



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
PRÓ- REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
CAMPUS MINISTRO REIS VELLOSO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**ANA KAROLINNE ANASTACIO DE SOUSA**

**QUATERNIZAÇÃO DA GOMA DO ANGICO (*Anadenanthera colubrina* var. *cebil*  
(Griseb.) Altschul: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

**PARNAÍBA  
2017**

**ANA KAROLINNE ANASTACIO DE SOUSA**

**QUATERNIZAÇÃO DA GOMA DO ANGICO (*Anadenanthera colubrina* var. *cebil*  
(Griseb.) Altschul: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Linha de Pesquisa: Biotecnologia

Orientador: Dr<sup>a</sup> Durcilene Alves da Silva  
Co-Orientador: Dr<sup>o</sup> Patrick Vêras Quelemes

PARNAÍBA  
2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA  
SETORIAL PROF. CÂNDIDO ATHAYDE – CAMPUS PARNAÍBA

S725q Sousa, Ana Karolinne Anastacio de.

Quartenização da goma do angico (*anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altschul): avaliação da atividade antimicrobiana. / Ana Karolinne Anastacio de Sousa. – Parnaíba: 2017.

48f.

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia - Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, 2017.

Orientação: Prof. Dr<sup>a</sup>. Durcilene Alves da Silva.

1. Biotecnologia 2. Goma do angico 3. Atividade Antimicrobiana. 4. Aplicação Biomédica. 5. Quaternização,. I. Título.

CDD: 660.6

ANA KAROLINNE ANASTACIO DE SOUSA

QUATERNIZAÇÃO DA GOMA DO ANGICO *Anadenanthera colubrina var. cebil* (Griseb.) Altschul E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Professora Dr<sup>a</sup> Durcilene Alves da Silva.

Universidade Federal do Piauí (Orientador)

---

Professor Dr. Patrick Vêras Queleães

Universidade Federal do Piauí (Co-Orientador)

---

Professora Dr<sup>a</sup>. Josy Antevêli Osajima Furtini

Universidade Federal do Piauí

## ***Agradecimento***

*À Deus, por ter me garantido serenidade, paciência e perseverança, guiando-me por caminhos desafiadores, abrindo-me as portas em todos os momentos em que precisava de luz, e colocando ao meu lado pessoas que sempre ajudaram a me levantar nos momentos onde a queda fez parte do aprendizado em minha jornada.*

*A minha orientadora Dr<sup>a</sup> Durcilene, pela imensa contribuição científica, e dedicação.*

*Aos profissionais e colegas de laboratório (Biotec/UFPI) pela ajuda prestada nestes 2 anos de convivência.*

*Aos meus colegas do Mestrado (Victor, Monialine, Xavier, Juniel, Jessiane, Juelina, Márcia, Stefanny, Beatriz, Abdias, Bruna, Raquel e Diva) pela amizade oferecida e por mostrar seus potenciais científicos como futuros grandes profissionais.*

*A minha família, principalmente minha mãe (Francisca) pela paciência e admiração pelos meus esforços diários e por acreditarem em meu trabalho.*

*A meu marido (Ronalty) e meus 2 filhos (Ana Júlia e Benjamin) por serem minhas fontes de aprendizagem, amor e carinho.*

*A Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior) pela concessão da bolsa de mestrado.*

**Muito obrigada!**

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> Árvore do Angico vermelho (A). Exsudado (B) e Polímero obtido do Exsudado do angico (C).....	15
<b>Figura 2.</b> Processo de quaternização com CCHPTA, processo de formação do anel epóxido seguido por eterificação.....	17
<b>Figura 3.</b> Artigos publicados de polissacarídeos com modificação catiônica.....	18
<b>Figura 4.</b> Polissacarídeos catiônicos e suas principais aplicações.....	19
<b>Figura 5.</b> Esquema geral da reação de quaternização.....	31
<b>Figura 6.</b> Espectro na região do infravermelho da goma do angico e dos seus derivados .....	32
<b>Figura 7.</b> Estrutura do envelope celular de <i>Staphylococcus ssp</i> .....	36
<b>Figura 8.</b> Atividade hemolítica da GA e de seus derivados quaternizados.....	39

## Lista de tabelas e quadros

<b>Quadro 1.</b> Modificação catiônica em gomas.....	25
<b>Tabela 1.</b> Síntese de derivados da Goma do angico quaternizada (GAQ).....	27
<b>Tabela 2.</b> Resultados obtidos do processo de quaternização e características químicas da GA e de seus derivados quaternizados.....	34
<b>Tabela 3.</b> Atividade antimicrobiana da goma do angico quaternizada pelos ensaios de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) frente às bactérias <i>S. aureus</i> ATCC 29213, <i>S. aureus</i> MRSA 43300 e <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228.....	37

## RESUMO

O angico da espécie *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altschul é encontrado em várias regiões do país, principalmente no cerrado e produz exsudato cuja composição apresenta grande quantidade de polissacarídeos (Paula, Budd e Rodrigues, 1997). As modificações químicas nos polissacarídeos podem ser ferramentas importantes para a obtenção de novos agentes antimicrobianos (Coutinho, Muzitano e Costa, 2008). O objetivo deste trabalho foi sintetizar a partir da goma do angico (GA) derivados catiônicos bem como avaliar o efeito da goma do angico e de seus derivados sobre bactérias do gênero *Staphylococcus*. A modificação da estrutura da goma foi verificada com emprego de espectroscopia de infravermelho pelo aparecimento de bandas em torno de  $1470\text{ cm}^{-1}$  atribuídas a ligação  $-\text{CH}$  do amônio quaternário e medidas de análise elementar confirmaram o aumento de porcentagem de nitrogênio para a goma quaternizada bem como os valores de Potencial zeta mais positivos. A biocompatibilidade sobre os eritrócitos foi verificada por meio de teste de hemólise. O melhor resultado foi encontrado para os derivados GAQ-A3 e GAQ-B com efeito bactericida para as bactérias *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. aureus* ATCC 29213 e *S. aureus* MRSA 43300 (GAQ-A3: CIM-CBM= 125-125  $\mu\text{g/mL}$ , 250-250  $\mu\text{g/mL}$  e 250-250  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente e GAQ-B: CIM-CBM= 62,5-62,5  $\mu\text{g/mL}$ , 250-250  $\mu\text{g/mL}$  e 250-250  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente). A biocompatibilidade e a atividade antiestafilocócica indicaram que os derivados são promissores como agente antibacteriano para aplicações biomédicas.

**Palavra-chave:** Goma do angico, quaternização, atividade antimicrobiana, aplicação biomédica



## ABSTRACT

The angico of the species *Anadenanthera colubrina* var. *Cebil* (Griseb.) Altschul is found in several regions of the country, mainly in the cerrado and produces exudate whose composition presents large amount of polysaccharides (Paula, Budd e Rodrigues, 1997). The chemical modifications in the polysaccharides can be important tools to obtain new antimicrobial agentes (Coutinho, Muzitano e Costa, 2008). The objective of this work was to synthesize from the angico gum cationic derivatives as well as to evaluate the effect of angico gum and its derivatives on bacteria of the genus *Staphylococcus*. The modification of the gum structure was verified using infrared spectroscopy by the appearance of bands around  $1470\text{ cm}^{-1}$  attributed to the -CH bond of the quaternary ammonium and elemental analysis measures confirmed the increase of percentage of nitrogen for well quaternized gum such as the most positive zeta potential values. The biocompatibility on erythrocytes was verified by hemolysis test. The best results was found for the derivates GAQ-A3 and GAQ-B with bactericidal effect of *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. aureus* ATCC 29213 and *S. aureus* MRSA 43300 (GAQ-A3: MIC-MBM = 125-125  $\mu\text{g} / \text{mL}$ , 250-250  $\mu\text{g} / \text{mL}$  and 250-250  $\mu\text{g} / \text{mL}$ , respectively and GAQ-B: MIC-CBM = 62.5-62.5  $\mu\text{g} / \text{mL}$ , 250-250  $\mu\text{g} / \text{mL}$  and 250-250  $\mu\text{g} / \text{mL}$ , respectively). Biocompatibility and antiesthetiococcal activity indicated that the derivatives are promising as an antibacterial agent for biomedical applications.

**Keywords:** Angico gum, quaternization, antimicrobial activity, biomedical application.

## SUMÁRIO

Lista de figuras.....	6
Lista de tabelas e quadros.....	7
RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
1.INTRODUÇÃO.....	12
2.OBJETIVOS.....	14
2.1 Objetivo geral.....	14
2.2 Objetivos específicos.....	14
3.FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....	15
3.1 Goma do angico e suas propriedades.....	15
3.2 Reação de quaternização.....	16
3.3 Aplicação dos polissacarídeos modificados.....	17
3.4 Análise da produção científica de 2000 a 2017 com polissacarídeos naturais modificados por agentes catiônicos.....	18
3.5 Gomas catiônicas e suas propriedades.....	20
3.6 Gomas catiônicas como agentes antimicrobianos.....	21
4.METODOLOGIA.....	24
4.1 Isolamento da goma do angico.....	24
4.2 Síntese de goma do angico quaternária.....	24
4.3 Espectroscopia do infravermelho, potencial zeta e análise elementar.....	25
4.4 Ensaio antimicrobiano.....	26
4.4.1 Determinação da Concentração inibitória e bactericida mínima (CIM e CBM) ....	26
4.5 Biocompatibilidade.....	27
4.6 Ensaio hemólise.....	27

<b>4.7 Análise estatística.....</b>	<b>27</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>28</b>
<b>5.1 Reação de quaternização .....</b>	<b>28</b>
<b>5.2 Espectroscopia na região do infravermelho.....</b>	<b>29</b>
<b>5.3 Potencial zeta.....</b>	<b>30</b>
<b>5.4 Análise elementar e o grau de substituição.....</b>	<b>30</b>
<b>5.5 Atividade antibacteriana.....</b>	<b>32</b>
<b>5.6 Atividade Hemolítica.....</b>	<b>34</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>37</b>
<b>7. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>38</b>

## 1. INTRODUÇÃO

As infecções por microrganismos patogênicos são de grande preocupação em muitos campos, particularmente em dispositivos médicos, medicamentos, superfícies hospitalares, equipamentos de restauração e cirurgia dentária, produtos de cuidados de saúde e aplicações higiênicas, sistemas de purificação de água, têxteis, embalagens e armazenamento de alimentos, ou aparelhos domésticos, aeronáuticos, etc. (Muñoz-Bonilla e Fernández-García, 2012). Os polissacarídeos devido às suas propriedades intrínsecas são empregados de maneira ampla e eficiente como agentes antimicrobianos e ganha um interesse crescente tanto do ponto de vista acadêmico como industrial.

Sabe-se que a atividade biológica dos polissacarídeos depende da sua estrutura molecular: composição do monossacarídeo, tipo de ligação glicosídica da cadeia principal, grau de substituição, grau de ramificação e conformação estrutural das cadeias principais. Tem crescido a atenção sobre a modificação molecular e a relação entre atividade biológica e a estrutura dos polissacarídeos. A introdução de grupos (iônicos ou catiônicos) com o apropriado grau de substituição pode potencializar as atividades biológicas (Ma et al., 2012).

As modificações químicas nos polissacarídeos podem ser ferramentas importantes para a obtenção de novos agentes antimicrobianos (Coutinho, Muzitano e Costa, 2008). Tem sido sugerido que os derivados dos polissacarídeos são biologicamente ativos, isso é atribuído a seus grupos hidroxila e à introdução de novos grupos substituintes como -SH, -COOH, -C-O- e -NH<sub>2</sub>, os quais podem mudar a estrutura dos polissacarídeos nativos e diminuir as ligações intramoleculares e intermoleculares (Chen et al., 2014).

A literatura reporta que os agentes catiônicos podem contribuir para a prevenção e tratamento de infecções cutâneas, particularmente aquelas causadas por bactérias do gênero *Staphylococcus*. O gênero *Staphylococcus* é compreendido por espécies de microorganismos extremamente importantes, como por exemplo, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*. Essas espécies colonizam uma parcela considerável da população humana (Olar et al., 2010; Gill et al., 2005). *S. aureus* é uma bactéria que comumente coloniza a pele e a mucosa humana sem causar problemas graves. No entanto, doenças graves que variam de leve a risco de vida podem ser desenvolvidas se a bactéria entrar no corpo. Estes incluem infecções de pele e feridas, eczema infectado, infecções por abscessos, infecções de válvulas cardíacas ou endocardite, pneumonia e infecção sangüínea ou bacteremia (Muñoz-Bonilla e Fernández-García, 2011). Alguns de *S. aureus* são resistentes ao antibiótico meticilina, *S. aureus* resistente a meticilina e muitas vezes requerem diferentes tipos de antibióticos para tratá-los.

