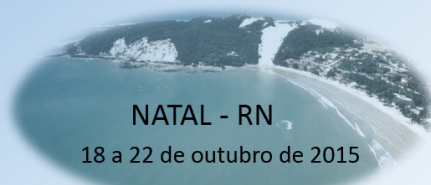




13º CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS



NATAL - RN
18 a 22 de outubro de 2015

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE GALACTOMANANA EXTRAÍDA A PARTIR DE SEMENTES DE *Prosopis juliflora*

Delane da C. Rodrigues¹(D), Arcelina P. Cunha¹(D), Williarda Q. de Oliveira¹(IC), Henriette M. C de Azeredo² e Maria Izabel Gallão^{1*}

¹RENORBIO, Centro de Ciência, Bloco 902, Universidade Federal do Ceará - UFC, izagalao@gmail.com

²EMBRAPA Agroindústria Tropical, CEP 60511-110, Fortaleza, CE.

Resumo:

Diversas sementes são ricas em polissacarídeos, os quais são muito utilizados em pesquisas e nas indústrias. O objetivo do trabalho foi extrair galactomanana de sementes de algaroba (*Prosopis juliflora*) e avaliar as suas propriedades químicas para futuras aplicações em filmes comestíveis. Para testar a viabilidade de uso do polissacarídeo, o rendimento foi obtido e o material analisado por Análises Térmicas (Análise Termogravimétrica-TGA e Calorimetria Exploratória Diferencial-DSC), Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN). De acordo com os resultados obtidos, a galactomanana apresentou equivalência com os polissacarídeos extraídos de outras fontes exceto pelo baixo rendimento (6,6%).

Palavras-chave: Polissacarídeos, Análises Térmicas, Algaroba.

Extraction and characterization of galactomannan extracted from Prosopis juliflora seeds

Abstract:

Different seeds are rich in polysaccharides, which are widely used in research and in industry. The objective was to extract galactomannan from mesquite seeds (*Prosopis juliflora*) and evaluate their chemical properties for future application in edible films. To test the feasibility of using the polysaccharide, the yield was obtained and the material analyzed by Thermal Analysis (TGA-Thermogravimetric Analysis and Calorimetry Differential Scanning-DSC), Spectroscopy Infrared Region Fourier Transform (FTIR) and Nuclear Magnetic Resonance (NMR). According to the results, the galactomannan was equivalent with the polysaccharides extracted from other sources except for the low yield (6.6%).

Keywords: Polysaccharides, Thermal Analysis, Mesquite.

Introdução

A algaroba (*Prosopis juliflora*) é uma árvore da família Leguminosae pertencente ao gênero *Prosopis*. As sementes pertencentes a esta família possuem endosperma rico em galactomananas, polissacarídeos que possuem duas unidades monoméricas, manose e galactose, a razão entre esses monômeros variando de acordo com a fonte e o processo de extração [1,2].

A estrutura polimérica de uma galactomanana apresenta unidades de β -D-manose que confere rigidez e conformação à cadeia principal, as quais são unidas por meio de ligações do tipo 1 \rightarrow 4. Os grupos laterais, ramificações simples, são constituídos por uma unidade de α -D-galactose, que se encontra presa à cadeia principal pelas posições 1 \rightarrow 6 [3].

Vários biopolímeros naturais têm sido utilizados para a preparação de filmes comestíveis, incluindo carboidratos e proteínas. Em geral, esses materiais são solúveis e suas soluções formam, após secagem, uma película fina e contínua [4]. Por esse motivo, a galactomanana extraída de *P. juliflora* será analisada quimicamente a fim de ser utilizada em futuras aplicações em filmes e revestimentos comestíveis.

Experimental

Extração de galactomanana

A extração da galactomanana ocorreu segundo a metodologia de Souza Filho *et al.* [5], com adaptações. As vagens de algaroba foram imersas em água por 24 h. O material foi processado para obtenção de uma solução aquosa, depois separado por filtração simples e colocado em estufa com circulação de ar forçado a 55 °C/24 h. Após a secagem, as cápsulas foram trituradas em moinho de facas tipo Willey para obter farinha de sementes. Cerca de 150g de farinha foram imersos em 1,5L de água destilada, e o sistema foi mantido sob agitação e aquecimento a 50 °C/1 h, filtrado em malha de aço e centrifugado a 13.000 rpm, 20 °C/15min. A precipitação do polissacarídeo ocorreu com adição de etanol 92,8° INPM na proporção de 1:2 (solução/etanol). O conjunto foi colocado em repouso por 24 h sob refrigeração. Em seguida, foi separado o precipitado e submetido ao processo de desidratação com acetona. Após esta etapa, foi realizada secagem em fluxo de ar contínuo. O material seco foi triturado em um moinho analítico (IKA, modelo A11 basic).

