocamentos químicos e áreas dos principais picos do espectro da amostra 1[LA:HA] 30:70.

Grupamento	Deslocamento químico (ppm)	Área (%)
C=O	173,3	2,4
	169,3	1,3
O-C-O	103,7	3,1
	102,6	2,1
	102,3	
O-CH	83,5	4,8
	82,5	
	81,1	
O-CH	74,6	7,4
	70,3	
	68,0	4,8
	65,2	2,7
O-CH ₂	61,1	1,8
	42,3	1,2
O=C-CH ₃	20,9	1,2
	19,7	
	17,5	1,0

Fonte: O autor, 2017.

Figura 90- Espectro de NMR de ^{13}C da amostra 1[LA:HA] 50:50.

MISTURA 2 - 50% GD + 50% GN



Fonte: O autor, 2017.

Tabela 16 - Deslocamentos químicos e áreas dos principais picos do espectro da amostra 1[LA:HA] 50:50.

Grupamento	Deslocamento químico (ppm)	Área (%)
C=O	174,5	1,6
	173,0	
	169,4	0,6
O-C-O	103,8	3,71
	101,0	
O-CH	87,1	2,29
	84,3	
	82,6	
	81,4	0,92
	80,6	
O-CH	74,6	2,4
	70,1	6,00
	68,1	2,54
O-CH ₂	61,4	1,85
	42,3	0,57
O=C-CH ₃	20,8	0,82

17,4 1,0

Fonte: O autor, 2017.

Após a realização das caracterizações dessa metodologia, seguem abaixo (Tabela 17), os resultados obtidos para grau de intumescimento Q (%), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão ($\sigma_{\text{máx}}$) dos hidrogéis.

Tabela 17 - Valores de grau de intumescimento (Q), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão ($\sigma_{\text{máx}}$) para os hidrogéis obtidos no estudo da adição do reticulante divalente CaCl_2 .

Hidrogéis	Q (%)	T_{onset} (°C)	F (N)	$\sigma_{\text{máx}}$ (kPa)
025[LA:HA]70:30Ca	17470 ± 1680	254	019 ± 0,08	0,60 ± 0,10
025[LA:HA]50:50Ca	18990 ± 2444	258	0,087 ± 0,02	0,28 ± 0,08
025[LA:HA]30:70Ca	21440 ± 2768	256	0,10 ± 0,10	0,33 ± 0,13
05[LA:HA]70:30Ca	11522 ± 1212	256	0,10 ± 0,73	0,33 ± 0,09
05[LA:HA]50:50Ca	13448 ± 1455	248	0,96 ± 0,12	3,07 ± 1,12
05[LA:HA]30:70Ca	18485 ± 2656	248	0,88 ± 0,14	2,79 ± 0,13
1[LA:HA]70:30Ca	7543 ± 1009	251	--	--
1[LA:HA]50:50Ca	9200 ± 1005	249	3,39 ± 1,09	10,79 ± 1,09
1[LA:HA]30:70Ca	10280 ± 450	246	2,61 ± 1,12	8,32 ± 1,98

Fonte: O autor, 2017.

Verificando os dados listados na Tabela 17, pode-se observar que as amostras 1[LA:HA] 50:50Ca e 1[LA:HA] 30:70Ca apresentaram os maiores valores de tensão máxima de compressão, elevadas capacidades de intumescimento e resistência térmica similar as das gelanas LA e HA (245 e 246°C, respectivamente) sendo amostras que podem apresentar bom desempenho em aplicações específicas como liberação controlada de herbicidas. Pode se observar também, de maneira geral, que os hidrogéis com maiores valores de tensão máxima de compressão apresentaram menores graus de intumescimento o que pode estar relacionado a flexibilidade das cadeias poliméricas que está diretamente relacionando com a quantidade de água absorvida pelo hidrogel (AOUADA, 2009; GUILHERME et al., 2015)

4.5.2. Método LA/HA II: Estudo da variação do pH

O objetivo desse método foi avaliar o quanto a mistura das gelanas, juntamente com a variação de pH, poderia influenciar os hidrogéis formados quanto ao inchamento e as propriedades térmicas e mecânicas.

Após a análise dos resultados de resistência à compressão dos hidrogéis obtidos com cada gelana em separado, decidiu-se preparar novos hidrogéis à base da mistura de gelanas, variando-se o pH do meio, cujos valores escolhidos foram aqueles em que os hidrogéis individuais mostraram-se mais resistentes. As amostras preparadas foram denominadas da seguinte forma, por exemplo:

1[LA:HA] 30:70pH3, onde:

1 – Concentração total das gelanas

[LA:HA] 30:70 – 30% de gelana LA e 70% de gelana HA

Quanto às análises por FTIR, pode-se observar nos espectros da Figura 91(a) um deslocamento das bandas de estiramento axial de grupos O-H na região de absorção próxima a 3350 cm^{-1} , que pode ser atribuído à formação das ligações de hidrogênio intra e intermoleculares (SILVERSTEIN et al., 2009; TAKO et al., 2016). A referida banda foi deslocada de 3313 e 3299 cm^{-1} (gelana LA e HA pura, respectivamente) para 3330 , 3350 e 3333 cm^{-1} para as amostras em pH3 da mistura de gelanas.

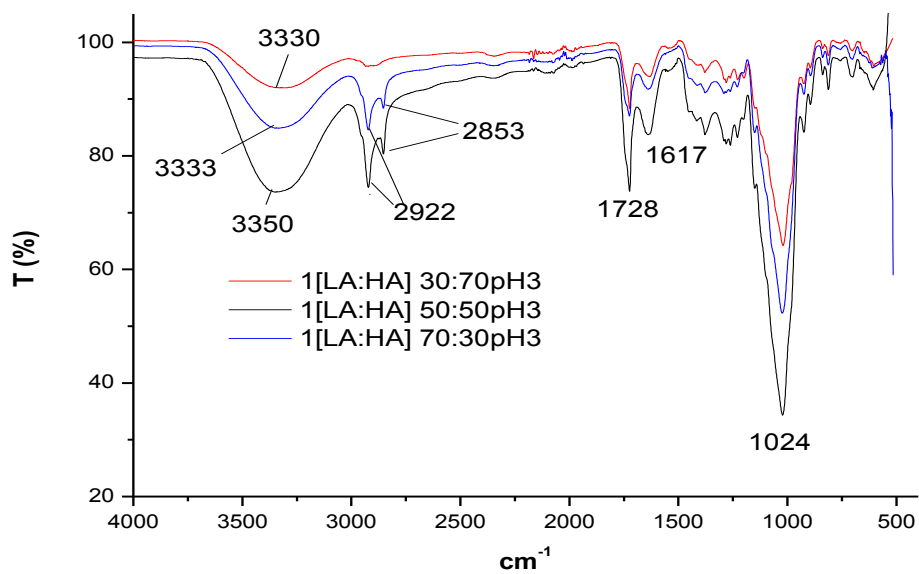
Pode-se observar, também, na Figura 91(a), a intensificação de uma banda de deformação axial assimétrica de CH_2 em torno de 2920 cm^{-1} e o surgimento de uma banda de deformação simétrica de CH_2 na região em torno de 2850 cm^{-1} , nas amostras com aumento na proporção de gelana LA de 30% para 50% e 70%, que pode estar relacionado à formação de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares (SILVERSTEIN et al., 2009). Na região em torno de 1730 cm^{-1} pode-se observar uma banda referente aos grupos acetato e glicerato presentes na gelana HA, cuja intensidade está relacionada ao aumento de proporção de gelana HA na mistura. Também podem ser observadas diferentes intensidades de absorção na banda em torno de 1023 cm^{-1} , relacionada à deformação angular da ligação C-O (SMITH, 1999; AGNIHOTRI; JAWALKAR; AMINABHAVI, 2006).

Na Figura 91(b), referente à mistura de gelanas em pH 4, pode-se observar que as menores absorções do espectro foram na amostra com a maior proporção de gelana LA o que pode estar relacionada a menor proporção de ligações de hidrogênio conforme o aumento da proporção de gelana LA. Também se pode observar um deslocamento na banda referente ao estiramento OH em relação às gelanas LA e HA puras (3313 e 3299 cm^{-1} , respectivamente). Em todas as amostras, a banda foi deslocada para 3306 cm^{-1} (SILVERSTEIN et al., 2009).