*S. epidermidis*, apesar de ser um importante comensal, tem emergido como o patógeno mais significativo em infecções relacionadas ao implante de dispositivos médicos. Estas infecções são frequentemente de longa duração, difíceis de tratar e envolvem a formação de biofilme, que é considerada o fator mais importante na patogenicidade das infecções causadas por esta espécie (Hellmark et al., 2013; Iorio et al., 2012). Não menos importantes, fungos também apresentam importância do ponto de vista clínico, pois a proliferação deste fungo pode aparecer em pacientes em estados imunossuprimidos (AIDS, câncer, pacientes tratados com corticoides), que ficam com resistência à infecções diminuída.

O grupo de pesquisa o Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia (BIOTEC) do Piauí e colaboradores, tem explorado o potencial biotecnológico da Goma do Cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) (Silva et al., 2006; Araújo et al., 2012; Araújo et al., 2015; Dias et al., 2016; Bittencourt et al., 2016), espécie nativa da América tropical. Um dos trabalhos realizado nesse grupo de pesquisa envolveu a modificação por quaternização da goma do cajueiro (GCQ) por Quelemes et al. (2017) comprovando que a mesma apresenta características que a torna candidata viável para o desenvolvimento de biomateriais e dispositivos biotecnológicos por apresentar atividade bactericida contra o gênero *Staphylococcus*.

O angico vermelho (*Anadenanthera colubrina var. cebil* (Griseb.) Altschul), assim como o cajueiro é uma espécie típica do país e desperta interesse por suas propriedades ainda pouco exploradas. Visto que, na literatura não há relatos de modificação catiônica com a goma do angico, essa se torna uma área promissora para exploração de suas propriedades biológicas para posterior aplicação biomédica. E parafraseando o título de um artigo de Šimkovic em 2008, o que poderia ser mais verde do que polissacarídeos?

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

O objetivo do presente trabalho foi promover a quaternização da goma do angico e investigar seu potencial antimicrobiano.

### **2.2 Objetivos específicos**

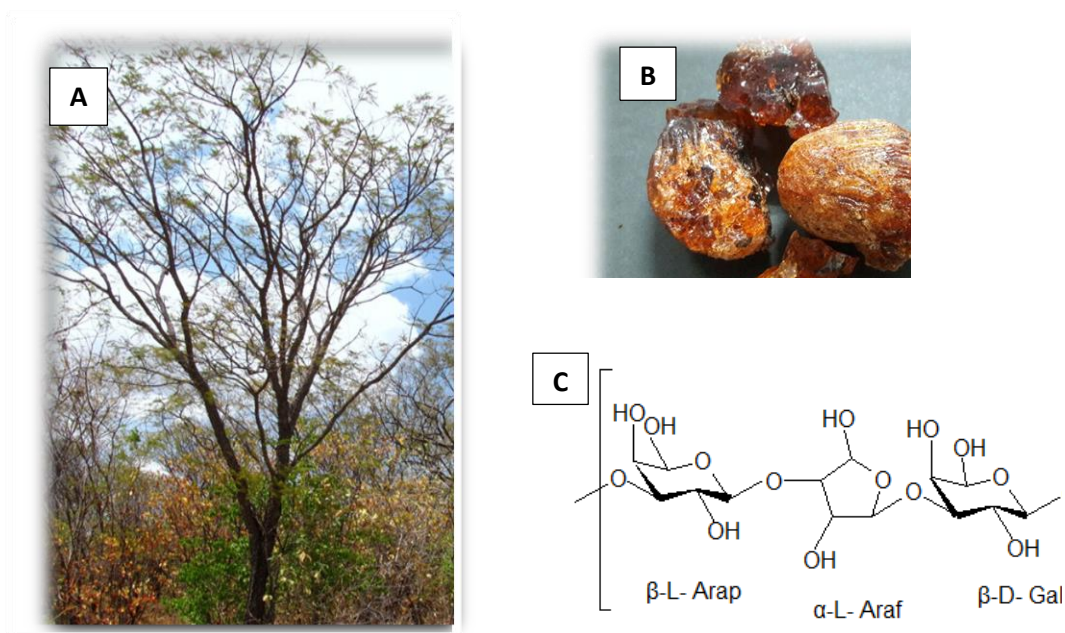
- Isolar e purificar a goma do angico.
- Modificar a goma do angico por meio de reação de quaternização utilizando amônio quaternário (Cloreto de 3-cloro-2- hidroxipropil trimetil amônio).
- Caracterizar por Espectroscopia do infravermelho, análise elementar e potencial zeta a goma do angico e seus derivados quaternizados.
- Avaliar a atividade antimicrobiana pela determinação das concentrações inibitórias e bactericidas mínimas sobre as bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* resistente a metilina e *Staphylococcus epidermidis*.
- Avaliar a biocompatibilidade da GA e de seus derivados quaternizados sobre hemácias.

### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Goma do angico e suas propriedades

O angico da espécie *Anadenanthera colubrina var. cebil* (Griseb.) Altschul (Figura 1A) é encontrado em várias regiões do país e principalmente no cerrado, produz exsudato cuja composição apresenta grande quantidade de polissacarídeos (De Paula, Budd e Rodrigues, 1997). A Árvore quando ferida produz no local da lesão uma resina amarela (Figura 1B), que é comestível e também usada para tratamento de irritações pulmonares. Dentre seu uso pela população, inclui-se a administração para tratamento de inflamação, gripe, dores, asma e tosse, bem como emprego na alimentação humana (resina) e curtimento de couro (Nascimento, 2008).

**Figura 1.** Árvore do Angico vermelho (A). Exsudado (B) e Polímero obtido da goma do Exsudado (C).



Fonte: autoria própria (2017)

Os polissacarídeos do exsudato do angico apresentam características de um heteropolissacarídeo sendo compostos de 67,8% de arabinose, 24,1% de galactose, 2,0% de ramnose e 5,9% de ácido glucurônico (Figura 1C), e apresentam grande potencial para aplicações biotecnológicas, seja por ser fonte de carboidratos complexos, seja por suas propriedades funcionais como sua capacidade de formar filmes e géis (Silva, Rodrigues e Paula, 1998). Possui uma larga distribuição de massa molar de  $MM = 3,7 \times 10^6$  g/mol e viscosidade intrínseca  $[\eta] = 11 \text{ cm}^3/\text{g}^{-1}$  (De Paula, Budd e Rodrigues, 1997).

Assim como a goma do cajueiro e a goma arábica, a goma do angico apresenta baixa viscosidade e menor grau de ramificação quando comparadas a outras gomas industriais (carboximetilcelulose, goma caraia, goma tragacanta, etc) (Silva, Rodrigues e Paula, 1998). Entre as propostas de aplicação para essa goma, destaca-se sua utilização na formação de nanopartículas através da sua complexação com quitosana (Oliveira et al., 2009; Paula et al., 2010) e fabricação de filmes biodegradáveis (Silva et al., 2013).

### **3.2 Reação de quaternização de polissacarídeos**

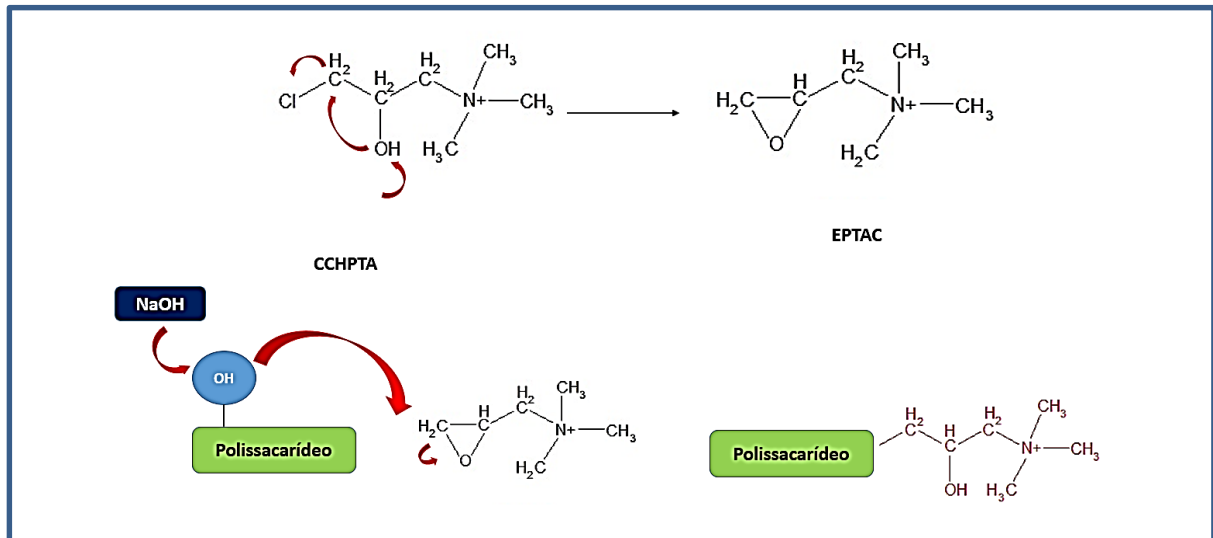
Nos últimos anos, uma atenção considerável tem sido dedicada às aplicações de polissacarídeos devido às suas propriedades únicas, como por exemplo... (Fan et al., 2012; Šimkovic, 2008; Crini, 2005; Edgar et al., 2001). Ebringerovh et al. (1994) já relatava a necessidade de aumentar a eficiência de utilização da biomassa e de novos polímeros biodegradáveis, através da modificação para adicionar ou modificar a funcionalidade do mesmo. Diferentes rotas de modificações para a inserção de grupos em polissacarídeos são propostas (Prado e Matulewicz, 2014). Os polissacarídeos possuem um grande número de grupos reativos (hidroxil e acetoamino), os quais permitem uma série de reações de substituição como esterificação, eterificação, acetilação e sulfatação.

Os reagentes mais utilizados reportados na literatura são o cloreto de 2,3-epoxipropiltrimetilamônio (Prado e Matulewicz, 2014) e cloreto de 3-cloro-2 hidroxipropiltrimetilamônio (Prado et al., 2011), pelo processo de substituição de grupos hidroxil por reação de eterificação. O segundo reagente é preferível por apresentar maior estabilidade e baixo custo comparado ao primeiro. Um esquema geral do processo de quaternização com o amônio quaternário (cloreto de 3-cloro-2 hidroxipropiltrimetilamônio-CCHPTA) pode ser visto na figura 2.

A síntese de um polissacarídeo quaternário por eterificação utilizando CCHPTA como agente de quaternização requer NaOH para a formação de EPTAC (cloreto de 2,3-epoxipropiltrimetilamônio), processo anterior a quaternização. A reação em meio alcalino envolve a conversão de um grupo hidroxil do polissacarídeo em um alcóxido. Íons do alcóxido atacam a extremidade R-Cl do CCHPTA e formam C-O-C (éter) (Wang e Wang, 2013).



**Figura 2.** Processo de quaternização com CCHPTA.



### 3.3 Aplicação de polissacarídeos catiônicos modificados

É incontenstável a utilização dos polissacarídeos devido seu baixo custo, biodegradabilidade e baixa toxicidade (Raveendran et al., 2013). Eles apresentam uma ampla gama de propriedades funcionais e estão encontrando inúmeras aplicações em alimentos, têxteis, tintas, cosméticos e produtos farmacêuticos (Geresh et al., 2000). Estruturalmente eles são compostos de múltiplas unidades de sacarídeos ligados uma à outra através de ligações glicosídicas e tem características que os diferenciam das outras famílias de biopolímeros (Dumitriu, 2004). Eles podem apresentar-se na forma neutra, como a goma guar, a celulose e o amido ou como polissacarídeo aniônico como os alginatos, goma do cajueiro, a carragenana, a gelana, xantana e caraia.