Espectroscopia de Infravermelho - FTIR

Os grupos funcionais do material foram analisados por espectroscopia na região do infravermelho médio, com transformada de Fourier, em um espectrofotômetro Agilent, modelo Cary 660, de resolução 4.0 e 128 varredura e número de ondas de 400 a 4000 cm^{-1} . Os espectros foram obtidos a partir da mistura de galactomanana com KBr.

Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN foram obtidos em um equipamento Agilent DD2 de 600 MHz (para núcleo de ^1H) e equipado com uma sonda One Probe de 5 mm de diâmetro interno (H-F/15N-31P) de detecção inversa e gradiente de campo no eixo "z". As amostras foram preparadas dissolvendo-se aproximadamente 5 mg de galactomanana de algaroba em 550 μL de D_2O e esta solução foi submetida a ultrassom por 20 minutos. Em seguida, um espectro unidimensional de ^1H foi realizado a 80°C com um tempo de espera entre cada aquisição de 2s, aquisição de 128 transientes em uma janela espectral de 16 ppm e 32k de número de pontos. O espectro unidimensional de ^{13}C foi obtido com um tempo de espera entre cada aquisição de 1s, aquisição de 20k de transientes em uma janela espectral de 251,1 ppm e 32k de número de pontos. Os picos foram integralizados utilizando o software VNMRJ 4.0.

Análise Termogravimétrica (TGA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise termogravimétrica dos polissacarídeos foi conduzida num intervalo de temperatura de 25 a 900 °C, sob atmosfera de ar sintético, com uma taxa de fluxo de 10 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ utilizando cadinhos de alumina. Uma taxa constante de 20°C. min^{-1} aqueceu uma massa de galactomanana de aproximadamente 10 mg. Um analisador térmico STA 6000 (PERKIN ELMER) foi utilizado para este estudo.

A análise térmica foi realizada em um calorímetro diferencial de varredura (TA instruments-Q20), a uma taxa de aquecimento e resfriamento de 10 °C. min^{-1} , sob uma atmosfera de nitrogênio com vazão de 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Em cadinhos de platina hermeticamente fechados, foram pesados 5±0,3 mg da amostra. O primeiro ciclo de aquecimento foi de -10 até 105°C e, em seguida, a amostra foi resfriada a -10 °C. O segundo ciclo de aquecimento ocorreu até 500 °C.

Resultados e Discussão

Rendimento de galactomanana

Por meio do processo de purificação, o rendimento encontrado foi em torno de 6,6% com base na massa de sementes moídas. A otimização da metodologia de extração promoveu a obtenção de um maior rendimento se comparado ao relatado por Souza Filho *et al.* [5], que alcançou a partir de 200g de sementes moídas 6,1% do polissacarídeo inferior ao rendimento encontrado por Vieira *et*

al. [6] que obteve 10-14% de polissacarídeo. Este baixo valor de rendimento pode estar associado à retirada manual do tegumento da semente de algaroba.

Espectroscopia no Infravermelho

Os espectros do polissacarídeo obtidos na região do infravermelho são mostrados na Fig. 1. A banda a 3397 cm^{-1} pode estar relacionada ao estiramento vibracional de grupos OH [7], e banda a 2925 cm^{-1} ao grupamento CH [8]. A banda em 1635 cm^{-1} refere-se ao estiramento dos anéis de galactose e de manose [9]. A região entre 1.200 a 1.460 cm^{-1} está relacionada a deformações simétricas dos grupos COH e CH₂ [10,11]. A banda em 1.149 cm^{-1} pode ser atribuída as vibrações de alongamento do anel piranosídico. A banda em torno de 1.072 cm^{-1} pode ser relacionada ao estiramento do álcool primário (CH₂OH) e a banda na faixa de 1.029 cm^{-1} pode ser devida à torção vibracional do CH₂ [11]. As bandas 815 cm^{-1} e 867 cm^{-1} referem-se ao estiramento das conformações anoméricas dos polissacarídeos, respectivamente, α -D-galactopironose e β -D-manopirranose [12,13]. A área entre 800 - 1200 cm^{-1} é chamada de região "finger print" (impressões digitais) dos carboidratos, zona presente em todos os polissacarídeos [14].

