



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA

FELIPE DOMINGOS DE SOUSA

PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE HEMICELULOSES VEGETAIS

FORTALEZA

2014

FELIPE DOMINGOS DE SOUSA

PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE HEMICELULOSES VEGETAIS

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Renato de Azevedo Moreira.

Coorientadora: Prof. Dr^a. Ana Cristina de Oliveira Monteiro Moreira

FORTALEZA

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

S696p Sousa, Felipe Domingos de.
 Propriedades físico-químicas de hemiceluloses vegetais. / Felipe Domingos de Sousa. – 2014.
 60 f. : il. color., enc. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Fortaleza, 2014.
Área de Concentração: Bioquímica e Biotecnologia Vegetal.
Orientação: Prof. Dr. Renato de Azevedo Moreira.
Coorientação: Profa. Dra. Ana Cristina de Oliveira Monteiro Moreira.

1. Galactomananas de sementes vegetais. 2. Reologia. 3. Viscosidade intrínseca. I. Título.

CDD 574.192

FELIPE DOMINGOS DE SOUSA

PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE HEMICELULOSES VEGETAIS

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Bioquímica.

Aprovada em 04 / 02 / 14

BANCA EXAMINADORA



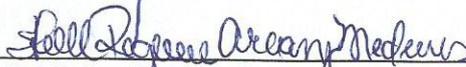
Prof. Dr. Renato de Azevedo Moreira (Orientador)
Universidade Federal do Ceará



Prof.ª Dr.ª Ana Cristina de Oliveira Monteiro Moreira (Co-orientadora)
Universidade de Fortaleza



Prof.ª Dr.ª Maria Izabel Gallão
Universidade Federal do Ceará



Prof.ª Dr.ª Stella Regina Arcanjo Medeiros
Universidade federal do Piauí

*Ao meu Deus, Pai e Criador.
À minha mãe.*

AGRADECIMENTOS

Universidade de Fortaleza-UNIFOR, por todo o suporte oferecido.

Às instituições de fomento à pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP pelo financiamento ao grupo de pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores Renato de Azevedo Moreira e Ana Cristina de Oliveira Monteiro Moreira pelo suporte, confiança e ombro amigo, que nos momentos obscuros foram luz dos meus conhecimentos, guiando-me até o fim dessa jornada.

Aos colaboradores Guillermo Cristian Guadalupe Martínez-Avilla e Cristóbal Noé Aguillar por fornecer a galactomanana de *Prosopis glandulosa* e parceria que permitiram a publicação de um dos trabalhos dessa dissertação.

Às professoras Izabel Gallão e Stella Arcanjo Medeiros por aceitarem o convite a participar da banca avaliadora.

Às professoras Marjory Lima Holanda e Nágila Maria Pontes Silva Ricardo pela orientação na análise dos dados reológicos.

Ao Rafael Miranda, José Roberto Souza e Rafael Almeida pelo suporte nas análises de CG-MS, reologia e GPC, respectivamente.

À Pedrinha Vasconcelos e Tais Luz, sem vocês eu não poderia ter feito todo esse trabalho. Agradeço todo suporte e compreensão aos meus momentos de estresse e mau humor. Tenho certeza que ainda farão parte de muitos outros projetos. Muito obrigado.

À minha amiga Patrícia Moura, por amizade e suporte em trabalhos paralelos a este.

Por último, mas não menos importantes, aos meus amigos Ayrles Silva, Camilo Torres Romero, Carol Viana, Daniele Aragão, Fernando Pimentel, Kelly França, Marcos França, Marina Lobo e Mayara Matos.

"Que tal encarar o mundo de peito aberto? Encarar o mundo como ele é, no seu ineditismo, na sua virgindade, na sua irrepetibilidade. E saber que sem fórmula nenhuma, estamos aí, diante de um mundo extraordinariamente competente para te entristecer. Mas, aqui e ali, também capaz de te proporcionar grandes alegrias, grandes surpresas, momentos que você nunca mais gostaria que acabassem. São esses momentos que a gente persegue e que farão da vida sempre alguma coisa digníssima de ser buscada e fantástica de ser vivida." (Prof. Dr. Clóvis de Barros Filho - Escola de Artes na USP)

RESUMO

As hemiceluloses são polissacarídeos presentes na parede celular de vegetais, onde funcionam como polissacarídeos de reserva e possuem uma cadeia principal composta por ligações $-(1 \rightarrow 4)$ em configuração equatorial. Neste trabalho, hemiceluloses de sementes foram avaliadas quanto as suas propriedades reológicas. Como resultado, galactomananas endospérmicas de *Adenantha pavonina*, *Caesalpinia pulcherrima*, *Delonix regia*, *Dimorpha mollis*, *Prosopis glandulosa* e *Schizolobium parahyba* e xiloglucanas cotiledonárias de *Hymenaea courbaril*, *Mucuna sloanei* e *Tamarindus indica* foram isoladas por extração aquosa, seguida por precipitação em etanol. O rendimento das extrações, razão monossacarídica, parâmetros macromoleculares, assim como distribuição de massa molar foram determinados e comparados às já comercializadas goma guar (*Cyamopsis tetragonoloba*), LBG (*Ceratonia siliqua*) e goma xantana (*Xanthomonas campestris*). O rendimento das extrações em relação à massa das sementes mostrou um intervalo de 7,0 a 40,63%, com os maiores valores para as xiloglucanas. Galactomananas de *Schizolobium parahyba* e *Caesalpinia pulcherrima* apresentaram os menores percentuais de proteínas, 0,05% e 0,08%, respectivamente. Valores de M_w variaram dentro de um intervalo entre $0,09 - 3,37 \times 10^7 \text{ g mol}^{-1}$. Curvas de fluxo das soluções de hemiceluloses a 1% (m:v) foram obtidas pela variação da taxa de cisalhamento entre $0,1$ a 100 s^{-1} . Os dados obtidos foram analisados pelos modelos de Lei das Potências e Hershel-Bulkley demonstrando caráter pseudoplástico para todas as hemiceluloses estudadas nessa concentração. Galactomananas e xiloglucanas com diferentes razões monossacarídicas apresentaram índice de consistência similar, provavelmente influenciado pelo padrão de distribuição de galactose nas cadeias e as interações entre as moléculas desses polissacarídeos. As propriedades reológicas foram comparadas e os resultados sugerem novas fontes de hemiceluloses que permitem mais aplicações em áreas como ciência dos materiais, medicina e biologia.