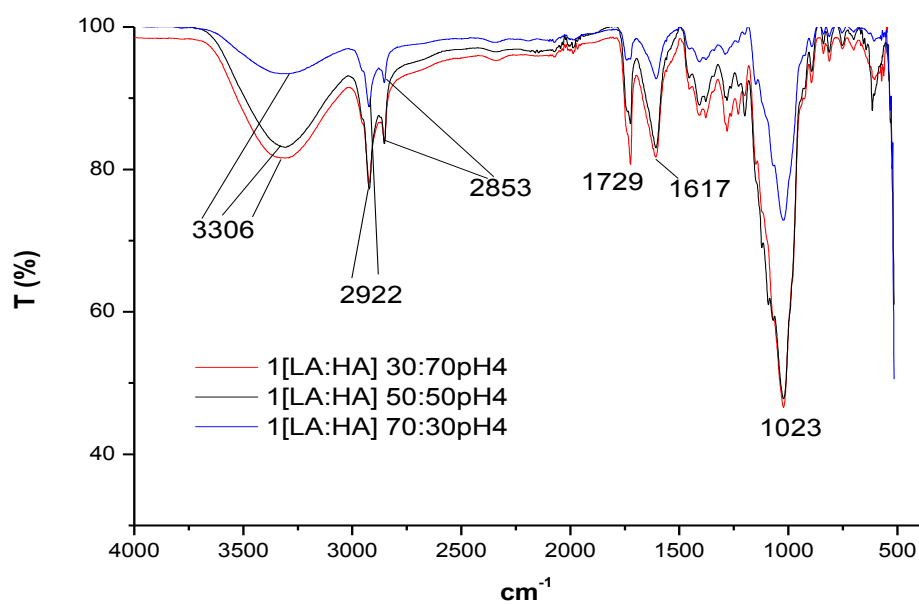
Pode-se observar também na Figura 91(b), o surgimento de duas bandas de deformação relacionadas à CH_2 , uma assimétrica em torno de 2920 cm^{-1} e uma simétrica em torno de 2850 cm^{-1} . Na região em torno de 1730 cm^{-1} pode-se observar uma banda referente aos grupos acetato e glicerato presentes na gelana HA, cuja intensidade está relacionada ao aumento de proporção de gelana HA na mistura (SMITH, 1999; AGNIHOTRI; JAWALKAR; AMINABHAVI, 2006). Também se observa um aumento de intensidade na banda em torno de 1610 cm^{-1} , referente aos grupos ionizados COO^- com o aumento da proporção de gelana HA, o que pode estar relacionado a um aumento nas interações para agregação das duplas hélices nesse valor de pH.

Em pH 8, conforme Figura 91(c), as maiores intensidades de absorção do espectro estão na amostra com maior proporção de gelana LA. Esse comportamento é oposto ao observado em pH 3 e pH 4, onde as menores absorções foram observadas nas amostras com menor proporção de gelana LA. Isso corrobora com os estudos realizados na gelana HA, onde se confirma que a gelana HA é mais sensível em pH ácido do que nos demais valores de pH.

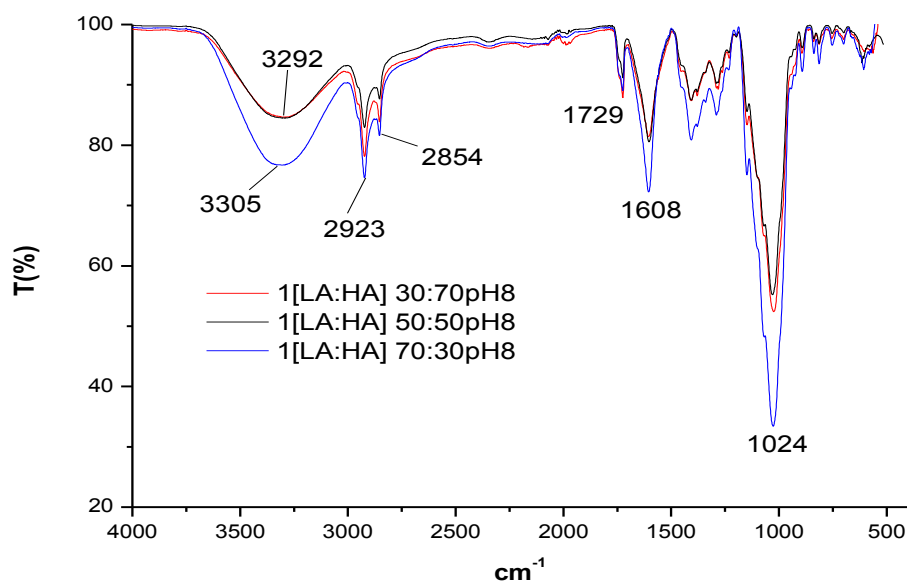
Figura 91 - Curvas de FTIR dos hidrogéis preparados com a mistura das gelanas e variação de pH: pH 3 (a), pH 4 (b) e pH 8 (c).



(a)



(b)



(c)

Fonte: O autor, 2017.

Quanto ao intumescimento, os maiores valores de intumescimento foram obtidos para os hidrogéis que possuíam a maior proporção de gelana altamente acetilada (HA) e em pH ácido (Figuras 92a e 92b). Esse maior inchamento das amostras que contém maior proporção de gelana HA, pode estar atribuído à presença dos grupos volumosos nas cadeias da gelana HA, que dificultam a interação entre as cadeias das gelanas. Com isso, as amostras com maior teor de gelana HA tendem a apresentar maior grau de inchamento do que as demais amostras.

A Figura 92(c) mostra que o intumescimento em pH 8 foi muito inferior ao obtido em pH ácido, independente da proporção entre as gelanas. Pode-se observar, também que nessa concentração de mistura, o hidrogel 1[LA:HA]70:30 pH 8 dissolveu após 60 minutos de imersão em água.

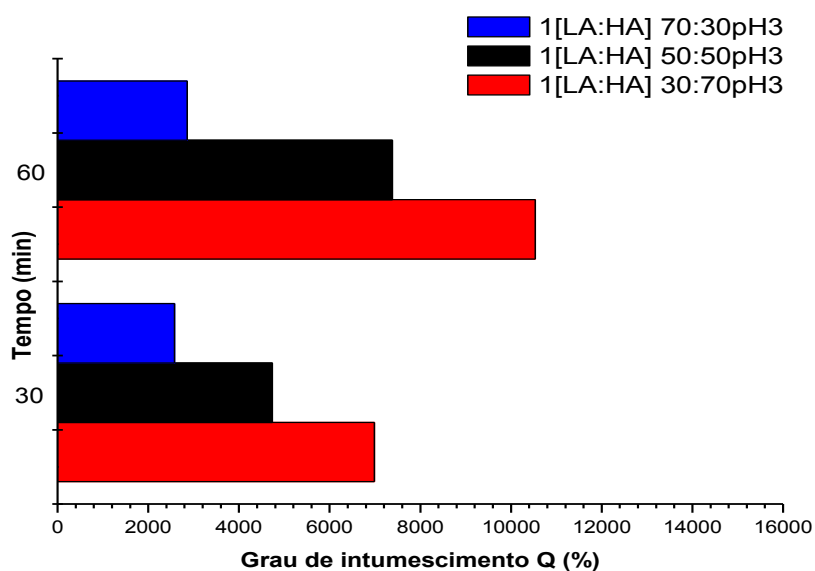
Em pH básico, a gelana LA apresenta os seus grupos carboxílicos ionizados. Na ausência total de cátions, pode ocorrer repulsão eletrostática durante a associação de hélices. Quando há cátions mono ou divalentes no meio, ocorre a neutralização das cargas negativas e as hélices podem se associar.

As amostras de gelanas, utilizadas nesta Tese, foram caracterizadas por espectroscopia de absorção atômica e constatou-se, conforme já mencionado no item 4.1.2, da pág. 53, que ambas gelanas continham diferentes cátions, em diferentes teores. Ao se misturar as duas gelanas, em pH básico, pode ter ocorrido de esses cátions estarem em uma quantidade

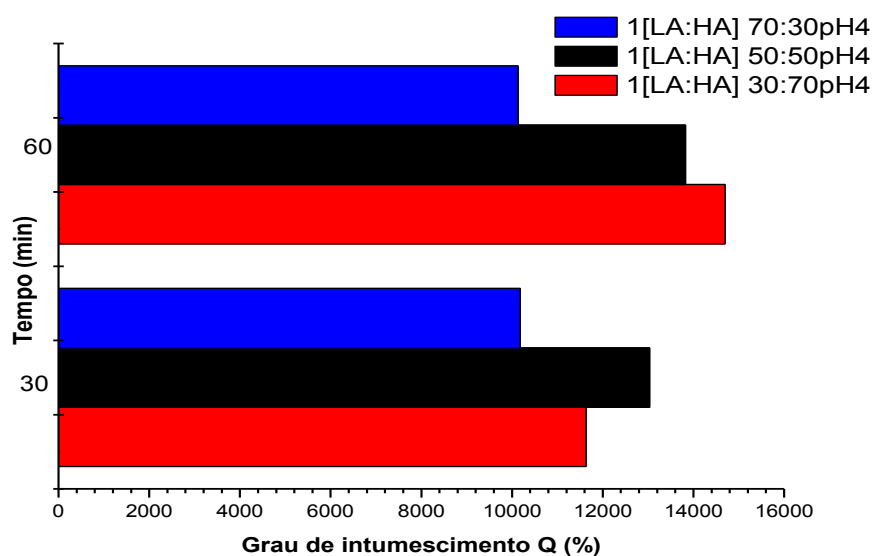
suficiente para neutralizarem as cargas negativas dos grupos carboxílicos da gelena LA e, dessa forma, favorecer a associação das hélices, permitindo assim, uma maior reticulação das cadeias.

Tal fato, faz com que essas amostras intumescam menos do que as amostras obtidas em pH ácido, as quais estariam com as cadeias poliméricas mais espaçadas devido ao impedimento estérico, além de estarem interagindo por meio de interações físicas mais fracas.