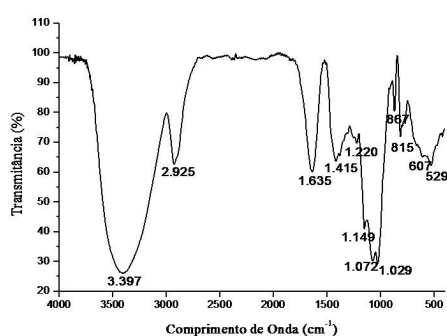


Figura 1 - Espectro de infravermelho para galactomana (*P. juliflora*).

Análise Estrutural dos polissacarídeos por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Pelas análises de RMN e de acordo com os dados da literatura, foi possível obter a relação Galactose/Manose a partir da integração na região dos sinais anoméricos observados no espectro de RMN ¹H de galactomanana. Analisando o espectro de ¹H (Fig. 2a), observaram-se sinais largos e sobrepostos na região entre δ 3,7 e δ 4,0, os quais dificultaram a atribuição por esse espectro. Porém, em campo mais baixo, observaram-se dois deslocamentos bem resolvidos. A partir de ¹H, os sinais mais intensos surgem em δ 5,03 (G) e outro menos intenso em δ 4,75 (M) referentes aos hidrogênios ligados aos carbonos anoméricos das unidades monossacarídicas compatível com a formação do anel α -D-galactopirranose e β -D-manopirranose, respectivamente. Gallão *et al.* [15] encontraram intensidades de sinais opostos aos que foram citadas, sendo mais intenso para a manose ao invés da galactose. Através da integração das áreas relativas aos sinais de ¹H (G) e ¹H (M), foi possível encontrar uma razão G/M (1:1,13). A mesma razão foi encontrada por Vieira *et al.* [6] quando realizaram a análise de RMN com o mesmo material. Porém, a razão mencionada difere de outros trabalhos encontrados na literatura, como a razão G/M (1:4,2) por Figueiredo, Price [16]. Dependendo da fonte e da razão G/M há uma gradação nas propriedades reológicas da galactomanana. Por exemplo, quanto maior a razão G/M maior a solubilidade e viscosidade facilitando a aplicação em dispersões filmogênicas. A resolução do espectro permitiu visualizar as regiões específicas dos carbonos anoméricos (δ 100,5 e 99,3) referentes à α -D-galactopirranose (C-1) e β -D-manopirranose (C-1) para o campo mais baixo dos carbonos substituídos e não substituídos (δ 67,0 e 78,0) e região do C-6 da galactose (δ 61,7) e da manose substituídos (δ 67,1) e não substituídos (δ 61,1) para campo mais alto [17]. A região do carbono anomérico do ¹³C-RMN (Fig.2b) também permitiu obter a razão G/M 1:1,08, através da integração dos C-1 (M) e (G), valor próximo ao obtido pelo espectro de ¹H-RMN.

