

Extração e Caracterização da Galactomanana de Sementes de *Caesalpinia pulcherrima*

Edwin G. Azero e Cristina T. Andrade

Resumo: A galactomanana de sementes de *Caesalpinia pulcherrima* foi extraída em água e purificada, com rendimento de 25 %. A razão D-manose/D-galactose, $M/G = 3,1$, viscosidade intrínseca, $[\eta] = 11,2$ dL/g (em água a 298 K), e a massa molar viscosimétrica média, $\overline{M}_v = 1,7 \times 10^6$, foram determinadas. A variação da viscosidade específica sob taxa de cisalhamento zero, η_{sp_0} , em função do parâmetro de sobreposição, $C[\eta]$, mostrou dependências de $\eta_{sp_0} \propto (C[\eta])^{1,1}$ e de $\eta_{sp_0} \propto (C[\eta])^{4,2}$, nos regimes diluído e concentrado, respectivamente. A correlação entre as propriedades reológicas sob cisalhamento contínuo e dinâmico obedeceram satisfatoriamente ao princípio de Cox-Merz.

Palavras-chave: Galactomanana, *Caesalpinia pulcherrima*, razão D-manose/ D-galactose, propriedades reológicas em solução

Introdução

Galactomanana é a denominação dada a polisacarídeos neutros, extraídos do endosperma de sementes de certas leguminosas. Esses polímeros se constituem de um esqueleto formado por unidades repetidas de β -D-manose, ligadas entre si por pontes de oxigênio do tipo 1 \rightarrow 4. Unidades α -D-galactose encontram-se ligadas à cadeia principal por ligações de oxigênio do tipo 1 \rightarrow 6. O teor e a distribuição das unidades D-galactose dependem da origem e da espécie de leguminosa, e das técnicas de extração utilizadas para a sua obtenção.

Dentre uma centena de espécies de leguminosas, cujo endosperma é constituído de galactomanana, apenas *Ceratonia siliqua* e *Cyamopsis tetragonolobus* têm sido extensamente cultivadas com fins comerciais. A primeira, *C. siliqua*, denominada de goma alfarroba

(“carob gum” ou “locust bean gum”), LBG, pertence à sub-família *Caesalpinaceae*, e é originária do litoral mediterrâneo. A árvore pode alcançar 9 m de altura, mas leva em média 15 anos para frutificar^[1]. Ela foi a única fonte de galactomanana até a Segunda Guerra Mundial. Na década de 40, devido à carência de goma alfarroba, a planta guar (*C. tetragonolobus*), originária do Paquistão, foi aclimatada nos Estados Unidos^[2]. Desde então, a produção de sua goma, GG, ultrapassa à de alfarroba^[1,2].

As galactomananas produzem soluções aquosas de viscosidade elevada, o que as torna comercialmente úteis, principalmente como espessantes de sistemas aquosos. Dentre as duas galactomananas comerciais, a goma alfarroba é a que apresenta o menor teor em D-galactose. A Tabela 1 apresenta a composição e algumas outras características das gomas alfarroba e guar, de acordo com a literatura^[3].

Tabela 1. Características químicas e físico-químicas de galactomananas comerciais purificadas^[3].

Goma	Cinzas (%)	Proteínas (%)	M/G	[η] (dL/g)
Alfarroba	0,36	0,57	4,04	14,8
Guar	0,46	0,27	1,68	12,0

M/G - razão D-manose/D-galactose

[η] - viscosidade intrínseca

A razão M/G exerce influência sobre a solubilidade relativa das galactomananas. Em geral, quanto maior o teor em D-galactose, maior a sua solubilidade em água^[4]. Enquanto que a GG solubiliza-se completamente em água fria, a LBG só pode ser dispersa pelo aquecimento a 80 – 90 °C, durante 15 a 20 minutos. A razão M/G não é o único fator a influenciar as propriedades funcionais das galactomananas e contribuir para a sua utilização industrial. A massa molar e a distribuição seqüencial dos resíduos galactopiranosila, ao longo da cadeia principal, são também importantes.