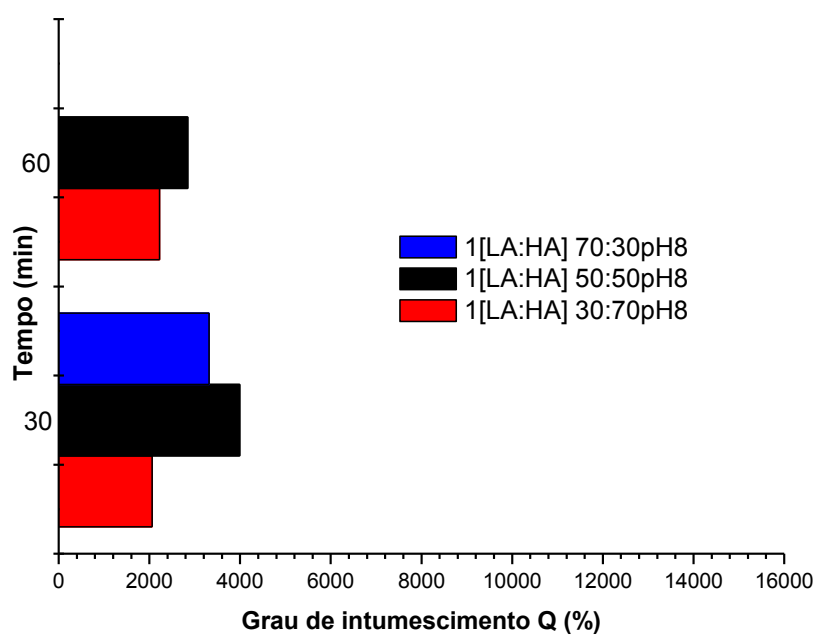
Figura 92 - Grau de intumescimento (Q) dos hidrogéis preparados com a mistura das gelenas e variação de pH: pH 3 (a), pH 4 (b) e pH 8 (c)



(a)



(b)



(c)

Fonte: O autor, 2017.

Quanto ao comportamento térmico, pode-se observar na Tabela 18 que todos os hidrogéis em pH 3 apresentaram a mesma resistência térmica, já que os valores obtidos estão dentro do erro experimental do equipamento, que é de $\pm 4^\circ\text{C}$.

Tabela 18 – Valores das temperaturas de decomposição da mistura de gelanas na concentração de 1,0% em pH 3

[LA:HA]	T _{onset} (°C)
30:70	223
50:50	219
70:30	220

Fonte: O autor, 2017.

O mesmo comportamento pode ser observado na Tabela 19, para os hidrogéis preparados em pH 4.

Tabela 19 – Valores das temperaturas de decomposição da mistura de gelanas na concentração de 1,0% em pH 4

[LA:HA]	T _{onset} (°C)
30:70	237
50:50	238
70:30	239

Fonte: O autor, 2017.

Já em pH 8, pode-se observar na Tabela 20, que a maior resistência térmica foi obtida para a amostra preparada com maior quantidade de gelana desacetilada (70%). Isso pode estar associado ao menor estereoiimpedimento da estrutura resultante, já que como a gelana desacetilada não possui os grupamentos acetato e glicerato, presentes na gelana HA, são favorecidas, o que aproxima as duplas hélices e aumenta a resistência térmica.

Tabela 20 – Valores das temperaturas de decomposição da mistura de gelanas na concentração de 1,0% em pH 8

[LA:HA]	T _{onset} (°C)
30:70	229
50:50	232
70:30	236

Fonte: O autor, 2017.

A morfologia dos hidrogéis é mostrada nas Figuras 93 a 95. Nas amostras preparadas em pH 3, o aumento da proporção de gelana desacetilada (LA) na mistura, parece ter provocado a redução da rugosidade da amostra (Figura 93c), que apresentou uma estrutura mais densa e com superfície contínua.

Ao avaliar a morfologia das amostras preparadas em pH 4 (Figura 94) pode-se observar o mesmo comportamento em relação a proporção de gelana desacetilada (LA). O aumento na proporção da gelana LA favoreceu a redução da rugosidade, com o surgimento de uma morfologia densa. Em pH 8, observa-se que a morfologia da amostra com maior proporção de gelana LA (Figura 95c) é compacta, densa, com ausência de vazios.

Figura 93 – Micrografias de SEM dos hidrogéis preparados com a mistura das gelanas na proporção: (a) LA:HA 30:70; (b) LA:HA 50:50 e (c) LA:HA 70:30 (Dados: pH 3, concentração de gelana = 1,0% (m/v), com aumento de 50X).

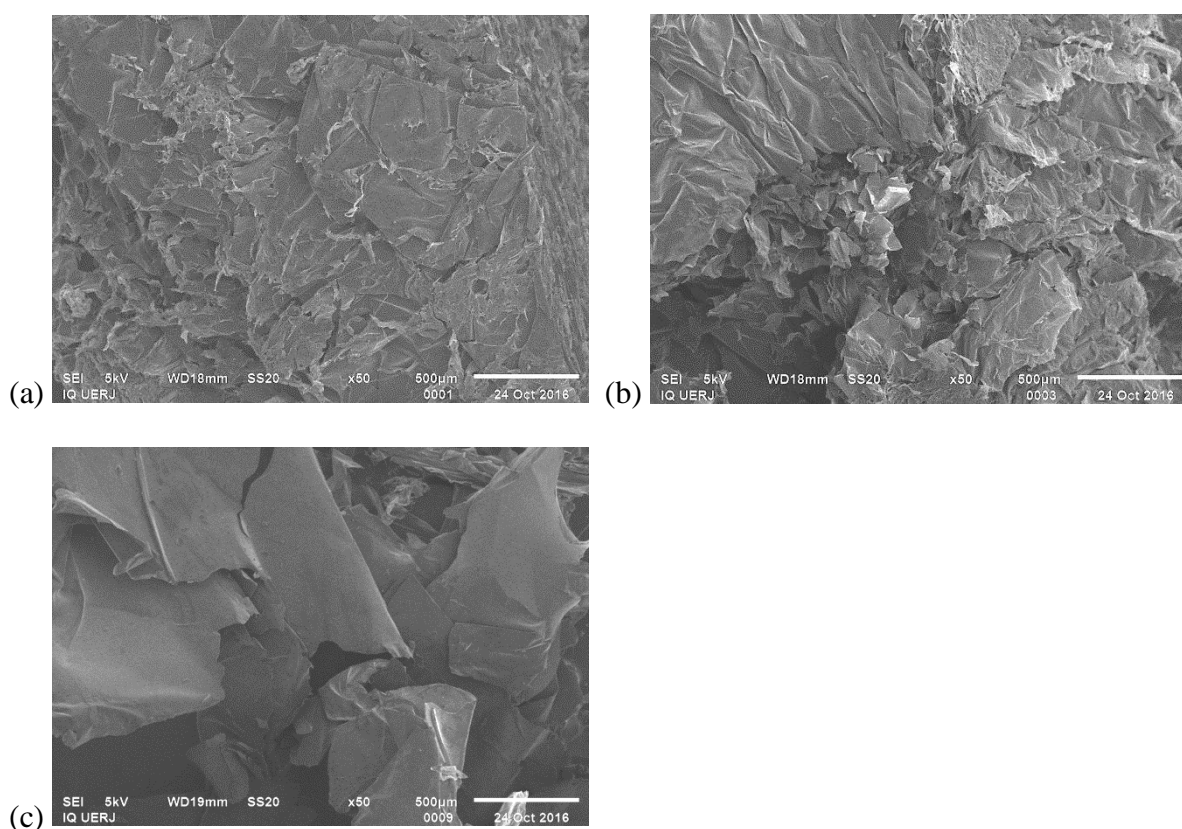


Figura 94 - Micrografias de SEM dos hidrogéis preparados com a mistura das gelanas na proporção: (a) LA:HA 30:70; (b) LA:HA 50:50 e (c) LA:HA 70:30 (Dados: pH 4, concentração de gelana = 1,0% (m/v), aumento de 50X).