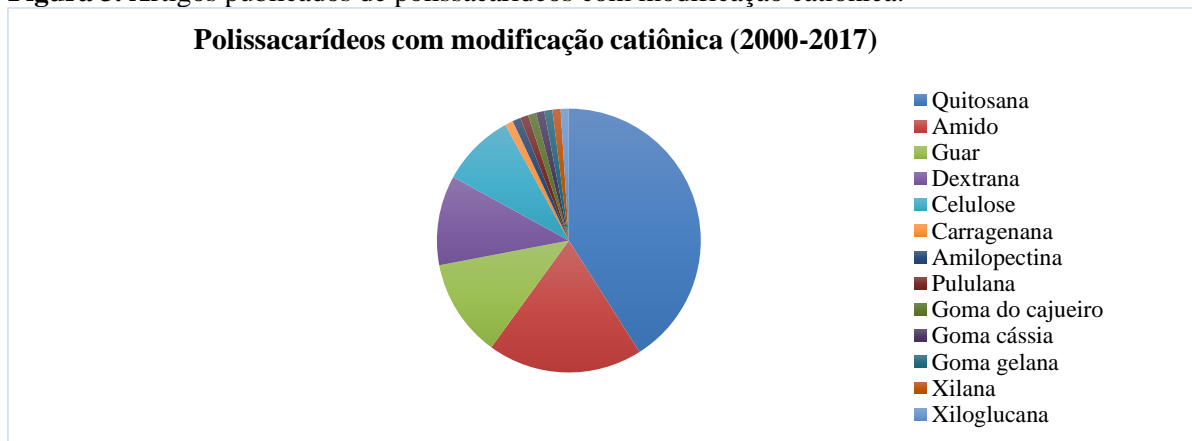
Os grupos aniônicos, geralmente presentes nestes polissacarídeos, são ácidos carboxílicos como ácidos glucurônico, galacturônico, manurônico ou grupos sulfatados como nas carragenanas (Aspinall, 1982; Kennedy e White, 1988).

Entende-se como polissacarídeos catiônicos, aqueles que apresentam grupos carregados positivamente, como grupos funcionais contendo amina ou amônio, imino, sulfônio ou fosfônio, por exemplo. Eles são funcionalmente usados em diversas áreas e aplicações para tratamento de efluentes, fabricação de papel, nas indústrias química, alimentícia, cosmética, farmacêutica, petróleo e têxtil, bem como em química analítica e na biologia molecular (Prado et al., 2011) são produtos comerciais de larga escala que são bastante utilizado devido suas características de biodegradabilidade e propriedades antibacteriana (Jiang et al., 2015; Pan et al., 2015, Grazadka et al., et al., 2015; Abdullan et al., 2015).

### 3.4 Análise da produção científica de 2000 a 2017 com polissacarídeos naturais modificados por agentes catiônicos

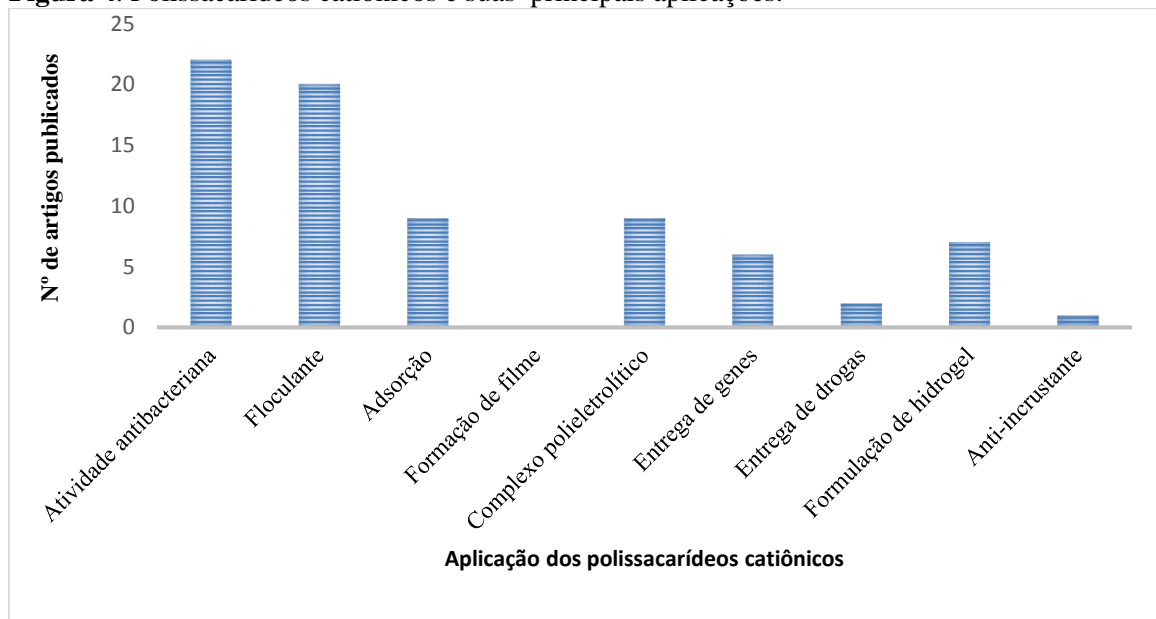
De acordo com o levantamento feito na base de dados *ScienceDirect* dentre os polissacarídeos naturais modificados destaca-se a quitosana, polímero linear obtido geralmente pela desacetilação alcalina da quitina com aproximadamente 44 dos artigos publicados durante os últimos 17 anos investigados. O segundo polissacarídeo mais modificado é o amido (19) seguido por goma guar (12), dextrana (11), celulose (9) entre outros (Figura 3).

**Figura 3.** Artigos publicados de polissacarídeos com modificação catiônica.



Fonte: autoria própria (2017).

Dentre os polissacarídeos apresentados a modificação catiônica foi realizada principalmente para aplicações como agentes floculantes, antibacterianos, formulação de hidrogéis e adsorventes (Figura 4), devido principalmente a sua variabilidade e versatilidade, associada com as suas estruturas complexas, que não foi encontrado em outras classes de polímeros (Coviello et al. 2007).

**Figura 4.** Polissacarídeos catiônicos e suas principais aplicações.

Fonte: autoria própria (2017).

De acordo com dados da literatura os polissacarídeos catiônicos foram investigados principalmente contra as bactérias *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) e a *Escherichia coli* (Gram-negativa) (Hu et al., 2016; Deng et al., 2012; Mohamed, Mohamed e Seoudi, 2014; Wen et al., 2015; Tang et al., 2015; Pan et al., 2015; Fan et al., 2015; Sang et al., 2015; Sen et al., 2017; Morkaew, Pinyakong e Tachaboonyakiat, 2017) e confirmada sua atividade antibacteriana pelo teste de inibição de crescimento (concentração inibitória mínima, concentração bactericida mínima ou cálculos do diâmetro da zona de inibição).

A segunda atividade mais explorada é seu uso como floculante polimérico para tratamento de águas residuais (Wang et al., 2009; Jiang et al., 2011). E também na formação de complexos eletrolíticos com polímeros aniônicos, para liberação de drogas (Izumrudov et al., 2013), adsorção (Li et al., 2004b), potencial vetor de genes, pela boa capacidade de ligação ao DNA (Lu et al., 2012), entre outros.

Outra característica desses polissacarídeos é quanto a formação de hidrogel. Hidrogéis são redes tridimensionais poliméricas hidrofílicas, capaz de reter grandes quantidades de água ou de fluidos biológicos (Peppas et al., 2006). Na sua capacidade para reter uma quantidade significativa de água, os hidrogéis são bastante semelhantes aos tecidos vivos naturais, tornando-os úteis para uma ampla variedade de aplicações biomédicas.

### 3.5 Gomas catiônicas e suas aplicações

As gomas são polímeros naturais, formados por unidades de monossacarídeos em arranjos lineares ou ramificados, pertencentes à classe dos carboidratos. São substâncias translúcidas, inodoras, insípidas, não tóxicas, hidrofílicas, amorfas, com propriedades coloidais, com funções espessantes, gelificantes, emulsificantes, estabilizantes e aglutinantes (Mirhosseini e Amid, 2013).

O termo "goma" é referido a um grupo de polissacarídeos que ocorrem naturalmente e que apresentam aplicações industriais diversificadas, devido à sua capacidade de formar gel ou tornar a solução viscosa ou atuar como estabilizantes (Williams e Phillips, 2000). Elas estão presentes em quantidades elevadas em animais, algas, fungos e outras fontes microbianas, participando de processos importantes como funções metabólicas ou estruturais (Vikas et al., 2011). Segundo Prajapati et al. (2013) as gomas podem ser classificadas de acordo com a carga, forma, comportamento de gelificação e estrutura química. São exemplos de gomas: goma guar, goma ghatti, goma xantana, goma arábica, goma caraia, goma gelana, carragenana, tragacanto, konjac, xyloglucana, dextrana entre outras.

A aplicação da goma guar catiônica e goma cássia catiônica como biofloculantes naturais foram apresentadas por Banerjee et al. (2013) e Banerjee et al. (2014) para a colheita de microalgas, visto que elas são pequenas e apresentam superfície carregada negativamente.

O desenvolvimento de membranas de hidrogel, um super-absorvente comercial foi apresentado por Huang et al. (2007a), afim de expandir as aplicações de materiais e formação de polieletrólito com potencial para carrear drogas. Enquanto Murali et al. (2014) e Rodríguez et al. (2003) destinaram a capacidade de formação de hidrogel da goma guar catiônica para o estudo dessa como sistema de liberação de fármacos (cloridrato de doxorubicina e ibuprofeno). Estudos com goma guar catiônica fluorada também foram reportados (Wang et al., 2014; Wang et al., 2013) para a obtenção de melhor solubilidade e comportamento reológico.

Polissacarídeos catiônicos também são candidatos adequados para a entrega de genes, por todas as características já citadas. Policátions e ácidos nucleicos carregados negativamente podem espontaneamente formar nanocomplexos por interação eletrostática, que em condições alcalinas condensam DNA em estruturas compactas, como o que foi obtido com dextrana catiônica (Yudovin-Farber e Domb, 2007; Thomas, Rekha e Sharma, 2010).

A introdução de grupos iônicos na cadeia glicosídica leva à obtenção de derivados solúveis em água, como a inserção de grupos amino ou amônio, como o realizado por Suflet et al. (2015) para formação de complexo polieletrólítico.

Xyloglucana é o principal polissacarídeo de armazenamento obtido das sementes de *Tamarindus indica*. Sua síntese catiônica e características físico-química foram investigadas para potencial aplicação como floculante eficiente para o tratamento de águas residuais da indústria têxtil (Pal et al., 2009), com resultados promissores. Simi e Abraham (2010) mostraram que xyloglucana modificada tem potencial aplicação na medicina e na biotônica devido a sua biodegradabilidade, características de hidrogel forte e com fluorescência azul característica.

### 3.6 Gomas catiônicas como agentes antimicrobianos

A maioria das paredes celulares bacterianas são carregadas negativamente, contendo fosfatidiletanolamina como componente principal. O mecanismo da ação bactericida dos biocidas policatitos envolve interação destrutiva com a parede celular e/ou membranas citoplasmáticas (Kenawy et al., 2002). Como sugerido pela literatura os polímeros contendo grupos de amônio quaternário são os tipos de biocidas poliméricos mais explorados.

As macromoléculas podem interagir de forma mais eficaz com a célula de bactérias Gram-positivas, uma vez que a sua camada externa de poliglicano está suficientemente embalada para facilitar a penetração profunda da cadeia polimérica dentro da célula para interagir com a membrana citoplasmática. Por outro lado, uma célula bacteriana Gram-negativa possui uma membrana adicional com uma estrutura de bicamada fosfolíidica, que protege a membrana citoplasmática interna em maior grau contra a ação adversa do biocida polimérico (Muñoz-Bonilla e Fernández-García, 2011).

Tendo em vista a necessidade de buscar agentes antibacteriano Quelemes et al. (2017) propôs a modificação da goma do cajueiro com amônio quaternário e seus derivados quaternizados com carga positiva em sua estrutura, promoveu uma aumento em sua atividade antimicrobiana. Os derivados quaternizados da goma do cajueiro apresentaram efeito antibacteriano contra linhagens sensíveis e resistentes do gênero *Staphylococcus*. A introdução de grupos amônio quaternário aumentou a solubilidade (Singh et al., 2010), e conferiu atividade antibacteriana. Outro ponto importante refere-se a biocompatibilidade, os derivados quaternizados da goma do cajueiro apresentaram biocompatibilidade com eritrócitos, queratinócitos e fibroblastos, tornando os derivados da goma do cajueiro quaternizado candidatos viáveis para o desenvolvimento de biomateriais e dispositivos biotecnológicos.