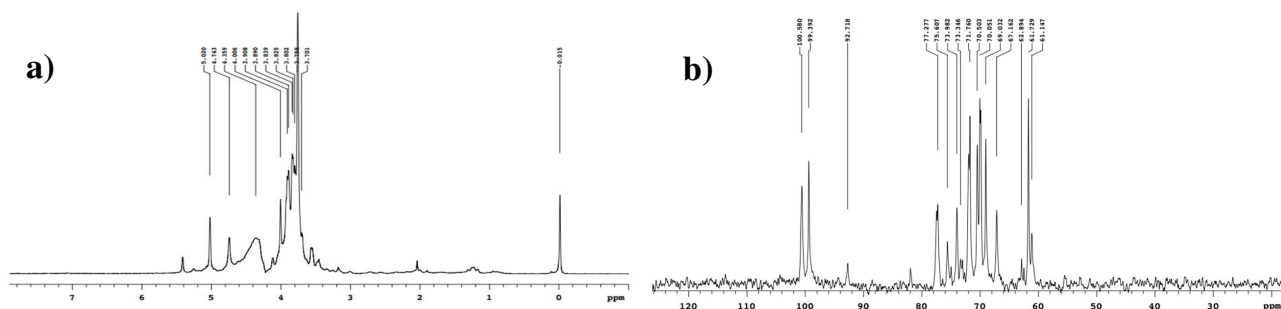


Figura 2 - Espectro de RMN do Hidrogênio (^1H) (a) e do Carbono (^{13}C) (b) de Galactomanana (*P. juliflora*) em 600 MHz de frequência, dissolvida em D_2O .

Análise Termogravimétrica (TGA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Na Fig. 3, observam-se dois eventos de perda de massa bem característicos para galactomanana. O primeiro evento ocorreu próximo a 100°C e resultou em perda mássica de aproximadamente 2,5%, associada à evaporação de água. A perda de água adsorvida aos polissacarídeos está associada à sua natureza hidrofílica. O segundo evento, em torno de 300°C , é atribuído à decomposição térmica dos polissacarídeos com perda de massa de 26,5% [18,19]. Cerqueira *et al.* [20] relataram dados termogravimétricos para galactomananas isoladas a partir de *G. triacanthos*, *C. pulcherrima* e *A. pavonina*, que mostraram o aparecimento de dois eventos de perda mássica. Os valores obtidos na TGA são corroborados pelos resultados de DSC, que mostra um decaimento endotérmico, em torno de 300°C , característico da degradação da galactomanana. O primeiro evento endotérmico apresentou um pico em 143°C . Observa-se na Fig.3b, um pequeno evento em torno de 66°C , característico da temperatura de Transição vítrea (T_g) da galactomanana.

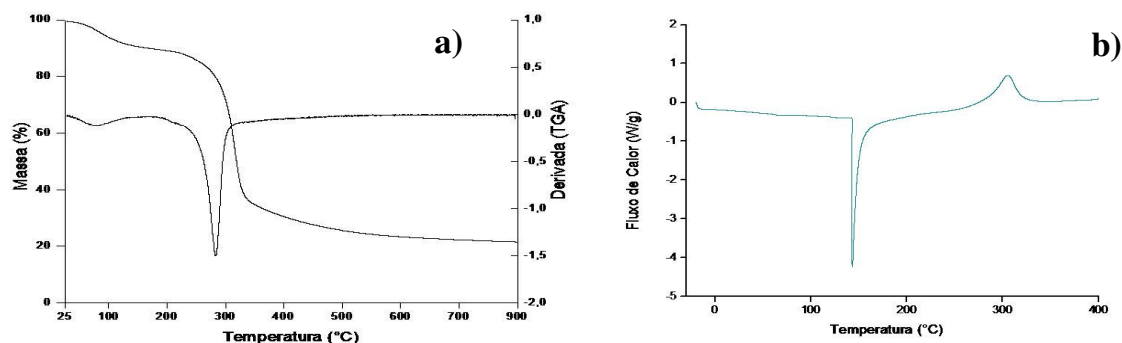


Figura 3 - Curvas termogravimétricas (TGA - DerivadaTGA) (a) e termograma de DSC (b).

Os diferentes valores de T_g , encontrados na literatura, para galactomananas extraídas de diferentes fontes podem estar relacionados à estrutura química do polissacarídeo, em particular, à razão G/M e ao padrão de distribuição da Galactose e Manose ao longo da cadeia. No entanto, Cerqueira *et al.* [12] avaliando o estudo térmico de galactomananas, obtidas de diferentes fontes vegetais, relacionaram o conteúdo molecular 52,8% de manose com o valor da T_g ($66,9^\circ\text{C}$) para *A. pavonina*, sendo iguais aos valores (conteúdo molecular e T_g) encontrados no presente trabalho.