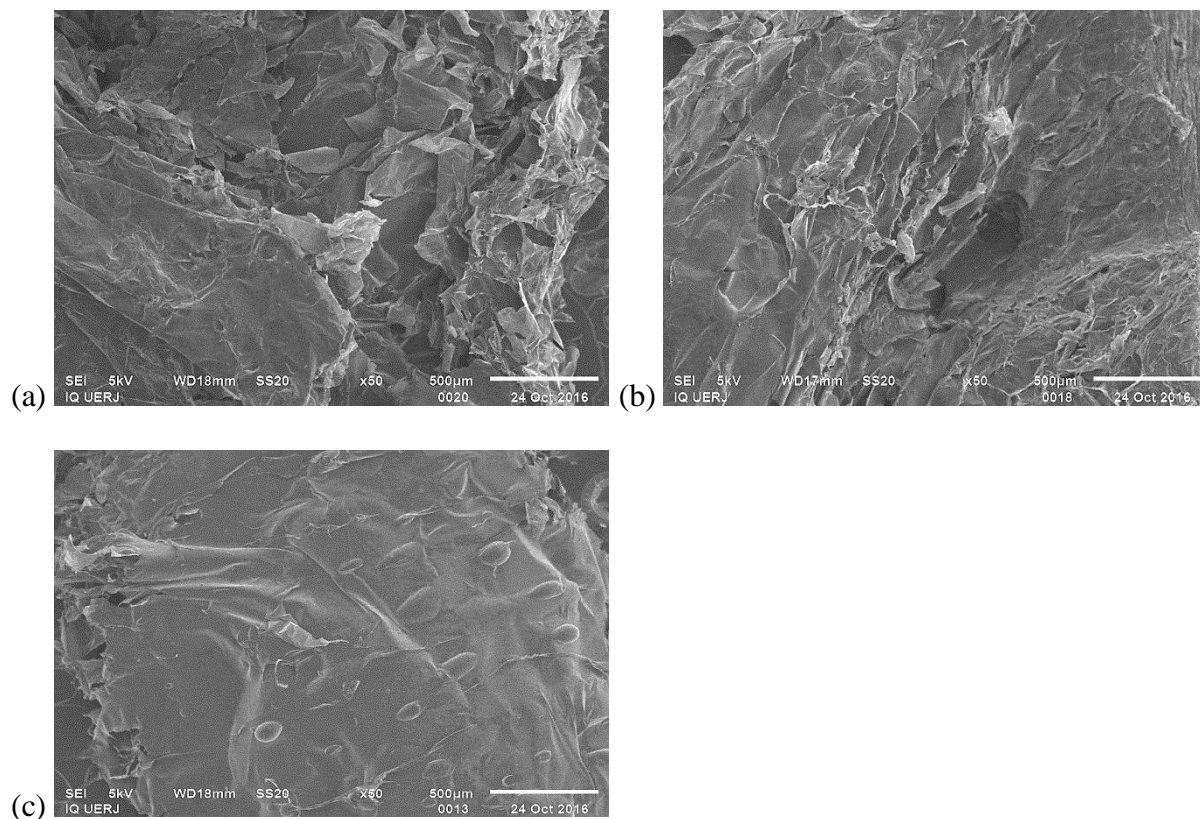
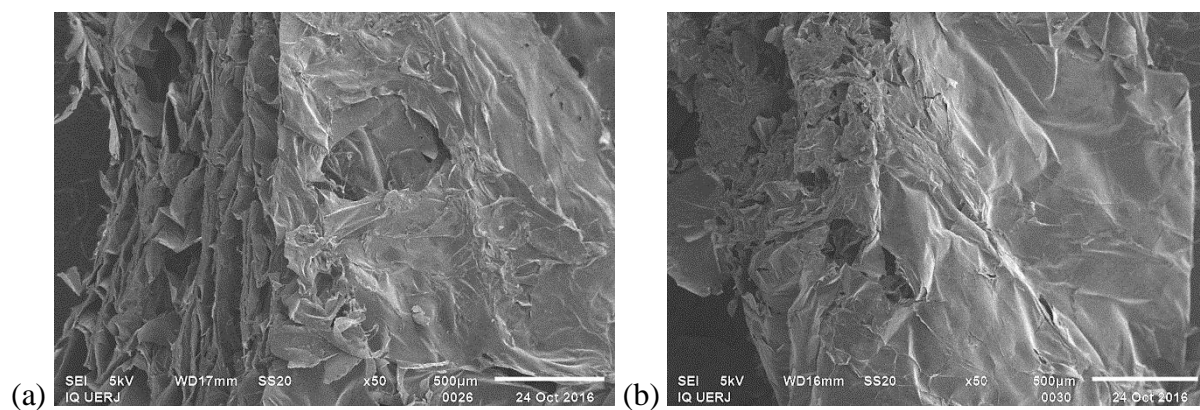
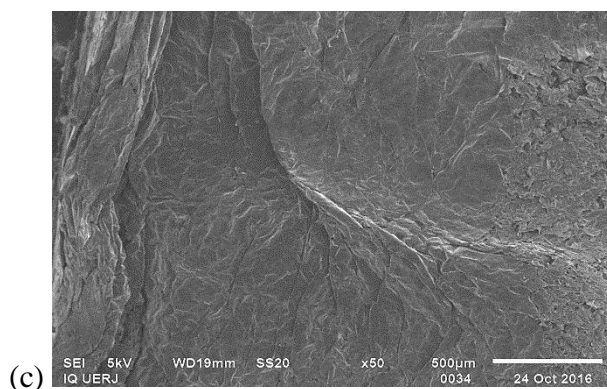


Figura 95 - Micrografias de SEM dos hidrogéis preparados com a mistura das gelanas na proporção: (a) LA:HA 30:70; (b) LA:HA 50:50 e (c) LA:HA 70:30 (Dados: pH 8, concentração de gelana = 1,0% (m/v), aumento de 50X).

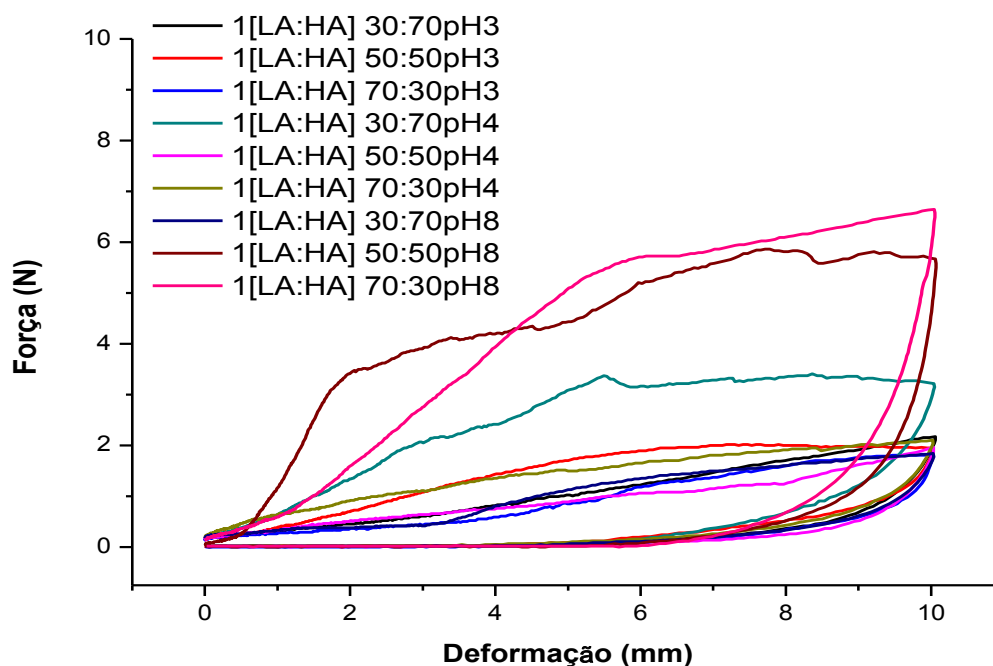




Fonte: O autor, 2017.

Pode-se observar, na Figura 96, que as amostras preparadas em pH 8, com maior proporção de gelatina LA na mistura, apresentaram maior resistência à compressão do que as demais amostras. Isso está de acordo com o que fora observado em relação ao grau de intumescimento, cujas amostras em pH básico, intumesceram menos, provavelmente por estarem mais reticuladas. Consequentemente, esperava-se que as amostras em pH básico apresentassem maior resistência mecânica.

Figura 96 - Curvas de força *versus* deformação dos hidrogéis preparados com a mistura das gelatinas e variação de pH.



Fonte: O autor, 2017.

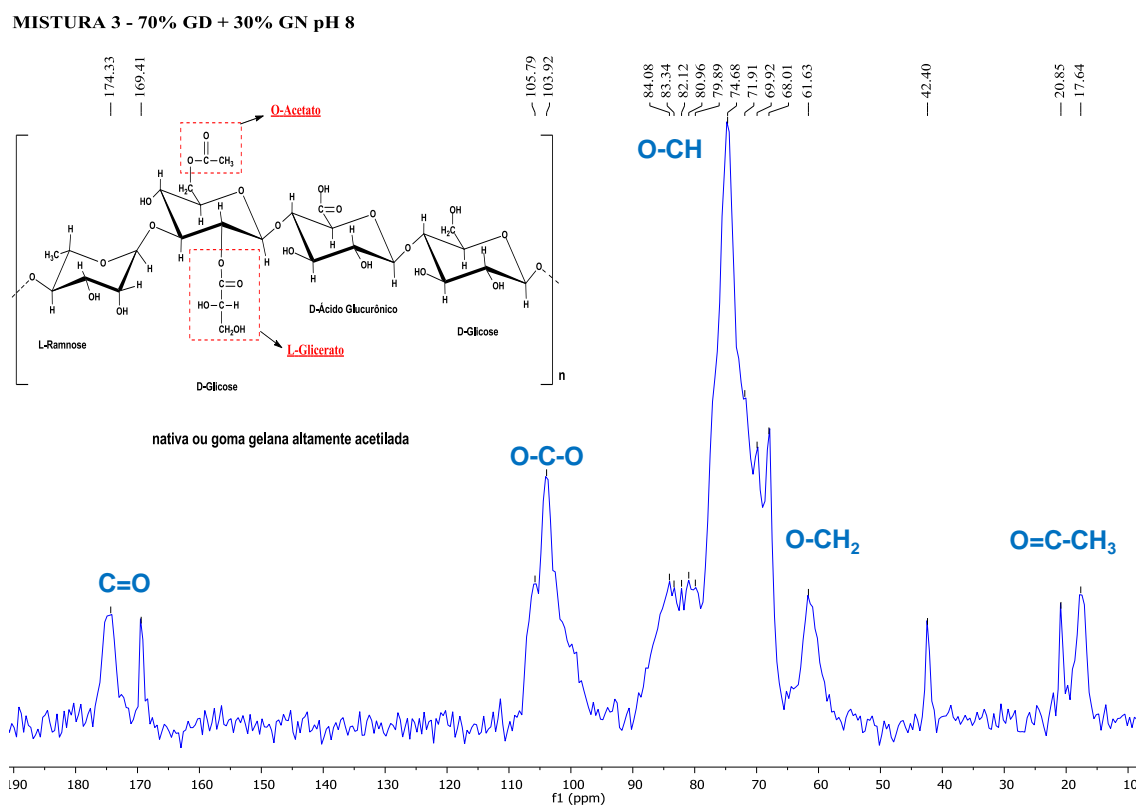
Novamente, após a análise dos resultados de resistência à compressão, decidiu-se separar as duas amostras que se apresentaram mais resistentes, para serem analisadas por NMR de ^{13}C no estado sólido, a fim de se comprovar a presença das duas gelanas na mistura. Dessa forma, as amostras selecionadas foram:

- **1[LA:HA] 70:30 pH 8** – Concentração de gelanas = 1,0 %, LA:HA = 70:30 e pH 8

- **1[LA:HA] 50:50 pH 8** – Concentração de gelanas = 1,0 %, LA:HA = 50:50 e pH 8

Pode-se observar nas Figuras 97 e 98, que em ambas as amostras, estão presentes os sinais característicos das gelanas (Tabelas 21 e 22). Avaliando o espectro da gelana HA, são observados os sinais característicos em 20,8, correspondentes à presença do grupo acetato provenientes de um dos resíduos de glicose; em 42,4 e 40,3 ppm referentes a CH_2 metilênico, e em 169,4 que correspondem a $\text{C}=\text{O}$ de éster proveniente dos grupamentos acetato e glicerato. Além disso, observa-se, também, um aumento da intensidade desses sinais quando se compara os dois espectros, o que está relacionado ao aumento na proporção de gelana HA na mistura.

Figura 97 - Espectro de NMR de ^{13}C da amostra 1[LA:HA] 70:30 pH 8.



Fonte: O autor, 2017.

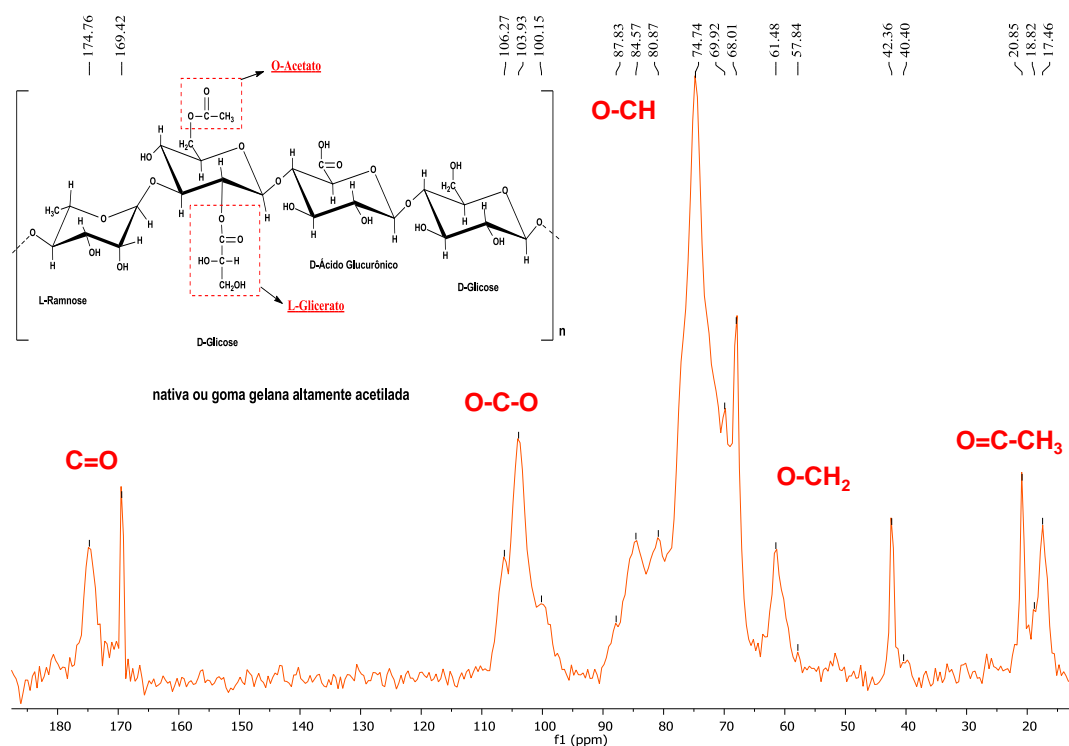
Tabela 21 - Deslocamentos químicos e áreas dos principais picos do espectro da amostra 1[LA:HA] 70:30 pH 8.

Grupamento	Deslocamento químico (ppm)	Área (%)
C=O	174,3	1,22
	169,4	0,39
O-C-O	105,7	0,96
	103,9	3,4
O-CH	84,0	3,76
	83,3	
	82,1	
	80,9	
	79,8	
O-CH	74,6	9,01
	71,9	1,61
	69,9	1,52
	68,0	1,77
O-CH ₂	61,6	1,66
	42,4	0,37
O=C-CH ₃	20,8	0,50
	17,6	1,0

Fonte: O autor, 2017.

Figura 98- Espectro de NMR de ^{13}C da amostra 1[LA:HA] 50:50 pH 8.

MISTURA 4 - 50% GD + 50% GN pH 8



Fonte: O autor, 2017.

Tabela 22 - Deslocamentos químicos e áreas dos principais picos do espectro da amostra 1[LA:HA] 50:50 pH 8.

Grupamento	Deslocamento químico (ppm)	Área (%)
C=O	174,8	1,23
	169,4	0,53
O-C-O	106,3	0,61
	104,0	2,16
	100,1	0,65
O-CH	87,8	1,75
	84,6	
	80,9	1,12
O-CH		8,90
	74,7	1,12
	69,9	1,95
O-CH ₂	68,0	
	61,5	1,23
	57,8	
O-CH ₂	42,4	0,57
	40,4	

	20,8	0,72
CH ₃	18,8	
	17,5	1,0

Fonte: O autor, 2017.

Após a realização das caracterizações dessa metodologia, seguem abaixo (Tabela 23), os resultados obtidos para grau de intumescimento Q (%), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão ($\sigma_{\text{máx}}$) dos hidrogéis.

Tabela 23 - Valores de grau de intumescimento (Q), temperatura inicial de decomposição (T_{onset}), força de compressão (F) e tensão máxima de compressão ($\sigma_{\text{máx}}$) para os hidrogéis obtidos no estudo da variação do pH.

Hidrogéis	Q (%)	Tonset (°C)	F (N)	$\sigma_{\text{máx}}$ (kPa)
1[LA:HA]70:30pH3	2862± 156	220	1,65± 0,34	5,27± 1,22
1[LA:HA]50:50pH3	7382± 980	219	2,03± 0,55	6,49± 0,78
1[LA:HA]30:70pH3	10533± 1256	223	1,97± 0,22	6,26± 1,34
1[LA:HA]70:30pH4	10135± 1144	239	2,22± 0,76	7,07± 1,55
1[LA:HA]50:50pH4	13825± 980	238	2,33± 0,65	7,42± 0,87
1[LA:HA]30:70pH4	14697± 768	237	2,85± 0,44	9,09± 1,90
1[LA:HA]70:30pH8	--	236	6,70± 1,02	21,33± 2,76
1[LA:HA]50:50pH8	2848± 145	232	5,72± 0,67	18,22± 2,44
1[LA:HA]30:70pH8	2226± 267	229	3,24± 1,12	10,32± 3,09

Fonte: O autor, 2017.

Ao analisar a Tabela 23, pode-se observar que todas as amostras apresentaram redução na resistência térmica em comparação as gelanas LA e HA, porém as amostras em pH 8 apresentaram as maiores tensões máximas de compressão e as menores capacidades de intumescimento devido a menor flexibilidade de suas redes poliméricas. A amostra **1[LA:HA] 30:70pH 4**, apesar de ter sua resistência térmica reduzida em torno de 10°C em relação as gelanas individuais, parece ser a mais indicada para testes específicos de liberação controlada de herbicidas ou condicionamento de solos, por exemplo. As amostras **1[LA:HA] 50:50pH 8** e **1[LA:HA] 30:70pH 8** apresentam as maiores tensões máximas de compressão de todo o trabalho, porém, para uma aplicação como a liberação controlada de herbicidas, o

tempo de utilização do hidrogel pode ser reduzido devido a sua baixa capacidade de intumescimento em relação a outros hidrogéis.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre as amostras preparadas nesta Tese, os resultados mostraram que todos os hidrogéis se comportaram como materiais superabsorventes, pois o grau de intumescimento ficou acima de 1000%. Além disso, quando comparadas às gelanas puras, verificou-se que houve pouca variação da resistência térmica entre as amostras de hidrogel. Sendo assim, levando-se em consideração uma possível aplicação dos hidrogéis preparados nesta Tese, em liberação controlada de herbicidas, considerou-se como melhor amostra a **1[LA:HA] 30:70 pH 4**, preparada a partir da mistura das gelanas, aplicando-se o método II, nas seguintes condições:

- Concentração de gelanas = 1,0 %
- Razão LA:HA = 30:70
- pH 4

Essa amostra foi escolhida entre todas as outras preparadas nessa Tese por diferentes metodologias por apresentar elevada capacidade de intumescimento (14697%) e tensão máxima a compressão de 9,09 kPa que, de acordo com a literatura (Evangeliou et al., 2010), parecem atender os requisitos quanto a liberação gradativa de fluidos e resistência mecânica de hidrogéis para liberação controlada de herbicidas. De todas as amostras preparadas nessa Tese foi a que apresentou um equilíbrio entre sua capacidade de intumescimento e sua tensão máxima a compressão.