A goma gelana é um exopolissacarídeo desacetilado aniônico linear obtido por fermentação aeróbia de *Sphingomonas elodea*. Novac et al. (2014) produziram derivados de gelana quaternizados por exertia de cloreto de N- (3-cloro-2-hidroxiopropil) trimetilamônio em

grupos hidroxil primários da gelana, por substituição nucleofílica, em condições alcalina e investigou os derivados contra as bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* CTX-M-14, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 53153, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853). Acredita-se que polímeros contendo o amônio quaternário em suas cadeias apresentam maior interação com a parede celular das bactérias Gram-positivas e provoque a morte da célula bacteriana. Porém a goma gelana quaternizada não teve atividade contra bactérias Gram-positivas, porém teve atividade contra bactérias Gram-negativas (*K. pneumoniae* ATCC 53153 e *E. coli* ATCC 25922).

A goma konjac também foi alvo de modificação e investigação, quando quaternizada com amônio quaternário apresentou efeito inibitório pronunciado sobre o crescimento de quatro cepas de fungos e três cepas bacterianas investigadas (Yu et al., 2007). Entretanto nem todo polissacarídeo catiônico apresenta atividade antibacteriana. Abdullah et al. (2015) ao modificar a goma guar, tornando-a catiônica por meio de reação com epiclorigrina só verificou atividade antibacteriana pela associação do polissacarídeo com nanopartículas de prata imobilizadas em fomas de filme para inibir o crescimento bacteriano. Eles os testaram contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (*Escherichia coli* MTCC 1568, *Vibrio cholerae* MTCC 3906, *Staphylococcus aureus* MTCC 3160 e *Bacillus pumilus* MTCC 2296).

**Quadro 1.** Modificação catiônica em gomas.

<b>Gomas</b>	<b>Aplicação</b>	<b>Referência</b>
<i>Guar</i>	Hidrogel	Huang et al. (2007), Rodríguez et al. (2003) Huang et al. (2007a).
	Floculante	Banerjee et al. (2013), Zhang et al. (2013), Wan et al. (2007), Pal et al. (2008)
	Atividade antibacteriana Liberação de drogas	Abdullah et al. (2015) Murali et al. (2014)
<i>Cassia gum</i>	Floculante	Banerjee et al. (2014)
<i>Xiloglucana</i>	Hidrogel	Simi e Abraham (2010)
	Floculante	Pal et al. (2009), Wang et al 2015
<i>Kappa e iota - Carragenana Dextrana</i>	Floculante	Barahona et al. (2015)
	Floculante	Ghimici e Nichifor (2014), Ghimici e Nichifor (2013) e Ghimici & Nichifor (2010)

	Aplicação biomédica	Mocanu e Nichifor (2014) and Nichifor et al. (2000)
	Entrega de drogas	Abioye et al. (2014)
	Entrega de genes	Yudovin-Farber e Domb (2007) and Thomas, Rekha e Sharma (2010), Mai et al. (2015)
	Atividade antibacteriana	Tuchilus et al. (2017)
<i>Curdiana</i>	Complexo polieletrólítico	Suflet et al. (2015)
<i>Gellana</i>	Sistema controlado de entrega	Novac et al. (2014)
<i>Cajueiro</i>	Atividade antibacteriana	Quelemes et al. (2017)
<i>Xilana</i>	Atividade antibacteriana	Ünlü et al. (2015)
	Floculante	Wang et al. (2015)
	Formação de filme	Šimkovic et al. (2014)

---

Fonte: autoria própria (2017)

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1 Isolamento da Goma do angico**

O isolamento e purificação da goma do angico foi realizada de acordo com Silva, Rodrigues e Paula (1998), em que 12 g da goma bruta foram deixadas em agitação com 100 ml de água Mili-Q durante 24 h. Logo após este período foi adicionado 2g de NaCl e solução de NaOH para ajustar o pH para 7,0. A seguir 300 mL de etanol foi adicionado e a solução foi mantida na geladeira durante 24h. O precipitado formado e lavado com etanol e a seguir com acetona e seco sob fluxo de ar quente constante.

### **4.2 Síntese de goma do angico quaternária**

Para a reação de quaternização foi seguida a metodologia proposta por Quelemes et al. (2017). A goma do angico (1g) foi dissolvido em água destilada (1,5 mL) à temperatura ambiente, e deixada sobre agitação por 30 minutos. Uma outra solução contendo amônio quaternário (Cloreto de 3-cloro-2-hidroxipropil trimetil amônio- CCHTA) e NaOH 5M foi preparada e adicionada a solução contendo a goma do angico e mantida sobre agitação por 30 minutos. A reação foi conduzida em diferentes proporções molares de GA/NaOH/CCHPTA, temperatura (40, 50, 60 ou 80°C) e período de tempo (14 ou 24h) em banho-maria. Ácido clorídrico (HCl) 1M diluído foi adicionado para baixar o pH (5,5) para parar o processo de ionização (ao adicionar HCl na mistura a reação de auto-ionização não continuará, visto que o meio alcalino é essencial para realizar a reação)(Pal et al. 2008). A solução foi em seguida arrefecida até à temperatura ambiente. Sendo, em seguida, dialisado (4 a 5 dias). Após a diálise o polímero foi precipitado em acetona na proporção de 1:4 (solução:acetona), armazenada por 24 h para efetiva precipitação e seca sob fluxo de ar quente. As condições de síntese estão descritas na Tabela 1.



**Tabela 1.** Síntese de derivados da Goma do angico quaternizada (GAQ).

Amostras	Proporção molar	NaOH (g)	CCHPTA (mL)	Tempo (h)	Temperatura (°c)
GAQ-A1	1:4:4	0,98	6,63	14	50
GAQ-A2	1:4:4	0,98	6,63	24	40
GAQ-A3	1:4:4	0,98	6,63	24	60
GAQ-A4	1:4:4	0,98	6,63	24	80
GAQ-B	1:6:6	1,5	9,96	24	60
GAQ-C	1:8:8	1,9	13,7	24	60
GAQ-D	1:4:1	0,98	1,7	24	60

Proporção molar GA/NaOH/CCHPTA.

### 4.3 Caracterização por Espectroscopia na região do infravermelho, Potencial zeta e Análise elementar

A estrutura química dos derivados foi caracterizada usando espectroscopia na região do infravermelho (SHIMADZU IRAffinity-1S-ATR-attenued Total Reflectance, ZnS cristal), para verificar a relação entre as absorções de grupamentos característico, considerando intervalo de onda de 700cm<sup>-1</sup> a 4000cm<sup>-1</sup>.

As medidas de potencial zeta foi feita utilizando equipamento da Malvern Zetasizer Nano ZS90 e para tando uma solução aquosa com concentração de 10 mg/mL foi empregada. As medidas foram realizadas em triplicatas para a determinação da carga do polissacarídeo.

A análise elementar para a composição de carbono, hidrogênio e nitrogênio foi realizada utilizando-se um analisador CHNS Perkin Elmer 2400 series, com detector de condutividade térmica. O grau de substituição (GS) dos derivados GAQ foi obtido pela porcentagem de nitrogênio utilizando a Eq. 1 (Huang, Yu, & Xiao, 2007; Banerjee et al., 2013). O GS foi definido como o número de grupos hidroxilas substituídos por unidade de açúcar da GA, onde N é a quantidade de nitrogênio (%) determinada por análise elementar.

$$GS = \frac{162,2 \times N (\%)}{1400 - 151,5 \times N (\%)} \quad (\text{Eq.1})$$

#### 4.4 Ensaios antimicrobianos

Foi avaliada a atividade antimicrobiana da goma do angico sobre bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* MRSA 43300 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228). Para a realização dos experimentos, as estirpes foram previamente semeadas em placas de Petri contendo ágar Mueller Hinton, sendo essas, incubadas em estufa bacteriológica por 24 horas a uma temperatura de 37 °C, em condições aeróbicas. Após 24 horas, colônias isoladas foram coletadas com alça de platina e suspensas em solução salina estéril [NaCl 0,85% (p/v)], até que se obtivesse uma absorvância variando entre 0,08 a 0,1 monitorando o comprimento de onda de 625 nm, o que corresponde a 0,5 na escala de McFarland (aproximadamente  $1-2 \times 10^8$  UFC/mL). Em seguida, esta suspensão foi diluída na proporção de 1:10 em solução salina estéril, e desta diluição foram retiradas as alíquotas que constituíram o inóculo para a realização dos experimentos descritos a seguir (Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida mínima).

##### 4.4.1 Análise de Concentração inibitoria e bactericida mínima (CIM e CBM)

Pelo método de determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi utilizada placa de microdiluição de 96 poços, no qual foi realizada uma diluição seriada de razão 2 com concentrações de goma de 2000 µg/mL a 15,62 µg/mL em caldo de Mueller-Hinton, inoculado com  $5 \times 10^5$  UFC/mL (CLSI, 2012) de cada micro-organismo. As placas foram incubadas por 24 horas a 37 °C, sob condições aeróbicas. Como controle positivo foi empregado antibióticos padrões efetivos contra as bactérias testadas: Oxacilina para *S. epidermidis* ATCC 12228 e *S. aureus* ATCC 29213; Vancomicina para *S. aureus* Meticilina resistente. A CIM foi definida como a menor concentração de agente que inibiu o crescimento visual bacteriano. Cada placa de 96 poços foi dividida de maneira que fosse testado cada amostra (GA e seus derivados quaternizados GAQ) para três bactérias na mesma placa, junto aos controles de esterilidade. O caldo Mueller-Hinton foi colocado em todos os poços de maneira que o volume final de cada poço ficasse igual a 100 µL.

Para a determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM), alíquotas (10 µL) de todos os poços com concentrações iguais ou superiores à CIM foram subcultivadas em ágar Mueller-Hinton. O CBM foi definido como a menor concentração que não permitiu crescimento no ágar. Em ambos os testes, os microorganismos foram incubados durante 24 h em temperatura de 37°C, em condições aeróbicas. Esses ensaios foram realizados em triplicata.

#### **4.5 Biocompatibilidade**

#### **4.6 Ensaio hemólise**

A atividade hemolítica da GA e dos derivados da goma do angico quaternizada (GAQ) foi testada de acordo com Sahariah et al. (2015). Em que os eritrócitos humanos (hemácias) foram coletados em EDTA (1,8 mg/mL), lavados três vezes e ressuspensos em solução salina estéril (0,9%). A GA e os derivados da GAQ foram testados em diferentes concentrações, variando de 31,25 a 500 µg/mL. Triton-X (0,1% v/v) e solução salina foram usados como controles de hemólise positivo e negativo, respectivamente. As misturas foram incubadas por 1 h a 37°C e centrifugadas a 10.000g por 1 min. O sobrenadante foi avaliado por espectrofotometria (492 nm) para constatar a hemólise. A hemólise total foi obtida com Triton X-100 e a porcentagem de hemólise foi calculada em relação a esse valor (Rangel et al., 1997). Este experimento foi realizado em triplicata e os resultados foram expressos como porcentagem da média aritmética simples.