A produção de galactomananas constitui-se em atividade lucrativa em muitas regiões do mundo e compreende várias etapas, que vão do plantio e colheita de sementes até a obtenção industrial da goma. O primeiro passo para a avaliação de um produto novo consiste no estudo de suas propriedades funcionais, o que usualmente é realizado através de sua caracterização reológica.

O comportamento reológico em solução das gomas alfarroba^[5-7] e guar^[8-11] foi estudado por diversos autores. No entanto, pouco tem sido relatado sobre as propriedades funcionais de galactomananas de fontes não-tradicionais^[12-14]. Neste trabalho, como parte de um projeto extenso, no qual outras fontes não-tradicionais de galactomananas foram estudadas, as sementes de *Caesalpinia pulcherrima*, arbusto aclimatado e disseminado no país, e conhecido vulgarmente como “barba de barata”, foram utilizadas. Após extração e purificação, o produto obtido, goma CP, foi caracterizado quanto à razão M/G e submetido a experimentos reológicos sob cisalhamento contínuo e oscilatório.

Experimental

Materials

Sementes de *Caesalpinia pulcherrima*, colhidas de árvores selecionadas no Estado do Rio de Janeiro, foram secas ao sol e trituradas em moinho. A

extração de lipídeos foi realizada em Soxhlet, com a mistura tolueno:álcool etílico (2:1), durante um período de 16 horas. Após secagem, o pó resultante foi suspenso em água e o polissacarídeo foi extraído sob agitação a temperatura ambiente, durante 1 noite. A mistura foi filtrada em papel. O filtrado foi centrifugado a 12.000 rpm durante 1 h. Após separação da solução sobrenadante, a galactomanana foi recuperada por precipitação em volume duas vezes superior de álcool isopropílico. O produto foi lavado duas vezes com álcool isopropílico. Acetona e éter etílico foram usados em lavagens subseqüentes^[7], após as quais o produto foi seco em estufa a 40°C.

Métodos

A razão M/G foi determinada após hidrólise ácida e análise dos monossacarídeos resultantes por cromatografia de troca iônica de alta eficiência com detecção amperométrica pulsada, HPAEC-PAD. Para a reação de hidrólise, uma dispersão de polissacarídeo de concentração 80 mg/mL, foi preparada em solução aquosa de H₂SO₄ 6N, e mantida sob agitação a temperatura ambiente, durante 1 h e 30 min. A dispersão foi diluída a 29 mg/mL e a reação prosseguiu por um período adicional de 2 horas. A mistura resultante da hidrólise foi filtrada através de membranas Millipore de 0,45 μ m, injetada no cromatógrafo e analisada com auxílio de 2-deoxi-D-ribose como padrão^[15].

Os teores de umidade e de cinzas foram determinados de acordo com os métodos ASTM D1439-72 e ASTM D1347-72. O teor total de nitrogênio foi determinado pelo método de Kjeldahl; o fator 5,87 foi utilizado para o cálculo da porcentagem total de proteína^[16].

As soluções poliméricas de diferentes concentrações foram preparadas a partir de diluições de uma solução-mãe, obtida através de agitação a temperatura ambiente, durante uma noite. As concentrações reais foram determinadas em triplicata, após evaporação do solvente em estufa a 105 \pm 1 °C, durante 2 horas. Após resfriamento em dessecador, este procedimento foi repetido até atingir-se massa constante, isto é, até a perda de massa não ultrapassar 5 mg após 30 minutos de tempo de secagem (ASTM D1439-72).

Para a determinação da viscosidade intrínseca, [η], uma solução-mãe a 0,5 g/L foi preparada e centrifugada a 12.000 rpm durante 1 h. Soluções diluídas em água e

homogeneizadas em misturador tipo vortex da marca Ika-Vibro-Fix foram analisadas sob cisalhamento contínuo em reômetro Contraves Low Shear-40, equipado com geometria de cilindros coaxiais (MS-DIN 412), na faixa de taxa de cisalhamento, $\dot{\gamma}$, correspondente ao platô Newtoniano. As concentrações das soluções foram escolhidas de modo a fornecer viscosidades relativas entre 1,2 a 2,0, e garantir a extrapolação linear à concentração zero^[17]. As equações de Huggins (Equação 1) e de Kraemer (Equação 2) foram utilizadas.

$$\eta_{sp}/C = [\eta] + k_H [\eta]^2 C \quad (1)$$

$$(\ln \eta_{red})/C = [\eta] - k_K [\eta]^2 C \quad (2)$$

onde k_H e k_K são os coeficientes de Huggins e de Kraemer, respectivamente, e C é a concentração da solução, dada em g/dL.