As amostras 1[LA:HA] 50:50 Ca e 1[LA:HA] 30:70 Ca obtidas pelo método I a partir da mistura de gelanas também apresentaram valores de intumescimento e tensão máxima de compressão significativos (Tabela 17), porém a relação entre os valores obtidos na amostra escolhida foram mais adequados para serem testados para liberação de herbicidas.

CONCLUSÕES

- As amostras preparadas com a gelana desacetilada (LA) nos métodos preliminares de variação de pH a temperatura a 25°C com adição de reticulante após aquecimento e variação do pH a 60°C com adição de reticulante após aquecimento apresentaram capacidade de intumescimento entre 6950 e 9500 %, valor de T_{onset} variando em 245 e 246°C, similar ao da gelana LA pura (245°C).
- Os hidrogéis preparados pelo método LA II – variação de pH a 85°C sem adição de reticulante, apresentou tensão máxima de compressão entre 9,4 kPa e 13,4 kPa, porém os valores de intumescimento foram baixos o que pode inviabilizar futuras aplicações.
- Nas amostras preparadas com a gelana altamente acetilada (HA) pela metodologia II em que foi estudada a variação do pH, os hidrogéis em pH 8 foram os que apresentaram maior resistência a compressão, porém a capacidade de inchamento foi reduzida.
- Nos hidrogéis preparados com gelana HA ajustando o pH antes ou após a adição do reticulante divalente CaCl_2 (métodos HA III e IV), as melhores amostras para futuros testes em sistemas de liberação controlada de herbicidas foram as obtidas em pH 4 na concentração de gelana de 1,0 % (m/v), pois apresentaram a melhor relação entre capacidade de intumescimento e resistência a compressão.
- Nas misturas de gelanas, as amostras preparadas pelo método I, com adição de agente reticulante divalente CaCl_2 , as amostras preparadas na concentração total de gelanas de 1,0% com proporções entre as gelanas LA/HA de 50/50 e 30/70 foram as que apresentaram a melhor relação entre capacidade de intumescimento e resistência a compressão.
- Nos hidrogéis preparados pelo método II (estudo da variação de pH) de mistura de gelanas na concentração total de 1,0 %, as maiores resistência a compressão foram obtidas nas amostras preparadas em pH 8, independente da proporção entre as gelanas LA/HA na mistura. Entretanto, as capacidades de inchamento foram muito reduzidas em relação às amostras preparadas em pH 4, que apresentaram maior equilíbrio entre os valores de capacidade de intumescimento e resistência a compressão, sendo a amostra preparada na proporção entre gelanas LA/HA de 30/70 a escolhida como a amostra que

pode apresentar os melhores benefícios quando em aplicação em sistemas de liberação controlada de herbicidas e condicionamento de solos.

REFERÊNCIAS

- ABRAMOVIC, H.; KLOFUTAR, C. Water adsorption isotherms of some gellan gum samples. *J. Food Eng.*, v.77, p.514-520, 2006.
- AGNELLO, S. et al. Synthesis, mechanical and thermal rheological properties of new gellan gum derivatives. *Int. J. Biol. Macromol.*, v.98, p.646-653, 2017.
- AGNIHOTRI, S. A.; JAWALKAR, S. S.; AMINABHAVI, T. M. Controlled release of cephalixin through gellan gum beads: Effect of formulation parameters on entrapment efficiency, size and drug release. *Eur. J. Pharm. and Biopharm.*, v.63, p.249-261, 2006.
- AHMED, E. M. Hydrogel: Preparation, characterization and applications: A review. *J. Adv. Res.*, v.6, p.105-121, 2015.
- ANSETH, K. S.; BOWMAN, N. C.; BRANNON-PEPPAS, L., Mechanical Properties of hydrogels and their experimental determination. *Biomaterials*, v.17, p.1647-1657, 1996.
- AOUADA, F. A. *Síntese e Caracterização de hidrogéis de poliacrilamida e metilcelulose para liberação controlada de pesticidas*. 2009. 141f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia – Departamento de Química - Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2009.
- BAJAJ, I. B. et al. Gellan Gum: Fermentative Production, Downstream Processing and Applications. *Food Technol. Biotechnol.*, v.45, p.341-54, 2007.
- BANIK, R. M.; KANARI, B.; UPADHYAY, S. N. Exopolysaccharide of the gellan family: prospects and potential. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, v.16, p.407-414, 2000.
- BAYARRI, S.; COSTELL. E.; DURÁN, L. Influence of low sucrose concentrations on the compression resistance of gellan gum gels. *Food Hydrocoll.*, v.16, p.593-597, 2002.
- BRADBEER, J. F. et al. Self-structuring foods based on acid-sensitive low and high acyl mixed gellan systems to impact on satiety. *Food Hydrocoll.*, v.35, p.522-530, 2014.
- BRANNON-PEPPAS, L.; PEPPAS, N. A. Dynamic and equilibrium swelling behaviour of pH-sensitive hydrogels containing 2-hydroxyethyl methacrylate. *Biomaterials*, v.11, p.635-644, 1990.
- BRETAS, R. E. S.; D'AVILA, M. A. *Reologia de polímeros fundidos*. 2. ed. São Paulo: Edufscar, 2005.
- CAGGIONI, M. et al. Rheology and microrheology of a microstructured fluid: The gellan gum case. *J. Rheol.*, v.51, n.5, p.851-865, 2007.
- CAMELIN, I. et al. Effect of chelating agents on gellan gel rheological properties and setting temperature for immobilization of living bifidobacteria. *Biotechnol. Prog.*, v.9, n.3, p.291-297, 1993.

CAMPOS, E, V, R. et al. Polysaccharides as safer release systems of agrochemicals. *Agron.Sustain. Dev.*, v.35, p.47-66, 2015.

CARDOSO, V. M. O. et al. Development and characterization of cross-linked gellan gum and retrograded starch blend hydrogels for drug delivery applications. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, v.65, p.317-333, 2017.

CHANDRASEKARAN. R.; MILLANE, R. P.; ARNOTT, S. The crystal structure of gellan. *Carbohydr. Res.*, v.175, p.1-15, 1988.

CHANDRASEKARAN. R.; THAILAMBAL. V. G. The influence of calcium ions, acetate and L-glycerate groups on the gellan double-helix. *Carbohydr. Polym.*, v.12, p.431-442, 1990.

CHANDRASEKARAN. R.; RHADA, A.; THAILAMBAL. V. G. Roles of potassium ions, acetyl and L-glyceryl groups in native gellan double helix: an X-ray study. *Carbohydr. Res.*, v.224, p.1-17, 1992.

CHANDRASEKARAN. R.; RHADA. Molecular architectures and functional properties of gellan gum and related polysaccharides. *Trends Food Sci. Technol.*, v.6, p.143-148, 1995.

COUTINHO, D. F. et al. Modified Gellan Gum hydrogels with tunable physical and mechanical properties. *Biomaterials*, v.31, p.7494-7502, 2010.

DAI, L. et al. Concentration dependence of critical exponents for gelation in gellan gum aqueous solutions upon colling. *Eur. Polym. J.*, v.44, p.4012-4019, 2008.

DAI, N. Preparation methods and properties of hydrogel: A review. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, v.5, n. 3, p.112-117, 2013.

DAS, L.; LIU, X.; TONG, Z. Critical behavior at sol-gel transition in gellan gum aqueous solutions with KCl and CaCl₂ of different concentrations. *Carbohydr. Polym.*, v.81, p.207-212, 2010.

DE JONG, S.; VAN DE VELDE, F. Charge density of polysaccharide controls microstructure and large deformation properties of mixed gels. *Food Hydrocoll.*, v.21, p.1172-1187, 2007.

DE SILVA, D. A. et al. Mechanical characteristics of swollen gellan gum hydrogels. *J. Appl. Polym. Sci.*, v.130, p.3374-3383, 2013.

DELIGKARIS, K. et al. Hydrogel-based devices for biomedical applications. *Sens. Actuators, B*, v.147, p.765-774, 2010.

EVANGELIOU, et al. Compression of gellan gels. Part II: Effect of sugars. *Food Hydrocoll.*, v.24, p.392-397, 2010.

EVANGELIOU, V.; SALIARI, D. Limonene encapsulation in freeze dried gellan systems. *Food Chem.*, v.223, p.72-75, 2017.

FAN, Y. et al. Preparation and Characterization of gellan gum microspheres containing a cold-adapted β -galactosidase from *Rahnella* sp. R3. *Carbohydr. Polym.*, v.162, p.10-15, 2017.

FERRIS, J. C. et al. Modified gellan gum hydrogels for tissue engineering applications. *Soft Matter.*, v.9, p.3705-3711, 2013.

FLORES-HUICOCHEA, E.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, A. I.; ESPINOSA-SOLARES, T.; TECANTE, A. Sol-gel transition temperatures of high acyl gellan with monovalent and divalent cations from rheological measurements. *Food Hydrocoll.*, v.31, p.299-305, 2013.