#### **4.7 Análise estatística**

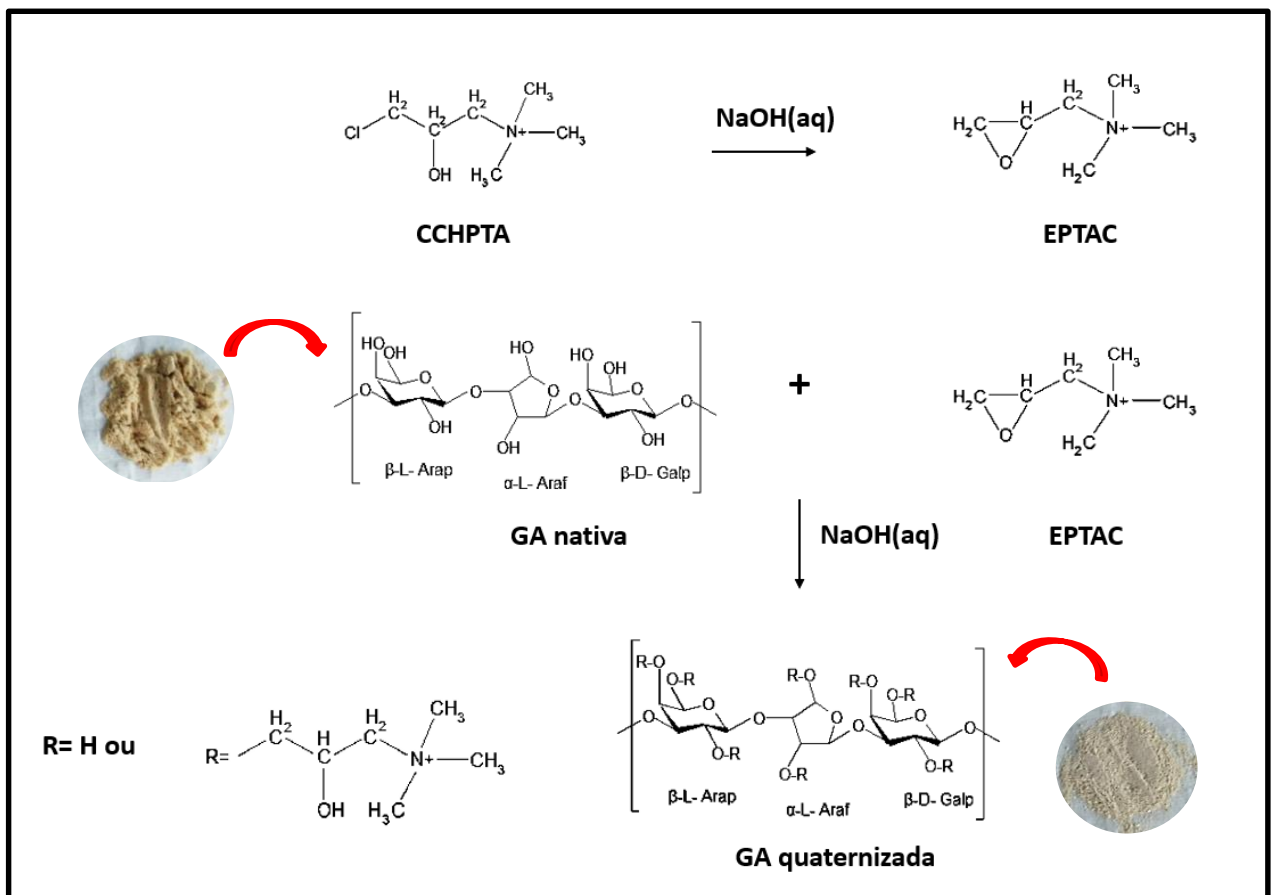
Os dados de ensaios com eritrócitos foram expressos em média e desvio padrão e analisados estatisticamente por ANOVA de duas vias com teste de Tukey de comparações múltiplas, utilizando o software GraphPad Prism 4.0. Diferenças foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ .

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Reação de quaternização

A reação de quaternização da goma do angico (Figura 5) foi obtida utilizando o CCHTA (Cloreto de 3-cloro-2-hidroxipropil trimetil amônio) como agente de esterificação sob condições alcalinas. A reação é caracterizada pela substituição de grupos hidroxil de unidades monossacarídicas pelo reagente amônio quaternário. A GAQ é formada através da reação entre a GA e o epóxido (Huang, Lu e Xiao, 2007; Nichifor et al., 2010; Banerjee et al., 2014; Quelemes et al., 2017). As condições de reação estão resumidas na tabela 1.

**Figura 5.** Esquema geral da reação de quaternização

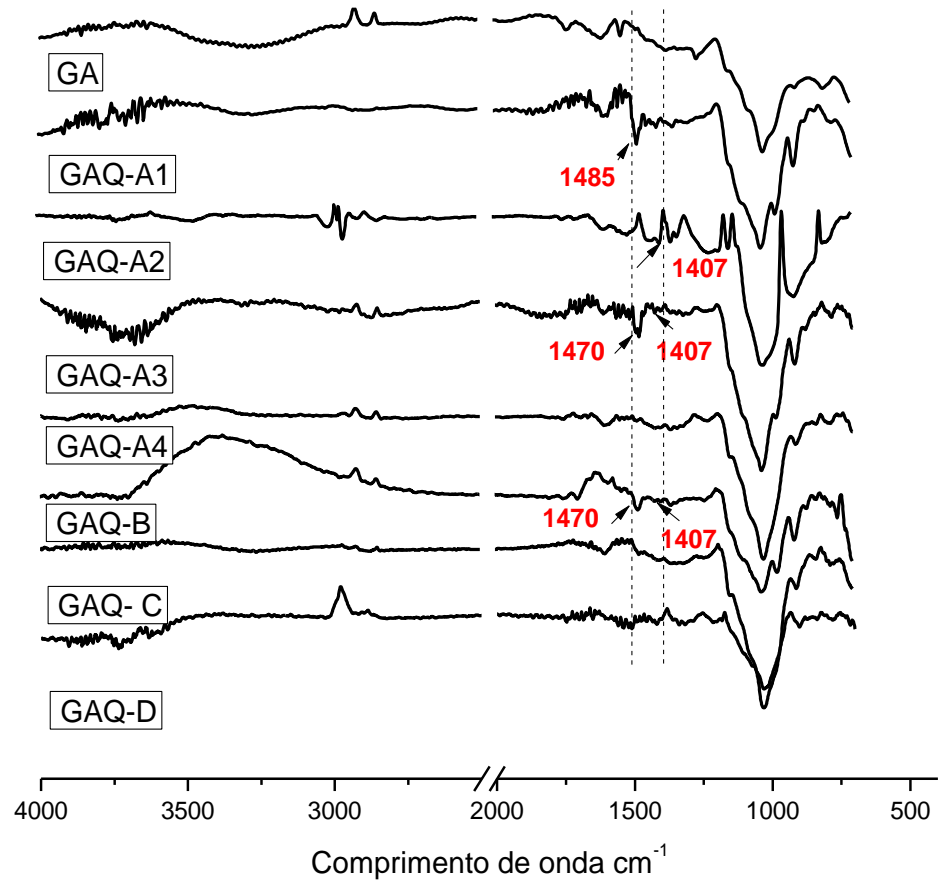


Nesse processo o NaOH desempenhou um papel de catalisador da reação, agente de inchaço da goma do angico e realiza a hidrólise da goma e do CCHPTA (Gupta, Sharma e Soni, 2005).

## 5.2 Análise dos espectros de infravermelho (FT-IR)

Na figura 6 estão demonstrados os espectros de infravermelho da goma do angico e dos seus derivados quaternizados.

**Figura 6.** Espectro na região do infravermelho da goma do angico e dos seus derivados.



Os espectros de infravermelho da GA e dos seus derivados quaternizados exibiram bandas de absorção características de polissacarídeos entre  $4000\text{ cm}^{-1}$  e  $400\text{ cm}^{-1}$  (Figura 6). No espectro da GA a banda na região de  $3362\text{ cm}^{-1}$  é atribuída à vibração de estiramento O-H (Pavia et al. 2010; Ren et al. 2007) e banda na região  $2926\text{ cm}^{-1}$  corresponde à vibração de estiramento C–H metilênico (Ren et al. 2007; Thomas 2015). A banda presente na região  $1651\text{ cm}^{-1}$  é relativa ao estiramento vibracional assimétrico do grupamento C=O (Zhang et al., 2013, Quelemes et al., 2017). Vibração de deformação simétrica da ligação éster -CO das ligações glicosídicas, foram observadas na região de  $1375\text{ cm}^{-1}$  e  $1245\text{ cm}^{-1}$  com intensidade média (Ren et al. 2007; Thomas 2015).

Comparando os espectros da GA e seus derivados quaternizados, é notável o surgimento de um pico em torno de  $1470\text{ cm}^{-1}$  característico de C-H do grupo metil do amônio quaternário, e a presença do pico em  $1407\text{ cm}^{-1}$  de C-N, também observado por Pal, Mal e Singh (2005), Novac et al. (2014) e Quelemes et al. (2017).

### 5.3 Potencial Zeta ( $\zeta$ )

O potencial zeta reflete a carga efetiva da partícula e refere-se à repulsão eletrostática entre elas. Assim sendo, o potencial zeta é importante para avaliar o grau de inserção de grupos quaternário por meio da alteração no valor da carga resultante do polissacarídeo. A análise mostrou que a carga efetiva ficou mais positiva para os derivados da GAQ em relação a GA, sugerindo que houve adição de grupos  $-\text{NH}_3$  na GA (Tabela 2), o que pode ter influenciado a interação eletrostática do modificado com o microrganismo.

Variação de carga semelhante foi relatado por Quelemes et al. (2017) que modificou a goma do cajueiro e obteve potenciais zeta variando de  $-3,4\text{mV}$  para até  $+40,4\text{ mV}$ . A inserção de grupos amônio quaternário conferiu a goma do cajueiro atividade bactericida contra bactérias Gram-positivas, em todas as concentrações utilizadas.

### 5.4 Análise elementar e o grau de substituição

A análise elementar da GA e de seus derivados quaternizados é apresentada na Tabela 2. A presença de uma alta porcentagem de nitrogênio nas gomas modificadas confirmam que o amônio quaternário foi incorporado na estrutura do polímero (Banerjee et al., 2013), destacando-se o aumento no percentual de nitrogênio devido ao aumento na quantidade de amônio quaternário e NaOH adicionados à reação (Pal, Mal e Singh, 2005). Esse efeito é

concomitante com o aumento do grau de substituição (Yu et al., 2007). Uma discreta quantidade de nitrogênio (0,23%) na GA pode estar relacionada a traços de proteínas, como distrito em De Paula, Budd e Rodrigues (1997).

**Tabela 2.** Resultados obtidos do processo de quaternização e características químicas da GA e de seus derivados quaternizados.

Amostra	Rendimento (%)	Análise elementar (%)			GS	Potencial zeta(mV)
		C	H	N		
GA	-	39,65	6,72	0,23	-	-20
GAQ-A1	72	-	-	-	-	-0,2
GAQ-A2	74	41,5	6,76	0,48	0,05	-13,2
GAQ-A3	73	32,61	6,55	2,9	0,48	24,7
GAQ-A4	70	32,9	5,46	0,65	0,08	4,89
GAQ-B	76	32,02	6,92	3,13	0,54	23,5
GAQ-C	77	41,75	7,5	1,59	0,22	37,7
GAQ-D	73	-	-	-	-	+14
CCHPTA		36,38 <sup>a</sup>	7,58 <sup>a</sup>	7,12 <sup>a</sup>	-	-

<sup>a</sup> valores obtidos na literatura (Benerjee et al., 2013) -Valores não obtidos

Diferentes graus de substituição (GS) foram obtidos para GAQ. O maior grau de substituição foi obtido para GAQ-A3 e GAQ-B (0,48 e 0,54 respectivamente). Para a quaternização da goma do angico, a condição ideal de síntese quanto ao GS foi encontrada a 60°C nas concentrações equimolares de amônio quaternário e NaOH com tempo de reação de quaternização de 24h (GAQ-A3, GAQ-B e GAQ-C). O aumento na proporção equimolar do reagentes influenciou diretamente o GS. A temperatura (60°C) e o tempo de reação (24h) foram mantidos e a equimolaridade dos derivados foi alterada (1:4:4, 1:6:6 e 1:8:8). Com o aumento da proporção dos reagentes (GA/NaOH/CCHPTA) o GS aumentou até um determinado ponto, após uma condição limite GS diminuiu (GAQ-A3>GAQ-B<GAQ-C).

A temperatura também desempenha um papel importante quanto ao GS (Shak e Wu, 2017). Foi observado que ao aumentar a temperatura GS aumentou. Alguns trabalhos com polissacarídeos modificados por agentes quaternizantes reportam esse fenômeno (Suflet et al.,

2015). Entretanto, ao aumentar ainda mais a temperatura o GS diminuiu, o que pode estar relacionado com a degradação do polissacarídeo ou eficiência da reação de modificação. Esse comportamento pode ser notado nos derivados GAQ-A2, GAQ-A3 e GAQ-A4 que apresentam a mesma proporção equimolar de de GA/NaOH/CCHPTA de 1:4:4. A influência da temperatura sobre esses derivados foi clara, o GS aumentou com o aumento da temperatura de 40°C para 60°C (0,05 e 0,48, respectivamente), mas diminuiu a 80°C (0,08).

Comportamento semelhante ocorreu com o derivado GAQ-C (proporção molar de GA/NaOH/CCHTA: 1:8:8). O GS foi o menor da condição de equimolaridade entre os reagentes (NaOH/CCHPA), temperatura (60°C) e tempo de reação (24h), rever tabela 1. Não é possível afirmar que houve degradação do polissacarídeo, pois seria necessária caracterização detalhada dos constituintes monoméricos do derivado quaternizado.