A massa molar viscosimétrica média, \overline{M}_v , foi calculada pela equação proposta por Doublier e Launay^[5] para a goma guar, e posteriormente modificada^[6] por Gaisford e colaboradores,

$$[\eta] = 11.55 \times 10^{-6} [(1 - r)\overline{M}_v]^{0.98} \quad (3)$$

onde r representa a razão galactose/(manose + galactose) e $[\eta]$ a viscosidade intrínseca, dada em dL/g.

Ensaios reológicos sob cisalhamento contínuo de soluções de concentrações 1,2 a 10 g/L foram realizados em reômetro Contraves Low Shear-40, equipado com a mesma geometria descrita acima, na faixa de $\dot{\gamma}$ entre 10^{-3} a 10^2 s⁻¹. Para as soluções mais concentradas ($C > 5,0$ g/L) medidas foram realizadas em reômetro de tensão controlada Haake RS 100, com geometria cone-placa, ângulo do cone de 4°, na faixa de $\dot{\gamma}$ entre 0,1 a 720 s⁻¹.

Ensaios reológicos sob cisalhamento oscilatório, em função da frequência, ω , foram realizados no reômetro Haake com a mesma geometria, na faixa de 10^{-2} a 10^2 rad s⁻¹. A deformação foi fixada em 2,0, a fim de garantir-se condições de trabalho dentro da região viscoelástica linear. Todos os experimentos foram realizados a 25°C.

Resultados e Discussão

Nas sementes de *Caesalpinia pulcherrima*, o endosperma representa em média 38-40% da massa total da semente seca. Resultados da literatura mostram valores de 42-46% para a goma alfarroba^[18] e de 35-42% para a goma guar^[9]. Nos processos indus-

triais de extração, após a separação das sementes das vagens, alguns métodos têm sido usados para separar com eficiência o endosperma, da casca e do germen. A extração da galactomanana usualmente envolve uma remoção preliminar da casca dura. Um dos métodos adota a carbonização a temperaturas superiores a 100°C e, depois, o material resultante é moído. Em outro processo muito usado industrialmente, a semente é submetida a tratamento com ácido sulfúrico para separar a casca dos demais constituintes. A moagem das sementes secas é também utilizada. Neste trabalho, a moagem das sementes secas precedeu a extração da goma CP. Com a finalidade de obter-se produtos de pureza elevada, a extração e a purificação foram realizadas sucessivamente, sem o isolamento intermediário do produto bruto. O rendimento em polissacarídeo foi de 25%.

A Tabela 2 apresenta a composição da goma CP purificada. Os valores apresentados correspondem à média de três determinações. A partir desta tabela e de dados da literatura para a goma alfarroba^[3], pode-se verificar que o processo de purificação foi eficiente para eliminar, ao menos em boa parte, cinzas e proteínas. O valor encontrado para a razão D-manose/D-galactose, M/G = 3,1, apresenta-se intermediário aos valores citados para as galactomananas comerciais^[3].

A Figura 1 mostra as extrapolações de Huggins e de Kraemer para a goma CP. As relações levaram a extrapolações razoavelmente lineares à diluição infinita, com uma convergência satisfatória das duas retas.

Para a determinação de $[\eta]$, os resultados médios de viscosidade relativa de soluções diluídas no platô Newtoniano foram considerados. O valor determinado através da extrapolação de Huggins, $[\eta] = 11,2$ dL/g, é maior do que aqueles determinados para amostras comerciais de GG, para os quais $[\eta]$ variou na faixa^[5] 2,3 a 10,0 dL/g.