FUNAMI, T. et al. Molecular structures of gellan gum imaged with atomic force microscopy in relation to the rheological behavior in aqueous systems in the presence or absence of various cations. *J. Agric. Food Chem.*, v.56, p.8609-8618, 2008.

FUNAMI, T. et al. Molecular structures of gellan gum imaged with atomic force microscopy (AFM) in relation to the rheological behavior in aqueous systems in the presence of sodium chloride. *Food Hydrocoll.*, v.23, p.548-554, 2009.

GAO, C. H. Unique rheology of high acyl gellan gum and its potential applications in enhancement of petroleum production. *J. Pet. Explor. Prod. Technol.*, v.6, p.743-747, 2016.

GARCIA, M. C.; ALFARO, M. C.; MUNÓZ, J. Rheology of sheared gels based on low acyl-gellan gum. *Food. Sci. Technol. Int.*, v.4, p.325-332, 2015.

GONÇALVES, V. M. F. *Caracterização de Heteropolissacarídeos por Espectrometria de Massa*. 2007. 127f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Química dos alimentos)– Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 2007.

GRASDALEN, H.; SMIDSRØD, O. Gelation of gellan gum. *Carbohydr. Polym.*, v.7, p.371-393, 1987.

GUILHERME, M. R. et al. Superabsorbent hydrogels based on polysaccharides for application as agricultural soil conditioner and nutrient carrier: A review. *Eur. Polym. J.*, v.72, p.365-385, 2015.

GYLES, D. A. et al. A review of the designs and prominent biomedical advances of natural and synthetic hydrogel formulations. *Eur. Polym. J.*, v.88, p.373-392, 2017.

HAMCERENCU, M. et al. Synthesis and characterization of new unsaturated esters of Gellan Gum. *Carbohydr. Polym.*, v.71, p.92-100, 2008.

HIREMATH, J. N.; VISHALAKSHI, B. Swelling studies of pH and salt responsive ethylene glycol dimethacrylate crosslinked gellan gum and sodium alginate gels. *Int. J. Pharmtech Res.*, v.5, n.2, p.657-669, 2013.

HOFFMAN, A. S. Hydrogels for biomedical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v.54, p.3-12, 2001.

HOFFMAN, A. S. Hydrogels for biomedical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v.64, p.18-23, 2012.

HORINAKA, J. et al. Effect of pH on the conformation of gellan chains in aqueous systems. *Biophys. Chem.*, v.111, p.223-227, 2004.

- HUANG, Y. et al. Effect of calcium concentration on textural properties of high and low acyl mixed gellan gels. *Carbohydr. Polym.*, v.54, p.517-522, 2003.
- HUANG, Y. et al. Gelling temperatures of high acyl gellan as affect by monovalent and divalent cations with dynamic rheological analysis. *Carbohydr. Polym.*, v.56, p.27-33, 2004.
- HUANG, Y. et al. Flow behaviors of high acyl gellan aqueous solutions as affected by temperature, and calcium and gellan concentrations. *Int. J. Food Eng.*, v.4, n.5, p.1-19, 2008.
- ISMAIL, N. A. et al. Evaluation of gellan gum film containing virgin coconut oil for transparent dressing materials. *Adv. Biomaterials*, p.1-13, 2014.
- IKEDA, S. et al. Atomic force microscopy studies on cation-induced network formation of gellan. *Food Hydrocoll.*, v.18, p.727-735, 2004.
- KANG, D. et al. Bio-inspired composite films with integrative properties based on the self-assembly of gellan gum-graphene oxide crosslinked nanohybrid building blocks. *Carbon 91*, p.445-457, 2015.
- KASAPIS, S. et al. Structural aspects and phase behaviour in deacylated and high acyl gellan systems. *Carbohydr. Polym.*, v.38, p.145-154, 1999.
- KARTHIKA, J. S.; VISHALAKSHI, B. Synthesis, swelling behaviour, salt- and pH-sensitivity of crosslinked gellan gum-graft-poly (acrylamide-co-itaconic acid) hydrogels. *Derpharma Chem.*, v.5, n.2, p.185-192, 2013.
- KARTHIKA, J. S.; VISHALAKSHI, B. pH responsive gels of gellan gum and carboxymethyl cellulose: Matrix for Ketoprofen delivery. *Int. J. Chemtech Res.*, v.6, n.2, p.1055-1069, 2014.
- KIRCHMAJER, D. M. et al. Enhanced gelation properties of purified gellan gum. *Carbohydr. Res.*, v.388, p.125-129, 2014.
- KUO, M.; MORT, A. J. Identification and location of L-glycerate, an unusual acyl substituent in gellan gum. *Carbohydr. Res.*, v.156, p.173-187, 1986.
- LAU, M. H.; TANG, J.; PAULSON, A. T. Texture profile and turbidity of gellan/gelatin mixed gels. *Food Res. Int.*, v.33, p.665-671, 2000.
- LAU, M. H.; TANG, J.; PAULSON, A. T. Effect of polymer ratio and calcium concentration on gelation properties of gellan/gelatin mixed gels. *Food Res. Int.* v.34, p.879-886, 2001.
- LAZARO, N. et al. Heavy metal biosorption by gellan gum gel beads. *Water Res.*, v.37, p.2118-2126, 2003.
- LEE, M. et al. Photocrosslinkable gellan gum film as an anti-adhesion barrier. *Carbohydr. Polym.*, v.90, p.1132-1138, 2012.
- LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. *Quim. Nova*, v.27, n.4, p.670-673, 2004.

LORENZO, G.; ZARITZKY, N.; CALIFANO, A. Rheological analysis of emulsion-filled gels based on high acyl gellan gum. *Food Hydrocoll.*, v.30, p.672-680, 2013.

MACHADO, J. C. V. *Reologia e escoamento de fluidos – Ênfase na indústria do petróleo*. 1. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2002.

MATHIAS, et al. Avaliação do comportamento reológico de diferentes iogurtes comerciais. *Braz. J. Food Technol.*, v.16, n.1, p.12-20, 2013.

MAO, R.; TANG, J; SWANSON, B. G. Effect of pH buffers on mechanical properties of gellan gels. *J. Texture Stud.*, v.30, p.151-166, 1999.

MAO, R.; TANG, J; SWANSON, B. G. Texture properties of high and low acyl mixed gellan gels. *Carbohydr. Polym.*, v.41, p.331-338, 2000.

MATRICARDI, P. et al. Preparation and Characterization of Novel Gellan Gum Hydrogels Suitable for Modified Drug Release. *Molecules*, v.14, p.3376-3391, 2009.

MILAS, M; RINAUDO, M. The gellan sol-gel transition. *Carbohydr. Polym.*, v.30, p.177-184, 1996.

MOHAMMED, H. M. et al. Development of mucoadhesive sprayable gellan gum fluids gels. *Int. J. Pharm.*, v.488, p.12-19, 2015.

MORITAKA, H. et al. Effects of pH, potassium chloride, and sodium chloride on the thermal and rheological properties of gellan gum gels. *J. Agric. Food Chem.*, v.43, p.1685-1689, 1995.

MORRIS, E. R. et al. Conformational and rheological transitions of welan, rhaman and acylated gellan. *Carbohydr. Polym.*, v.30, p.165-175, 1996.

MORRIS, E. R. et al. Gelation of gellan – A review. *Food Hydrocoll.*, v.28, p.373-411, 2012.

MURILLO-MARTÍNEZ, M. M.; TECANTE, A. Preparation of the sodium salt of high acyl gellan and characterization of its structure, thermal and rheological behaviors. *Carbohydr. Polym.*, v.108, p.313-320, 2014.

NAKAJIMA, K. et al. Observation of gellan gum by scanning tunneling microscopy. *Carbohydr. Polym.*, v.30, p.77-81, 1996.

NICKERSON, M. T.; PAULSON, A. T.; SPEERS, R. A. Rheological properties of gellan solutions: effect of calcium ions and temperature on pre-gel formation. *Food Hydrocoll.*, v.17, p.577-583, 2003.

NISHINARI, K. et al. Rheological and DSC studies on the interaction between gellan gum and konjac glucomannan. *Carbohydr. Polym.*, v.30, p.193-207, 1996.

NISHINARI, K. et al. Hydrocolloids gels of polysaccharides and proteins. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, v.5, p.195-201, 2000.