Conclusões

Considerando a pequena dimensão da semente de algaroba, o rendimento obtido foi menor que os encontrados na literatura, podendo, assim, ser compatível quimicamente com outras fontes de galactomanana. Através do FTIR, foi possível visualizar a região "finger print" dos polissacarídeos e das bandas característica da galactomanana em estudo. Por meio da análise de RMN, foi possível obter a razão G/M tanto para ^1H quanto ^{13}C , apresentando valores similares. Em

relação ao seu comportamento térmico, foi possível observar os principais eventos relacionados à degradação e transição vítrea. Ao comparar as análises térmicas da galactomanana com a literatura, nota-se a importância de pesquisas complementares na elucidação do comportamento térmico dos polissacarídeos.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos órgãos de fomento: FUNCAP. A Embrapa Agroindústria Tropical, pela infraestrutura fornecida.

Referências Bibliográficas

1. H. BHATIA; P.K. GUPTA; P.L. SONI *Carbohydrate Polymers*, 2014, 101, 438-443.
2. J.F. BENTO; I. MAZZARO; L.M.A. SILVA; R.A. MOREIRA; M.L.C. FERREIRA; F. REICHER; C.L.O. PETROWICZ *Carbohydrate Polymers*, 2013, 92, 192-199.
3. M.A. CERQUEIRA *Carbohydrate Polymer*, 2009, 75, 408-414,
4. J. WAN; C. LIU; W. LIU; Z. TU; W. WU; H. TAN *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 60, 603-608.
5. M.S.M. SOUZA FILHO; R.M. NASCIMENTO; F.L. CAVALCANTE; M.F. ROSA; J. P.S. MORAIS; J.P.A. FEITOSA; E.F. MELO; M.R. CRUZ; L.C. ALEXANDRE *Comunicado Técnico 209*, 2013, 1679-6535.
6. I.G.P. VIEIRA; F.N.P. MANDES; M.I. GALLÃO; E.S. BRITO *Food Chemistry*, 2007, 101, 70-73.
7. S.N. YUEN; S.M. CHOI; D.L. PHILLIPS; C.Y. MA, *Food Chem.* 2009, 114, 1091-1098.
8. S.A. TAVARES; J. PEREIRA; M.C. GUERREIRO; C.J. PIMENTA; L. PEREIRA; S.V. MISSAGIA *Ciência e Agrotecnologia*, 2011, 35, 973-979.
9. R.M. SILVERSTEIN; F.X. WEBSTER *LTC Editora*, 2005.
10. G. SOCRATES *West Sussex: John Wiley and Sons*, 2004.
11. J.WANG; P. SOMASUNDARAN *J. of Colloid and Interface Science* 2006, 293, 322-332.
12. M.A. CERQUEIRA; A. BOURBON; A. PINHEIRO; J. MARTINS; B. SOUZA; J. TEIXEIRA *Trends in Food Science & Techn.* 2011, 22, 662-671.
13. F.C.A. BURITI; K.M.O. DOS SANTOS; V.G. SOMBRA; J.S. MACIEL; D.M.A. TEIXEIRA; H.O. SALLES; G. OLIVEIRA; R.C.M. DE PAULA; J.P.A. FEITOSA; A.C.O. MONTEIRO MOREIRA; R.A. MOREIRA; A. S. EGITO *Food Hydrocol.*, 2014, 35, 512-521.
14. S.M.A. RAZAVI; S.W.CUI; Q. GUO; H. DING *Food Hydrocolloids*, 2014, 35, 453-462.
15. M.I. GALLÃO; L.O. NORMANDO; I.G.P. VIEIRA; F.N.P. MENDES; N.M.P.S. RICARDO; E.S. BRITO *Industrial Crops and Products*, 2013, 47, 58-62.
16. A.A. FIGUEIREDO; R.L. PRICE *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 1990, 10, 287-300.
17. H.A. PAWAR; K.G. LALITHA *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014, 65, 167-175.
18. J. ANTONIOU; F. LIU; H. MAJEED; F. ZHONG *Food Hydrocol.* 2015, 44, 309-319.
19. C.W. VENDRUSCOLO; C. FERRERO; E.A. PINEDA; J.L. SILVEIRA; R.A. FREITAS; M.R. JIMENEZ-CASTELLANOS *Carbohydrate P.* 2009, 76, 86-93.
20. M.A. CERQUEIRA; B.W. S. SOUZA; J. SIMÕES; J.A. TEIXEIRA; M.R.M. DOMINGUES; M.A. COIMBRA; A.A. VICENTE *Carbohydrate Polymer*, 2011, 83, 179-185.