A constante k_H caracteriza a variação da viscosidade com a concentração e é considerada como um índice

Tabela 2. Composição da goma CP.

Goma CP	Composição(%)
Umidade	9,1
Cinzas	0,3
Proteína	0,6
Galactomanana	99,1

a - O teor em galactomanana foi calculado por diferença, a partir da massa do produto seco

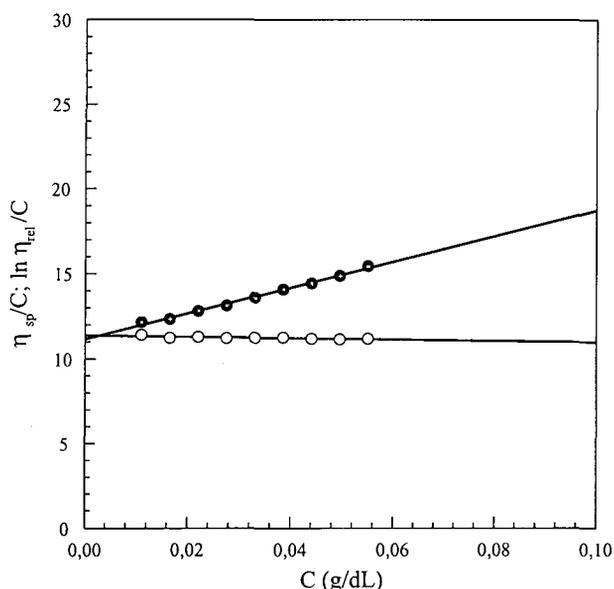


Figura 1. Determinação da viscosidade intrínseca da goma CP.

que mede as interações polímero-solvente. O seu valor é influenciado pela agregação entre as macromoléculas. Normalmente, k_H varia de 0,3 a 0,7 em bons solventes^[20]. O valor $k_H = 0,6$, determinado no presente estudo, evidencia a eficiência do processo de solubilização da goma CP. A massa molar viscosimétrica média, $M_v = 1,7 \times 10^6$, calculada a partir da Equação 3, confirma a característica comum às galactomananas de possuírem altas massas molares.

A Figura 2 mostra curvas de fluxo obtidas no reômetro LS-40. Nessas curvas, a variação da viscosidade relativa, η_{rel} , em função de $\dot{\gamma}$, pode ser observada para soluções aquosas da goma CP, a concentrações na faixa de 1,2 a 10 g/L. Para as soluções mais diluí-

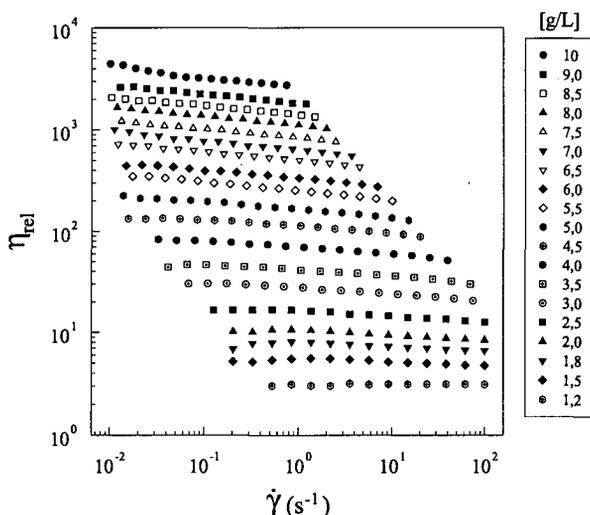


Figura 2. Variação de η_{rel} em função de $\dot{\gamma}$ para soluções da goma CP, a 25°C.

das, o comportamento Newtoniano é observado. Soluções de concentrações mais elevadas apresentam comportamento levemente pseudoplástico, cujo início depende da concentração.