### 5.3 Atividade antibacteriana

O (s) mecanismo (s) de ação global de um antimicrobiano pode ser definido de acordo com o componente alvo da célula bacteriana contra a qual tem a sua atividade principal. Assim, três níveis de interação podem ser descritos: (i) adsorção na superfície das células bacterianas, (ii) difusão através da parede celular, (iii) ligação à membrana citoplasmática, (iv) libertação dos constituintes citoplasmáticos, e (v) a morte da célula (Franklin; Snow, 1975).

O processo de quaternização insere grupos permanentes de amônio quaternário carregados positivamente e aumenta a solubilidade em água, o que despertou interesse na aplicação de polissacarídeos quaternizados como agente antibacteriano (Deng et al., 2012; Ling et al., 2013; Novac et al., 2014; Jiang et al., 2015; Wen et al., 2015; Ignatova et al., 2016; Hu et al., 2016; Quelemes et al., 2017).

O envelope de células *estafilocóccicos* (Figura 7) é composta por multicamadas de cadeias de glicano de N-acetilglucosamina (GlcNAc) alternada e N-acetilmuramil-pentapeptídeo (MurNAc-PP), reticuladas por cadeias laterais de pentaglicina. Ácidos teicóicos, polímeros de superfície polianiônicos que se estendem através da camada de peptidoglicano, contribuem para a carga negativa da parede celular (Raafat e Sahl, 2009). Vários estudos apontam a importância do número de grupos amônio quaternário na interação (Sun et al. 2006).

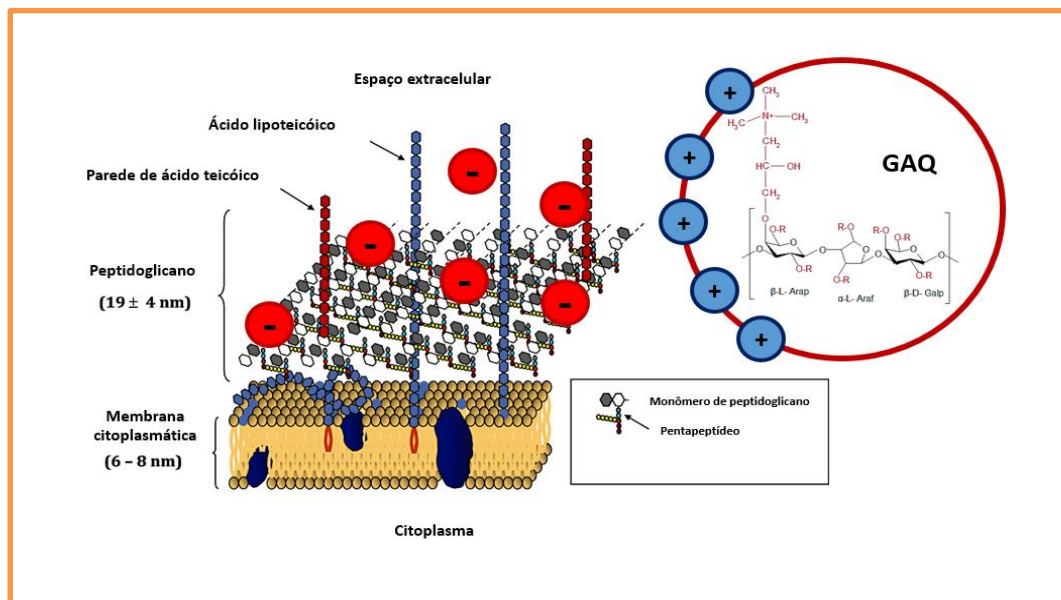
Para a ação bactericida da GAQ a proposta mais aceitável, tendo como base a quitosana, é a interação das moléculas carregadas positivamente e membranas de células microbianas carregadas negativamente (Mohamed, Mohamed e Seoudi, 2014; Cai et al., 2015), grupos positivos da GAQ ( $\text{NH}_3^+$ ) com grupos carregados negativamente da bactéria (por exemplo, fosfato, ácido lipoteocóico, ácido nucléico). Esta interação eletrostática pode promover



alterações nas propriedades da permeabilidade da parede da membrana, provocando assim desequilíbrios osmóticos internos e consequentemente inibindo o crescimento de microrganismos ou pela hidrólise dos peptidoglicanos na parede do microrganismo, conduzindo à saída de eletrólitos intracelulares tais como íons de potássio e outros constituintes de baixo peso molecular (Raafat e Sahl, 2009).

Dentre os polissacarídeos catiônicos quimicamente modificados, a quitosana e seus derivados são os polímeros de escolha para atuar como agentes antibacterianos. Poucos foram os trabalhos envolvendo gomas catiônicas para tal finalidade (Novac et al., 2014; Tuchilus et al., 2017; Quelemes et al., 2017), o que já foi apresentado anterior.

**Figura 7.** Estrutura do envelope celular de *Staphylococcus ssp.*



Fonte: Raafat e Sahl (2009)

A presença de grupos de amônio quaternário conferiu atividade bactericida para as bactérias testadas (Tabela 3). A análise da atividade antibacteriana da GA não exibiu efeito antibacteriano, enquanto GAQ-A3 (GS=0,48) e GAQ-B (GS=0,54) apresentaram efeito inibitório para as bactérias *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 e *Staphylococcus aureus* MRSA 43300 (GAQ-A3: CIM-CBM= 125-125 µg/mL, 250-250 µg/mL e 250-250 µg/mL, respectivamente e GAQ-B: CIM-CBM= 62,5-62,5 µg/mL, 250-250 µg/mL e 250-250 µg/mL, respectivamente). Uma possível hipótese é que a entrada de água através da membrana celular tenha causada a morte da bactéria, como foi observado por Quelemes et al. (2017).

Valores mais baixos de CIM foram encontrados para *S.aureus* através da modificação de polissacarídeos com amônio quaternário. Valores entre 35-60 µg/mL para a goma do cajueiro (Quelemes et al., 2017), 60 µg/mL para derivados anfifílicos da dextrana (Tuchilus et al., 2017)

**Tabela 3.** Atividade antimicrobiana da goma do angico quaternizada pelos ensaios de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) frente às bactérias *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* MRSA 43300 e *S. epidermidis* ATCC 12228.

Amostras	CIM-CBM (µg/mL)		
	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>S. aureus</i> MRSA 43300	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228
GA	-	-	-
GAQ-A1	-	-	-
GAQ-A2	-	-	-
GAQ-A3	250-250	250-250	125-125
GAQ-A4	-	-	-
GAQ-B	250-250	250-250	62,5-62,5
GAQ-C	-	-	-
GAQ-D	-	-	-
Oxacilina	<0,25	*	<0,25
Vancomicina	*	<0,5	*

-Sem atividade antimicrobiana. \*Não testado

Os valores de CIM e CBM foram iguais (Tabela 3), ou seja, a mesma concentração que inibiu o crescimento foi a mesma que matou as bactérias, supostamente pelo mecanismo de ação hipotético acima já referido, como o obtido por Jia et al. (2001) e Quelemes et al. (2017) com CIM e CBM iguais indicando um efeito bactericida (Gonzalez et al., 2013).

Levando-se em consideração as condições de síntese dos derivados de GAQ, a atividade bactericida contra *S.aureus* e *S.epidermidis* foi obtida apenas para os maiores valores de GS (0,48 e 0,54). Vale ressaltar que o efeito da equimolaridade potencializou a atividade bactericida contra *S.epidermidis* (CBM=62,25 µg/mL), porém na maior proporção (1:8:8) o derivado perdeu a atividade antibacteriana (GS=0,22).

#### 5.4 Atividade hemolítica

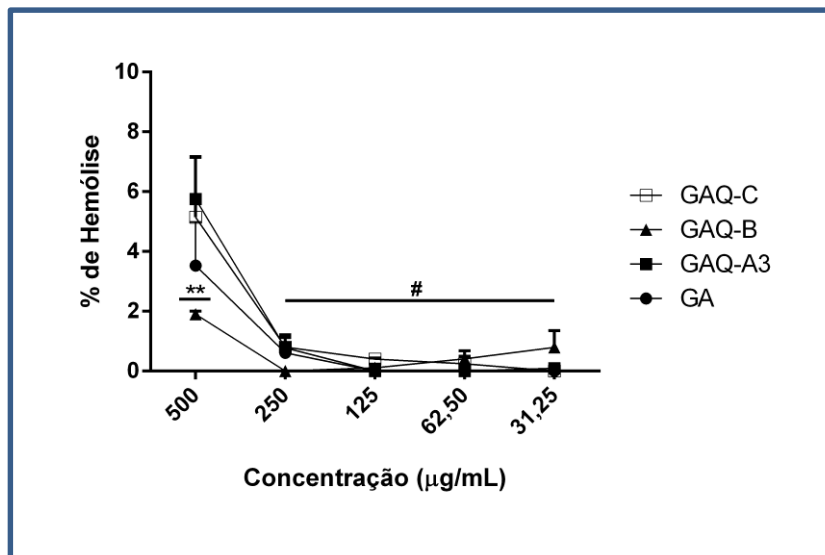
O eritrócito é um tipo de célula que possui altas concentrações de ácidos graxos polinsaturados, oxigênio molecular e íons ferro no estado ligado (Niki et al., 1991), fazendo com que sua membrana celular fique muito vulnerável a reações envolvendo radicais livres e

que também fique muito susceptível a hemólise. Este evento pode ser correlacionado diretamente com o efeito tóxico das substâncias testadas. Dessa forma, os eritrócitos podem ser utilizados como um modelo experimental *in vitro* com a finalidade de investigar os efeitos tóxicos e protetores de uma grande variedade de substâncias (Brandão et al., 2006).

De acordo com Cano et al. (2004), a avaliação da biocompatibilidade dos materiais pode fornecer informações úteis a respeito da interação do material com o ambiente fisiológico e dos possíveis riscos associados à sua aplicação, permitindo assim, identificar os materiais que não apresentam características adequadas à utilização em estudos clínicos, sendo crucial desenvolver materiais inócuos, não citotóxicos com ampla gama de atividade antimicrobiana, longa resposta, reutilizáveis para manter a atividade e garantindo os aspectos ambientais e de reciclagem.

Nesse estudo, os derivados GAQ analisados (GAQ-A3, GAQ-B e GAQ-C), em concentrações equivalentes às utilizadas nos ensaios antimicrobianos, não promoveram hemólise acima de 10%, evidenciando excelente biocompatibilidade com eritrócitos, mesmo na mais alta concentração testada (Figura 8).

**Figura 8.** Atividade hemolítica da GA e de seus derivados quaternizados.



A goma do angico apresentou uma tendência a atividade hemolítica na maior concentração em análise (500 µg/mL) o mesmo foi obtido por Quelemes et al. (2017) ao avaliar a biocompatibilidade da goma do cajueiro. Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os derivados quaternizados GAQ-A3 e GAQ-B a 500 µg/mL, porém não houve diferença significatiava nas demais concentrações.

## 6. CONCLUSÃO

Foram obtidos 8 vários derivados quaternizados da goma do angico através de modificação química com amônio quaternário, com diferentes grau de substituição. A modificação foi confirmada pelas análises de potencial zeta, infravermelho e análise elementar. O melhor resultado foi obtido para o derivado GAQ-A3 e GAQ-B, visto que apresentaram atividade bactericida eficaz contra bactérias Gram-positivas do genero *Staphylococcus* (estirpes sensível e resistente) e atividade hemolítica abaixo de 500 µg/mL, o que os torna um biomaterial promissor como agente antibacteriano para aplicações biomédicas e biotecnológicas, como curativos de cicatrização, filtros antimicrobianos e dispositivos médicos.