- NOVAC, O. et al. Antibacterial quaternized gellan gum based particles for controlled release of ciprofloxacin with potential dermal applications. *Mater. Sci. Eng. C*, v.35, p.291-299, 2014.
- OGAWA, E. Osmotic pressure measurements for gellan gum aqueous solutions. *Food Hydrocoll.*, v.7, n.5, p.397-405, 1993.
- OGAWA, E. Conformational transition of polysaccharide sodium-gellan gum in aqueous solution. *Macromolecules*, v.29, p.5178-5182, 1996.
- OGAWA, E.; MATSUZAKA, H.; IWAHASHI, M. Conformational transition of gellan gum of sodium, lithium and potassium types in aqueous solutions. *Food Hydrocoll.*, v.16, p.1-9, 2002.
- OGAWA, E. et al. Thermally induced coil-to-helix transition of sodium gellan gum with different molar masses in aqueous salt solutions. *Biopolymers*, v.79, p.207-217, 2005.
- OGAWA, E. et al. Effects of molar mass on the coil to helix transition of sodium-type gellan gums in aqueous solutions. *Food Hydrocoll.*, v.20, p.378-385, 2006.
- OKIROR, P. G.; JONES, C. L. Effect of temperature on the dielectric properties of low acyl gellan gel. *J. Food Eng.*, v.113, p.151-155, 2012.
- OVIEDO, I. R. et al. Design of a physycal and nontoxic crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogel. *Int. J. Polym. Mater.*, v.57, p.1095-1103, 2008.
- PANDEY, V. S. et al. Studies on graft copolymerization of gellan gum with N,N-dimethylacrylamide by the redox system. *Int. J. Bio. Macromol.*, v.70, n.10, p.108-115, 2014.
- PEPPAS, N. A.; KHARE, A. R. Preparation, structure and diffusional behavior of hydrogels in controlled release. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v.11, p.1-35, 1993.
- PEREIRA, D. R. et al. Development of gellan gum-based microparticles/hydrogel matrices for application in the intervertebral disc degeneration. *Tissue Eng. Part C*, v.17, n.10, p.961-972, 2011.
- PICONE, C. S. F.; CUNHA, R. L. Influence of pH on formation and properties of gellan gels. *Carbohydr. Polym.*, v.84, p.662-668, 2011.
- PICONE, C. S. F. *Influência da conformação da gelana sobre a gelificação das proteínas do leite*. 2008. 161f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos – Departamento de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2008.
- PRADELLA, J. G. C. Biopolímeros e Intermediários Químicos. *Centro de Gestão e Estudos Estratégicos*, São Paulo, 2006.
- PRAJAPATI, et al. An insight into the emerging exopolysaccharide gellan gum as a novel polymer. *Carbohydr. Polym.*, v.93, p.670-678, 2013.

QUINN, F. X. et al. The conformational properties of gellan gum hydrogels. *Polym. Gels Netw.*, v.1, p.93-114, 1993.

RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, A. I. et al. Rheology structure properties of gellan systems: evidence of network formation at low gellan concentrations. *Food Hydrocoll.*, v.17, p.621-628, 2003.

RINAUDO, M. Relation between the molecular structure of some polysaccharides and original properties in sol and gel states. *Food Hydrocoll.*, v.15, p.433-440, 2001.

RINAUDO, M. Role of substituents on the properties of some polysaccharides. *Biomacromolecules*, v.5, p.155-1165, 2004.

SABADINI, R. C. *Redes poliméricas de macromoléculas naturais como hidrogéis superabsorventes*. 2015. 150f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Química – Departamento de Físico-Química - Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2015.

SARTORI, C.; FINCH, D. S.; RALPH, B. Determination of the cation content of alginate thin films by FTIR spectroscopy. *Polym. J.*, v.38, n.1, p.43-51, 1997.

SEBRI, N. J. M.; AMIN, K. A. M. Slow drug release of encapsulated ibuprofen in cross-linked hydrogel for tissue engineering application. *Aust. J. Basic & Appl. Sci.*, v.9, n.8, p.48-52, 2015.

SHAH, D. P.; JANI, G. K. A new application of physically modified gellan gum in tablet formulation using factorial design. *Acta Pharm.*, v.51, n.1, p.28-40, 2010.

SHARMA, M. et al. Effect of hydrocolloid type on texture of pureed carrots: Rheological and sensory measures. *Food Hydrocoll.*, v.63, p.478-487, 2017.

SHIN, H. et al. The mechanical properties and cytotoxicity of cell-laden double-network hydrogels based on photocrosslinkable gelatin and gellan gum biomacromolecules. *Biomaterials*, v.33, p.3143-3152, 2012.

SINGH, B. N.; KIM, K. H. E. Effects of divalent cations on drug encapsulation efficiency of deacylated gellan gum. *J. Microencapsul.*, v.22, n. 7, p.761-771, 2005.

SILVERSTEIN, R. M., WEBSTER, F. X. *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2000

SINGH, R. et al. Solid gellan gum polymer electrolyte for energy application. *Int. J. Hydrog. Energy*, v.40, p.9365-9372, 2015.

SMITH, B. C. *Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach*. CRC Press, 1999.

SWORN, G. Gellan Gum (2009). In: Phillips, G.O. & Willians, P.A. (Ed.). *Handbook of hydrocolloids*. Woodhead Publishing Limited, p.204 – 226

TAKAHASHI, R. et al. Solution properties of gellan gum: Change in chain stiffness between single- and double-stranded chains. *Biomacromolecules*, v.5, p.516-523, 2004.

- TAKO, M. et al. Molecular origin for rheological characteristics of native gellan gum. *Colloid Polym. Sci.*, v.287, p.1445-1454, 2009.
- TAKO, M. et al. Structure-function relationship of a gellan family of polysaccharide, S-198 gum, produced by *alcaligenes* ATCC31853. *Adv. Biol. Chem.*, v.6, p.55-69, 2016.
- TANG, J. et al. Polymer and ion concentration effects on gellan gel strength and strain. *J. Food Sci.*, v.59, n.1, p.216-220, 1994.
- TANG, J.; TUNG, M. A.; ZENG, Y. Compression strength and deformation of gellan gels formed with mono and divalent cations. *Carbohydr. Polym.*, v.29, n.1, p.11-16, 1996.
- TANG, J.; TUNG, M. A.; ZENG, Y. Characterization of gellan gels using stress relaxation. *J. Food Eng.*, v.38, p.279-295, 1998.
- TOTOSAUS, A.; PÉREZ-CHABELA, M. L.; Textural properties and microstructure of low-fat and sodium-reduced meat batters formulated with gellan gum and dicationic salts. *J. Food Eng.*, v.38, p.279-295, 1998.
- ULLAH, F. et al. Classification, processing and application of hydrogels: A review. *Mater. Sci. Eng. C*, v.57, p.414-433, 2015.
- UPSTILL, C. et al. Helical conformations of gellan gum. *Int. J. Bio. Macromol.*, v.8, p.1-14, 1986.
- VALLI, R.; CLARK, R. Gellan Gum (2010). In: Alan Imeson (Ed.). *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents*. Wiley Blackwell, p.145 – 166
- VERMA, A. K.; PANDIT, J. K. Rifabutin-loaded floating gellan gum beads: Effect of calcium and polymer concentration on incorporation efficiency and drug release. *Trop. J. Pharm. Res.*, v.10, n.1, p.61-67, 2011.
- VERMA, S. K.; PANDEY, V. S.; BEHARI, M. Y. K. Gellan gum-g-N-Vinyl-2-pyrrolidone: Synthesis, swelling, metal ion uptake and flocculation behavior. *Int. J. Biol. Macromol.*, v.72, p.1292-1300, 2015.
- VILELA, J. A. P.; CUNHA, R. L. High acyl gellan as an emulsion stabilizer. *Carbohydr. Polym.*, v.139, p.115-124, 2016.
- VILELA, J. A. P.; CUNHA, R. L. Emulsions stabilized by high acyl gellan and KCl. *Food Res. Int.*, v.91, p.47-54, 2017.
- WANG, F.; WENG, Y.; BAI, T. Thermal behavior of polyvinyl alcohol-gellan gum-Al⁺³ composite hydrogels with improved network structure and mechanical property. *J. Therm. Anal. Calorim.*, v.127, p.2447-2454, 2017.
- YAMAMOTO, F. *Reologia e microestrutura de géis ácidos de gelana*. 2006. 131f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos – Departamento de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2006.

YAMAMOTO, F.; CUNHA, R. L. Acid gelation of gellan: Effect of final pH and heat treatment conditions. *Carbohydr. Polym.*, v.68, p.517-527, 2007.

YANG, L.; PAULSON, A. T.; NICKERSON, M. T. Mechanical and physical properties of calcium-treated gellan films. *Food Res. Int.*, v.43, p.1439-1443, 2010.

ZHANG, Y. et al. Gelcasting of alumina suspension using gellan gum as gelling agent. *Ceram. Int.*, v.40, p.5715-5721, 2014.

ZHANG, N. et al. Factors affecting water resistance of alginate/gellan blend films on paper cups for hot drinks. *Carbohydr. Polym.*, v.156, p.435-442, 2017.

APÊNDICE – Produção bibliográfica

Os resultados produzidos nesta Tese deram origem aos seguintes trabalhos científicos:

Trabalho publicado em periódico internacional

Souza, Flavio Silva De; Ferreira, Ivana Lourenço De Mello; Costa, Marcos Antonio Da Silva; Lima, Ana Luiza Ferreira De; Costa, Marcia Parente Melo Da; Silva, Gustavo Monteiro Da. *Evaluation of different methods to prepare superabsorbent hydrogels based on deacetylated gellan*. Carbohydrate Polymers, v. 148, p. 309-317, 2016. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.04.019.

Trabalho submetido para publicação em periódico internacional

Flavio Silva de Souza, Ivana Lourenço de Mello Ferreira, Marcos Antonio da Silva Costa, Ana Luiza Ferreira de Lima, Marcia Parente Melo da Costa, Gustavo Monteiro da Silva. *Evaluation of pH modification and crosslinker absence in gelling mechanism of high acyl gellan hydrogels*. Food Hydrocolloids – Submetido em 04 de setembro de 2017.

Trabalho apresentado em congresso

Flavio S. de Souza, Ivana L. M. Ferreira, Marcos A. S. Costa. *Hidrogéis à base de gelana desacetilada* – 14º Congresso Brasileiro de Polímeros, Águas de Lindóia, de 22 a 26 de outubro/2017.