Em soluções de concentração moderada, a viscosidade é controlada principalmente pelo volume total ocupado pelos novelos poliméricos, caracterizado pelo parâmetro de sobreposição, $C[\eta]$. Este parâmetro é independente do tipo e da massa molecular do polímero. Para vários polímeros, inclusive polissacarídeos, que em solução apresentam conformação desordenada, uma curva-mestra do tipo $\log \eta_{sp0}$ versus $\log C[\eta]$ é obtida. Esta curva pode ser subdividida em duas regiões lineares, com uma única concentração crítica reduzida^[21], em geral dada por $C^*[\eta] \approx 4$. Esta concentração delimita os regimes diluído e concentrado. O regime diluído, no qual a viscosidade é determinada por moléculas isoladas, é caracterizado pela variação da viscosidade em função de $C^*[\eta]$ com inclinações na faixa 1,2 a 1,4. Para o regime concentrado, no qual as cadeias macromoleculares encontram-se entrelaçadas, a inclinação aumenta^[21] para $\approx 3,4$. No entanto, as galactomananas apresentam desvios desse comportamento generalizado^[21], com valor de $C^*[\eta] \approx 2,5$ e inclinações para o regime concentrado na faixa^[3,9,13,14,21] de 3,9 - 6,6. Esses desvios têm sido atribuídos a associações intermoleculares específicas, denominadas de hiper-entrelaçamentos, entre as regiões não-substituídas da cadeia principal da galactomanana. Para a goma CP, a dependência da

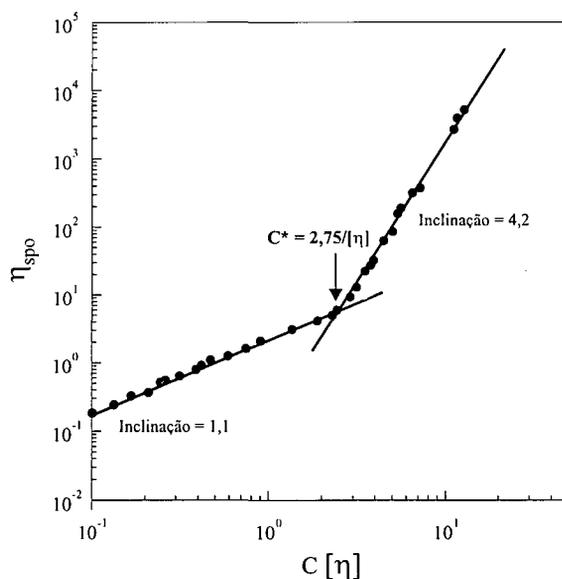


Figura 3. Variação de η_{sp0} em função de $C[\eta]$, para soluções da goma CP, a 25°C.

viscosidade com a concentração crítica reduzida na região correspondente ao regime diluído apresenta uma inclinação de 1,1 e, na região correspondente ao regime concentrado, esta dependência é de 4,2. A variação da viscosidade específica sob taxa de cisalhamento zero, $\eta_{sp,0}$, com o parâmetro de sobreposição, $C[\eta]$, é mostrada na Figura 3.

A investigação do caráter viscoelástico de sistemas poliméricos pode ser realizada através da aplicação de deformações pequenas, em experimentos sob cisalhamento oscilatório. A variação do módulo de armazenamento, G' , do módulo de perda, G'' , e da viscosidade dinâmica, η^* , com a frequência oscilatória, ω , fornece informação sobre o caráter viscoelástico do sistema. A Figura 4 mostra o espectro mecânico obtido para soluções da goma CP a 10, 8,0, e 5,0 g/L, concentrações superiores à C^* . Na faixa de frequência oscilatória empregada, as soluções da goma CP apresentaram comportamento típico de sistemas com entrelaçamentos físicos. Sob frequências baixas, o comportamento típico de um líquido é observado, com $G'' > G'$. A frequências mais elevadas, o sistema comporta-se como sólido, com $G' > G''$. A frequência correspondente ao ponto de interseção de G' com G'' , que pode ser tomado como o início do platô elástico, desloca-se para valores mais baixos com o aumento da concentração.