## 7. REFERÊNCIA

- Abdullah, Md. F., Ghosh, S.K., Basu, S., Mukherjee, A. **Cationic guar gum orchestrated environmental synthesis for silver nano-bio-composite films.** *Carbohydrate Polymers*, 134, 30–37, 2015.
- Abioye, A.O; Kola-Mustapha, A; Chi, G.T; Ilya, S. **Quantification of in situ granulation-induced changes in pre-compression, solubility, dose distribution and intrinsic in vitro release characteristics of ibuprofen–cationic dextran conjugate crystanules.** *International Journal of Pharmaceutics*. V. 471, Issues 1–2, 25, Pages 453-477, 2014.
- Araújo, I.M.S., Zampa, M.F. Moura, J.B., Dos Santos Jr, J.R., Eaton, P., Zucolotto, V., Veras, L.M.C et al. **Contribution of the cashew gum (*Anacardium occidentale*L.) for development of layer-by-layer films with potential application in nanobiomedical devices.** *Materials Science and Engineering: C*. V.32, pp. 1588-1593, 2012.
- Araújo, T.S.L., Costa, D.S., Sousa, N.A., Souza, L.K.M., Araújo, S., Oliveira, A.P., Sousa, F.B.M. et al. **Antidiarrheal activity of cashew GUM, a complex heteropolysaccharide extracted from exudate of *Anacardium occidentale* L. in rodents.** *Journal of Ethnopharmacology*, V.174, pp. 299-307, 2015.
- Aspinall, G.O. *The polysaccharide*, Academic Press, Chapter 1, 1982.
- Banerjee, C., Ghosh, S., Sen G., Mishra S., Shukla, P., Bandopadhyay, R. **Study of algal biomass harvesting through cationic cassia gum, a natural plant based biopolymer.** *Bioresource Technology*, 151, 6–11, 2014.
- Banerjee, C., Ghosh, S., Sen G., Mishra S., Shukla, P., Bandopadhyay, R. **Study of algal biomass harvesting using cationic guar gum from the natural plant source as flocculant.** *Carbohydrate Polymers*, 92, 675–681, 2013.
- Barahona, T., Prado, H.J., Bonelli, P.R., Cukierman, A.L., Fissore, E.L., Gerschenson, L.N., Matulewicz, M.C. **Cationization of kappa- and iota-carrageenan -Characterization and properties of amphoteric polysaccharides.** *Carbohydrate Polymers* 126, 70–77, 2015.
- Bittencourt, C.R., Farias, E.A.O., Bezerra, K.C., Vêras, L.M.C., Silva, V.C., Costa, C.H.N., Bemquerer, M.P et al. **Immobilization of cationic antimicrobial peptides and natural cashew gum in nanosheet systems for the investigation of anti-leishmanial activity.** *Materials Science and Engineering: C*. V.59, pp.549-555, 2016.

Brandão, R.; Lara, F.S.; Pagliosa, L.B.; Soares, F.A.; Rocha, J.B.T.; Nogueira, C.W.; Farina, M. **Hemolytic effects of sodium selenite and mercuric chloride in human blood.** Drug and Chemical Toxicology, v. 28, p. 397-407, 2006.

Cai, J., Dang, Q., Liu, C., Wang, T., Fan, B., Yan, J., Xu, Y. **Preparation, characterization and antibacterial activity of O-acetyl-chitosan-N-2-hydroxypropyl trimethyl ammonium chloride.** International Journal of Biological Macromolecules, 80, 8–15, 2015.

Cano, J. J. M.; Peraire, C., in: Biomateriales. Ed. Sastre, R.; Aza, S.; Román, J. S. Faenza Editrice Iberica, Faenza, p. 197, 2004.

Chen, Y.; Zhang, H.; Wang, Y.; et al. **Acetylation and carboxymethylation of the polysaccharide from Ganoderma atrum and their antioxidant and immunomodulating activities.** Food chemistry, v. 156, p. 279–88, 2014.

CLSI – Clinical Laboratory Standards Institute. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically.** Approved standard M02–A10. Pa: Wayne, 2012.

Coutinho, M. A. S.; Muzitano, M. F.; Costa, S. S. Flavonóides: **Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório.** Revista Virtual de Química, v. 3, n. 1, 2008.

Coviello, T., Matricardi, P., Marianecchi, C., Alhaique, F. **Polysaccharide hydrogels for modified release formulations.** Journal of Controlled Release, 119, 5–24, 2007.

Crini, G. **Recent developments in polysaccharide-based material used as adsorbents wastewater treatment.** Progress in Polymer Science, 30, 38-70, 2005.

De Paula, R.C.M.; Budd, P. M.; Rodrigues, J. F. **Characterization of Anadenanthera macrocarpa exudate.** Polymer international, 1997.

Deng, H., Lin, P., Xin, S., Huang, R., Li, W., Du, Y., Zhou, X., Yang, J. **Quaternized chitosan-layered silicate intercalated composites based nanofibrous mats and their antibacterial activity.** Carbohydrate Polymers 89, 307–313, 2012.

Dias, S.F.L., Nogueira, S.S., Dourado, F.F., Guimarães, A., Pitombeira, N.A.O., Gobbo, G.G., Primo, F.L., Paula, R.C.M et al. **Acetylated cashew gum-based nanoparticles for**

**transdermal delivery of diclofenac diethyl amine.** Carbohydrate Polymers, v.143, pp. 254-261, 2016.

Dumitriu (Ed.), Polysaccharides: **Structural Diversity and Functional Versatility** (2nd ed.), Marcel Dekker, New York, 2004.

Ebringerovh, Z. Hromádková, M. Kacuráková & M. Antal. **Quaternized xylans: synthesis and structural characterization.** Carbohydrate Polymers 24, 301-308, 1994.

Fan, L., Yang, J., Wu, H., Hu, Z., Yi, J., Tong, J., Zhu, X. **Preparation and characterization of quaternary ammonium chitosan hydrogel with significant antibacterial activity.** International Journal of Biological Macromolecules 79, 830–836, 2015.

Fan, Lihong Mi Cao, Song Gao, Weiping Wang, Kai Peng, Chang Tan, Feng Wen, Shengxiang Tao, Weiguo Xie. **Preparation and characterization of a quaternary ammonium derivative of pectin.** Carbohydrate Polymers 88, 707–712, 2012.

Geresh, S., Dawadi, R.P., Arad, S. (M.). **Chemical modifications of biopolymers: quaternization of the extracellular polysaccharide of the red microalga. *Porphyridium* sp.** Carbohydrate Polymers, 63, 75–80, 2000.

Ghimici, L., Nichifor, M. **Flocculation performance of different cationic amphiphilic dextran derivatives in zirconium silicate suspension.** Separation and Purification Technology 133, 254–259, 2014.

Ghimici, L., Nichifor, M. **Novel biodegradable flocculating agents based on cationic amphiphilic polysaccharides.** *Bioresource Technology*, 101, 8549–8554, 2010.

Ghimici, L., Nichifor, M. **Separation of TiO<sub>2</sub> particles from water and water/methanol mixtures by cationic dextran derivatives.** Carbohydrate Polymers, 98, 1637–1643, 2013.

Gonzalez, N., Sevillano, D., Alou, L., Cafini, F., Gimenez, M., Gomez-Lus, M. L., et al. **Influence of the MBC/MIC ratio on the antibacterial activity of vancomycin versus linezolid against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in a pharmacodynamics model simulating serum and soft tissue interstitial fluid concentrations reported in diabetic patients.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 68, 2291–2295, 2013.



Grzadka, E. **Study on the influence of surfactants on the adsorption and electrokinetic properties of the system: Cationic starch/alumina.** Fluid Phase Equilibria 401, 48–55, 2015.

Gupta, S., Sharma, P., Soni, P.L. **Chemical modification of Cassia occidentalis seed gum: carbamoylethylation,** Carbohydr. Polym. 59, 501–506, 2005.

Hellmark, B.; Söderquist, B.; Unemo, M.; Nilsson-Augustinsson, A. **Comparison of *Staphylococcus epidermidis* isolated from prosthetic joint infections and commensal isolates in regard to antibiotic susceptibility, agr type, biofilm production, and epidemiology.** International Journal of Medical Microbiology. v. 303, p. 32-39, 2013.

Hu, D., Wang, H., Wang, L. **Physical properties and antibacterial activity of quaternized chitosan/carb oxymethyl cellulose blend films.** LWT - Food Science and Technology 65, 398-405, 2016.

Huang, Y., Lu, J., Xiao, C. **Thermal and mechanical properties of cationic guar gum/poly (acrylic acid) hydrogel membranes.** Polymer Degradation and Stability, 92, 1072 -1081, 2007a.

Huang, Y., Yu, H., Xiao, C. **pH-sensitive cationic guar gum/poly (acrylic acid) polyelectrolyte hydrogels: Swelling and in vitro drug release.** Carbohydrate Polymers, 69, 774–783, 2007b.

Ignatova, M., Monolova, N., Rashkov, I., Markova, N. **Quaternized chitosan/ k-carrageenan/ caffeic acid-coated poly (3-hydroxybutyrate) fibrous materials: Preparation, antibacterial and antioxidant activity.** International Journal of Pharmaceutics 513, 528 – 537, 2016.

Iorio, N.L.P. et al. **Characteristics related to antimicrobial resistance and biofilm formation of widespread methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* ST2 and ST23 lineages in Rio de Janeiro hospitals, Brazil.** Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. v. 72, p. 32-40, 2012.

Izumrudov, V.A., Volkova, I.F., Gorshkova, M.Y. **Soluble–insoluble polyelectrolyte complex of quaternized chitosan with DIVEMA (pyran copolymer).** European Polymer Journal, 49, 3302–3308, 2013.

Jia, Z.S., Shen, D.F., Xu, P.X. **Synthesis and antibacterial activities of quaternary ammonium salt of chitosan.** Carbohydr. Res., 333, pp. 1-6, 2001.

Jiang, L., Lu, Y., Liu, X., Tu, H., Zhang, J., Shi, X., Deng, H., Du, y. **Layer-by-layer immobilization of quaternized carboxymethyl chitosan/organic rectorite and alginate onto nanofibrous mats and their antibacterial application.** *Carbohydrate Polymers* 121, 428–435, 2015.

Jiang, X., Cai K., Zhang, J., Shen, Y., Wang, S., Tian, X. **Synthesis of a novel water-soluble chitosan derivative for flocculated decolorization.** *Journal of Hazardous Materials*, 185, 30, 1482–1488, 2011.

Kennedy, J.F.; White, C.A., *Carbohydrate chemistry*, Ed. Kennedy, Chapter 1, 1988.

Li, H., Du, Y., Wu, X., Zhan, H. **Effect of molecular weight and degree of substitution of quaternary chitosan on its adsorption and flocculation properties for potential retention-aids in alkaline papermaking.** *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 242, 1-8, 2004b.

Ling, Y., Luo, Y., Luo, J., Wang, X., Sun, R. **Novel antibacterial paper based on quaternized carboxymethyl chitosan/organic montmorillonite/AgNP nanocomposites.** *Industrial Crops and Products* 51, 470–479, 2013.

Lu, B., Liu, X., Huang, Z., Xu., H., Xu, P., Wang, Y., Zheng, H., Yin, Y., Zhang, X., Zhuo, R. **Synthesis of diamine maleyl chitosans, and in vitro transfection studies.** *Carbohydrate Polymers*, 87, 1453–1459, 2012.

Ma, L.; Chen, H.; Zhang, Y.; Zhang, N.; Fu, L. **Chemical modification and antioxidant activities of 58 polysaccharide from mushroom *Inonotus obliquus*.** *Carbohydrate Polymers*, v. 89, n. 2, p. 371–378, 2012.

Mai, K., Zhang, S., Liang, B., Gao, C., Du, W., Zhang, L-M. **Water soluble cationic dextran derivatives containing poly(amidoamine) dendrons for efficient gene delivery.** *Carbohydrate Polymers* 123, 237–245, 2015.

Mirhosseini, H., Amid, B.T. **A review study on chemical composition and molecular structure of newly plant gum exudates and seed gums.** *Food Research International*, Volume 52, Issue 1, 429, 2013.

Mocanu, G., Nichifor, M. **Cationic amphiphilic dextran hydrogels with potential biomedical applications.** *Carbohydrate Polymers*, 99, 235–24, 2014.

Mohamed, N.A., R.R. Mohamed, N.A., Seoudi, R.S. **Synthesis and characterization of some novel antimicrobial thiosemicarbazone O-carboxymethyl chitosan derivatives**, *Int. J. Biol. Macromol.* 63, 163–169, 2014.

Morkaew, T., Pinyakong, O., Tachaboonyakiat, W. **Structural effect of quaternary ammonium chitin derivatives on their bactericidal activity and specificity**. *International Journal of Biological Macromolecules* 101, 719–728, 2017.

Munoz-Bonilla A., Fernandez-Garcia M. **Polymeric materials with antimicrobial activity**. *Prog Polym Sci* 37, 281 (2012).

Murali, R., Vidhya, P., Thanikaivelan, P. **Thermoresponsive magnetic nanoparticle – Aminated guar gum hydrogel system for sustained release of doxorubicin hydrochloride**. *Carbohydrate Polymers*, 110, 440–445, 2014.

Nascimento, M.P.S.B. **Plantas do semi-árido: conhecimento e usos no assentamento marrecas**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 179p, 2008.

Nichifor, M., Cristea, D., Carpov, A. **Sodium cholate sorption on cationic dextran hydrogel microspheres. 1. Influence of the chemical structure of functional groups**. *International Journal of Biological Macromolecules*, 28, 15–21, 2000.

Nichifor, M., Stanciu, M.C., Simionescu, B.C. **New cationic hydrophilic and amphiphilic polysaccharides synthesized by one pot procedure**. *Carbohydrate Polymers*, 82, 965–975, 2010.

Niki, E.; Yamamoto, Y.; Komuro, E.; Sato, K. **Membrane damage due to lipid oxidation**. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 53, p. S201 -S205, 1991.

Novac, O., Lisa, G., Profire, L., Tuchilus, C., Popa, M.I. **Antibacterial quaternized gellan gum based particles for controlled release of ciprofloxacin with potential dermal applications**. *Materials Science and Engineering C*, 35, 291–299, 2014.

Olar, R. et al. **Prospects for new antimicrobials based on N,N-dimethylbiguanide complexes as effective agents on both planktonic and adhered microbial strains**. *European Journal of Medicinal Chemistry*. v. 45, p. 2868-2875, 2010.

Oliveira, M.A., Ciarlini, P.C., Feitosa, J.P.A., Paula, R.C.M., Paula, H.C.B. **Chitosan/“angico” gum nanoparticles: Synthesis and characterization**. *Materials Science and Engineering C*, 29, 448–451, 2009.

Pal, S., Ghosh, S., Sem, G., Jha, U., Singh, R. P. **Cationic tamarind kernel polysaccharide (Cat TKP): A novel polymeric flocculant for the treatment of textile industry wastewater.** *International Journal of Biological Macromolecules*, 45, 518–523, 2009.

Pal, S., Mal, D., Singh, R.P. **Cationic starch: an effective flocculating agent.** *Carbohydrate Polymers*, 59, 417–423, 2005.

Pal, S., Sen, G., Karmakar, N.C., Mal, D., Singh, R.P. **High performance flocculating agents based on cationic polysaccharides in relation to coal fine suspension.** *Carbohydrate Polymers*, 74, 590–596, 2008.

Pan, Y., Huang, X., Shi, X., Zhan, Y., Fan, G., Pan, S., Tian, J., Deng, H., Du, Y. **Antimicrobial application of nanofibrous mats self-assembled with quaternized chitosan and soy protein isolate.** *Carbohydrate Polymers*, 133, 229–235, 2015.

Paula, H.C.B., Sombra, F.M., Abreu, F.O.M.S., Paula, R.C.M. **Lippia sidoides Essential Oil Encapsulation by Angico Gum/Chitosan Nanoparticles.** *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 21, N. 12, 2359-2366, 2010.

Pavia, D.; Lampman, G.; Kriz, G.; Vyvan, J. **Espectroscopia no infravermelho. Introdução à Espectroscopia.** Tradução d ed., p.15–98, 2010. São Paulo-SP: Cengage Learning.

Peppas NA, Hilt JZ, Khademhosseini A, Langer R. **Hydrogels in biology and medicine: From molecular principles to bionanotechnology.** *Adv Mater* 18:1345, 2006.

Prado, H.J., Matulewicz, M.C. Cationization of polysaccharides: **A path to greener derivatives with many industrial applications.** *European Polymer Journal*, 52, 53–75, 2014.

Prado, H.J., Matulewicz, M.C., Bonelli, R.P., Cukierman, A.L. **Studies on the cationization of agarose.** *Carbohydrate Research*, 346, 311–321, 2011.

Prajapati, V.D., Jani, G.K., Moradiya, N.G.Randeria, N.P. **Pharmaceutical applications of various natural gums, mucilages and their modified forms.** *Carbohydrate Polymers*, 92, 1685–1699, 2013.

Quelemes, P.V., Araújo, A.R., Plácido, A., Delerue-Matos, C., Maciel, J.S., Bessa, L.J., Ombredane, A.S., Joanitti, G, A. Soares, M.J.S., Eaton, P., Silva, D.A., Leite, J.R.S.A.

**Quaternized cashew gum: An anti-staphylococcal and biocompatible cationic polymer for biotechnological applications.** Carbohydrate Polymers, 157, 567-575, 2017.

Raafat, D., Sahl, H-G. **Microbial Biotechnology.** Volume 2, Issue 2, pages 186-201, 13 JAN 2009 DOI: 10.1111/j.1751-7915.2008.00080.x  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1751-7915.2008.00080.x/full#f2>. Acesso em: 22 de maio de 2017.

Rangel, M.; MalpezzI, E. L. A.; Susini, S. M. M.; Freitas, J. C. **Hemolytic activity in extracts of the diatom Nitzschia.** Toxicon, v. 35, n. 2, p. 305-309, 1997.

Raveendran. S, Y. Yoshida, T. Maekawa, D.S. Kumar. **Pharmaceutically versatile sulfated polysaccharide based bionano platforms** Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine 9, 605 – 626, 2013.

Ren, J. L.; Sun, R. C.; Liu, C. F.; Cao, Z. N.; Luo, W. **Acetylation of wheat straw hemicelluloses in ionic liquid using iodine as a catalyst.** Carbohydrate Polymers, v. 70, n. 4, p. 406–414, 2007.

Rodríguez, R., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A. **Interactions of ibuprofen with cationic polysaccharides in aqueous dispersions and hydrogels Rheological and diffusional implications.** European Journal of Pharmaceutical Sciences, 20, 429–438, 2003.

Sahariah, P., Benediktssd ttir, B. E., Hj lmarsd ttir, M. ., Sigurjonsson, O. E., S rensen, K.K., Thygesen, M. B., Jensen, K. J., M sson, M. **Impact of Chain Length on Antibacterial Activity and Hemocompatibility of Quaternary N- Alkyl and N,N- Dialkyl Chitosan Derivatives.** Biomacromolecules, 16, 1449–1460, 2015.

Sang, W., Tang, Z., He, M-Y., Hua, Y-P., Xu, Q. **Synthesis and preservative application of quaternized carboxymethyl chitosan containing guanidine groups.** International Journal of Biological Macromolecules 75, 489–494, 2015.

Sen, F., Uzunsoy, I., Bastürk, E., Kahraman, M.V. **Antimicrobial agent-free hybrid cationic starch/sodium alginate polyelectrolyte films for food packaging materials.** Carbohydrate Polymers 170, 264–270, 2017.

Shak, K.P.Y., Wu, T.Y. **Synthesis and characterization of a plant-based seed gum via etherification for effective treatment of high-strength agro-industrial wastewater.** Chemical Engineering Journal 307, 928–938, 2017.

Silva, A.G., Rodrigues, J.F., Paula, R.C.M. **Composição e Propriedades Reológicas da Goma do Angico (Anadenanthera Macrocarpa Benth)**. *Polímeros: Ciência e Tecnologia* - Abr/Jun – 1998.

Silva, D.A. Feitosa, J.P.A., Maciel, J. S., Paula, H. C.B. **Characterization of crosslinked cashew gum derivatives**. *Carbohydrate Polymers*, V.66, pp. 16-26, 2006.

Silva, F.E.F., Di-Medeiros, M.C.B., Batista, K.A., Fernandes, K.F. **PVA/Polysaccharides Blended Films. Mechanical Properties**. *Journal of Materials*.  
<http://dx.doi.org/10.1155/2013/413578>, 2013.

Simi, C, K., Abraham, T.E. **Physico chemical properties of aminated tamarind xyloglucan**. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 81, 513–520, 2010.

Simi, C.K., Abraham, T.E. **Physico chemical properties of aminated tamarind xyloglucan**. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 81, 513–520, 2010.

Šimkovic I, Mendichi R, Uhliariková I. **Modification of polygalacturonic acid hydroxyls with trimethylammonium- and/ or sulfonate-2-hydroxypropyl group**. *Carbohydr Polym* 74:611–6, 2008

Šimkovic I. **What could be greener than composites made from polysaccharides?** *Carbohydr Polym*. 74, 759–62, 2008.

Šimkovic, I., Kelnar, I., Uhliariková, I., Mendichi, R., Mandalika, A., Elder, T. **Carboxymethylated-, hydroxypropylsulfonated- and quaternized xylan derivative films**. *Carbohydrate Polymers* 110, 464–471, 2014.

Singh, M., Tiwary, A. K., & Kaur, G. **Investigations on interpolymer complexes of cationic guar gum and xanthan gum for formulation of bioadhesive films**. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 5, 79–87, 2010.

Suflet, D.M., Popescu, I., Pelin, I.M., Nicolescu, A., Hitruc, G. **Cationic curdlan: Synthesis, characterization and application of quaternary ammonium salts of curdlan**. *Carbohydrate Polymers* 123, 396–405, 2015.

Sun, L., Du, Y., Fan, L., Chen, X., Yang, J. **Preparation, characterization and antimicrobial activity of quaternized carboxymethyl chitosan and application as pulp-cap.** *Polymer* 47, 1796–1804, 2006.

Tang, Y., Xie, L., Sai, M., Xu, N., Ding, D. **Preparation and antibacterial activity of quaternized chitosan with iodine.** *Materials Science and Engineering C*, 48, 1–4, 2015.

Thomas, J.J., Rekha, M.R., Sharma, C.P. **Dextran–glycidyltrimethylammonium chloride conjugate/DNA nanoplex: A potential non-viral and haemocompatible gene delivery system.** *International Journal of Pharmaceutics*. 389, 195–206, 2010.

Thomas, S. **Spectroscopic Tools.** Disponível em: <http://www.science-and-fun.de/tools/index.html>. Acesso em: 3/7/2015.

Tuchilus, C.G., Nichifor, M., Mocanu, G., Stanciu, M.C. **Antimicrobial activity of chemically modified dextran derivatives.** *Carbohydrate Polymers* 161, 181–186, 2017.

Ünlü, C.H; Kutlu, M; Atıcı, O.G. **Mannich reaction of polysaccharides: Xylan functionalization in aqueous basic medium.** *Carbohydrate Polymers*. Volume 127, Pages 19-27, 2015.

Wang, A., Wang, W. **Gum-g-copolymers: synthesis, properties, and applications,** in: S. Kalia, M.W. Sabaa (Eds.), *Polysaccharide Based Graft Copolymers*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 149–203, 2013.

Wang, C., Li, X., Du, B., Li, P, Li, H. **Associating and rheological behaviors of fluorinated cationic guar gum in aqueous solutions.** *Carbohydrate Polymers* 95, 637–643, 2013.

Wang, J-P., Chen, Y-Z., Yuan, S-J., Sheng, G-P., Yu, H-Q. **Synthesis and characterization of a novel cationic chitosan-based flocculant with a high water-solubility for pulp mill wastewater treatment.** *Water research*, 43, 5267 – 5275, 2009.

Wang, S., Hou, Q., Kong, F., Fatehi, P. **Production of cationic xylan–METAC copolymer as a flocculant for textile industry.** *Carbohydrate Polymers* 124, 229–236, 2015.

Wen, Y., Yao, F., Sun, F., Tan, Z., Tian, L, Xie, L. Song, Q. **Antibacterial action mode of quaternized carboxymethyl chitosan/poly (amidoamine) dendrimer core– shell nanoparticles against Escherichia coli correlated with molecular chain conformation.** *Materials Science and Engineering C* 48, 220–227, 2015.

Williams, P. A., & Phillips, G. O. **Introduction to food hydrocolloids**. In G. O. Phillips, & P. A. Williams (Eds.), *Handbook of hydrocolloids* (pp. 1–19) New York, NY: CRC Press, 2000.

Yodovin-Farber, I; Domb, A.J. **Cationic polysaccharides for gene delivery**. *Materials Science and Engineering: C*, 27, 595–598, 2007.

Yu, H., Huang, Y., Ying, H., Xiao, C. **Preparation and characterization of a quaternary ammonium derivative of konjac glucomannan**. *Carbohydrate Polymers*, 69, 29–40, 2007.

Zhang, G., Huang, K., Jiang, X., Huang, D., Yang, Y. **Acetylation of rice straw for thermoplastic applications**. *Carbohydrate Polymer*, 96: p. 218–226, 2013.