A correlação entre as propriedades reológicas sob cisalhamento contínuo e as propriedades reológicas sob cisalhamento oscilatório, para valores corres-

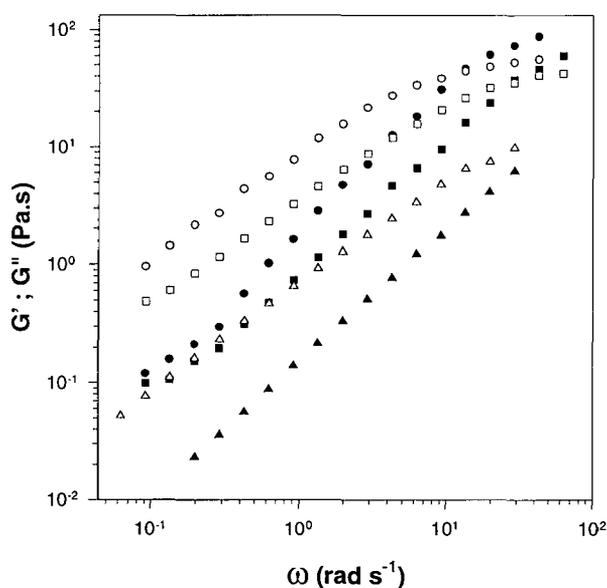


Figura 4. Variação de G' e G'' em função de ω para soluções da goma CP a $C = 10$ g/L (\bullet , G' ; \circ , G''); a $C = 8$ g/L (\blacksquare , G' ; \square , G'') e a $C = 5$ g/L (\blacktriangle , G' ; \triangle , G''), a 25°C.

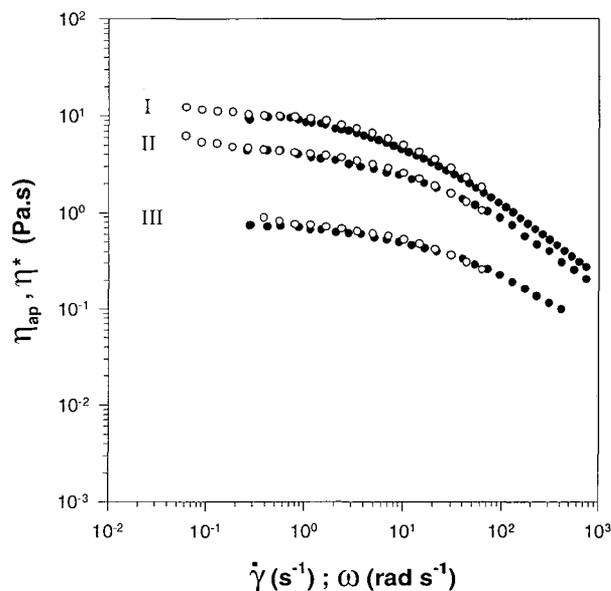


Figura 5. Aplicação da regra de Cox-Merz a soluções de goma CP, a 10,0 (curva I); 8,0 (curva II) e 5,0 g/L (curva III), a 25°C; (\bullet , η_{ap} ; \circ , η^*).

pondentemente iguais de $\dot{\gamma}$ e ω , tem sido investigada na literatura para polímeros sintéticos [22], bem como para soluções de biopolímeros [11]. Esta correlação empírica, denominada de regra de Cox-Merz [23], foi aplicada às soluções da goma CP nas concentrações 10,0, 8,0 e 5,0 g/L. Na Figura 5, pode-se observar a quase perfeita superposição de $\eta_{ap}(\dot{\gamma})$ e $\eta^*(\omega)$, para as três soluções, o que evidencia que, ao menos na faixa $10^{-1} < \dot{\gamma} < 10^2$ estudada, rearranjos moleculares semelhantes ocorreram, tanto sob cisalhamento contínuo como oscilatório.

Conclusão

A galactomanana de sementes de *Caesalpinia pulcherrima*, goma CP, após extração da semente moída e purificação, foi obtida com alto rendimento. A razão D-manose/D-galactose, $M/G = 3,1$, determinada para a goma CP, pode ser considerada um valor intermediário àqueles citados na literatura para as galactomananas comerciais, LBG e GG. Os valores de viscosidade intrínseca e de massa molecular viscosimétrica média, determinados para essa galactomanana, mostraram-se comparáveis àqueles reportados na literatura para galactomananas comerciais. O comportamento da viscosidade em função da concentração e as propriedades viscoelásticas da goma CP seguiram o padrão característico, observado para galactomananas comerciais. Conseqüentemente, pode-se afirmar que a goma CP constitui-se

em fonte alternativa para as galactomananas existentes no mercado.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Dr. G. Cruz pela determinação da razão M/G, ao CENPES-PETROBRÁS pela utilização do reômetro Haake RS 100, ao CEPG-UFRJ, à CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Referências bibliográficas

1. Rol, F.- "Locust bean gum", in: Industrial Gums, cap. 15, Roy L. Whistler, & J. N. BeMiller (ed.), Academic Press Inc., New York (1973)
2. Goldstein, A.M.; Alter, E.N. & Seaman, J.K.- "Guar gum", in: Industrial Gums, cap. 14, Roy L. Whistler, & J. N. BeMiller (ed.), Academic Press Inc., New York (1973)
3. Fernandes, P.- "O efeito da goma de alfarroba na estrutura e comportamento reológico de sistemas de kappa-carragenina", Tese de Doutorado, Universidade Católica Portuguesa, Portugal (1992)
4. Dea, I.C.M.; Morris, E.R.; Rees, D.A.; Welsh, E.J.; Barnes, H.A. & Price, J. - Carbohydr. Res., 5, p.249 (1977)
5. Doublier, J.L. & Launay, B.- J. Text. Studies, 12, p.151 (1981)
6. Gaisford, S.E.; Harding, S.E.; Mitchell, J.R. & Bradley, T.D.- Carbohydr. Polym., 6, p.423 (1986)
7. Lopes da Silva, J.A. & Gonçalves, M.P.- Food Hydrocoll., 4, p.277 (1990)
8. Whitcomb, P.J.; Gutowski, J. & Howland, W.W.- J. Appl. Polym. Sci., 25, p.2815 (1980)
9. Robinson, G.; Ross-Murphy, S.B. & Morris, E.R.- Carbohydr. Res., 107, p.17 (1982)
10. Mills, P.L. & Kokini, J.L.- J. Food Sci., 49, p.1 (1984)
11. Richardson, R.K. & Ross-Murphy, S.B.- Int. J. Biol. Macromol., 9, p.250 (1987)
12. Sharman, W.R.; Richards, E.L. & Malcolm, G.N.- Biopolymers, 17, p.2817 (1978)
13. Ganter, J.L.M.S.; Milas, M.; Corrêa, J.B.C.; Reicher, F. & Rinaudo, M.- Carbohydr. Polym., 17, p.171 (1992)
14. Kapoor, V.; Milas, M.; Tavel, F.R. & Rinaudo, M.- Carbohydr. Polym., 25, p.79 (1994)
15. Cruz, G.- Universidade de Piura, Piura, Peru, Comunicação pessoal
16. Anderson, D.M.W.- Food Add. Contam., 3, p.231 (1986)
17. Morris, E.R. & Ross-Murphy, S.B.- "Chain flexibility of polysaccharides and glycoproteins from viscosity measurements", in: Techniques in Carbohydrate Metabolism, B310, D.H. Northcote (ed.), Elsevier/North Holland Scientific Publishers Ltd., Amsterdam (1981)
18. Seaman, J.K.- "Locust bean gum", in: Handbook of Water Soluble Gums and Resins, cap. 14, R.L. Davidson (ed.), Mc Graw-Hill Book Company, New York (1980)
19. Fernandes, P.- Food Chem., 49, p.367 (1994)
20. Tager, A.- "Physical Chemistry of Polymers", Mir Publishers, Moscou (1978)
21. Morris, E.R.; Cuttler, A.N.; Ross-Murphy, S.B.; Rees, D.A. & Price, J. - Carbohydr. Polym., 1, p.5 (1981)
22. Onogi, S.; Kato, H.; Ueki, S. & Ibaragi, T. - J. Polym. Sci. Part C, 15, p.481 (1966)
23. Cox, W.P. & Merz, E.H. - J. Polym. Sci., 28, p.619 (1958)

Recebido: 18/11/98
Aprovado: 08/04/99