Palavras-chave: Galactomananas. Xiloglucanas. Viscosidade intrínseca. Reologia.

ABSTRACT

In this work six galactomannans (*Adenanthera pavonina*, *Caesalpinia pulcherrima*, *Delonix regia*, *Dimorpha mollis*, *Prosopis glandulosa*, *Schizolobium parahyba*) and three xyloglucans (*Hymenaea courbaril*, *Mucuna sloanei* e *Tamarindus indica*) were isolated from seed endosperm and cotyledon, respectively, by aqueous extraction followed by precipitation with ethanol. Yield of extraction, monosaccharide ratio, macromolecular parameters as well as molar mass distribution were determined and compared to guar gum (*Cyamopsis tetragonoloba*), LBG (*Ceratonia siliqua*) and xanthan (*Xanthomonas campestris*). Extraction yield in relation to seed mass ranged from 7.0 to 40.63%, with xyloglucan yields higher than the galactomannans ones. *Schizolobium parahyba* and *Caesalpinia pulcherrima* galactomannans presented the lowest protein content of 0.05% e 0.08%, respectively. The M_w values ranged from $0.09 - 3.37 \times 10^7 \text{ g mol}^{-1}$. Flow curves of hemicelluloses solutions at 1% (w:v) were measured by varying the shear rate from 0.1 to 100 s^{-1} . The resulting data were fit to the Power law e Herschel-Bulkley models. All the hemicelluloses presented shear-thinning behavior. Galactomannan and xyloglucans with different monosaccharide ratio showed similar consistency index; it may be influenced of the galactose distribution pattern on the chains and the interactions among the polysaccharides molecules. Rheological properties were compared and the results suggest new hemicelluloses sources which offer more profound applications in areas such as materials science, medicine e biology.

Key words: Galactomannans, xyloglucan, intrinsic viscosity, hemicelluloses

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Micrografia eletrônica de paredes celulares epidérmicas de ervilha	18
Figura 2 – Representação esquemática da estrutura das galactomananas	21
Figura 3 – Representação esquemática da estrutura das xiloglucanas	22
Figura 4 – Viscosidade aparente de fluidos independentes do tempo	26
Figura 5 – Semente de <i>Adenantha pavonina</i>	28
Figura 6 – Semente de <i>Caesalpinia pulcherrima</i>	29
Figura 7 – Semente de <i>Delonix regia</i> Inteira	29
Figura 8 – Semente de <i>Dimorphandra mollis</i>	30
Figura 9 – Semente de <i>Prosopis glandulosa</i>	31
Figura 10 – Semente de <i>Schizolobium parahyba</i>	31
Figura 11 – Semente de <i>Hymenaea courbaril</i>	32
Figura 12 – Semente de <i>Mucuna sloanei</i>	33
Figura 13 – Semente de <i>Tamarindus indica</i>	33
Figura 14 – Cromatograma dos monossacarídeos padrões utilizados.....	41
Figura 15 – Viscosidade aparente das hemiceluloses.....	45
Figura 16 – Capacidade de absorção de água das hemiceluloses	47
Figura 17 – Capacidade emulsificante das hemiceluloses	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos principais polissacarídeos de reserva	20
Tabela 2 - Algumas aplicações de xiloglucanas e galactomananas	24
Tabela 3 – Rendimento e caracterização físico-química das hemiceluloses	42
Tabela 4 – Distribuição de massa molar das hemiceluloses	43
Tabela 5 - Parâmetros macromoleculares das hemiceluloses	44
Tabela 6 – Parâmetros reológicos pela Lei da Potência	46

LISTA DE ABREVIATURAS

[]	Viscosidade intrínseca
CG-MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
EPM	Erro Padrão Médio
GPC	Cromatografia de Permeação em Gel
<i>k</i>	Índice de consistência
K_H	Constante de Huggins
K_K	Constante de Kramer
LBG	Goma locusta (<i>Locust Bean Gum</i>)
Man:Gal	Razão Manose : Galactose
Mn	Número médio de massa molar
Mw	Massa molar média
<i>n</i>	Índice de comportamento pseudoplástico
_{sp}	Viscosidade específica
TFA	Ácido Trifluoracético
WAC	Capacidade de absorção de água (<i>Water Absorption Capacity</i>)
_r	Viscosidade relativa

SUMÁRIO

1.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
1.1	Polissacarídeos de parede celular	17
1.2	Hemiceluloses	19
1.3	Galactomananas.....	19
1.4	Xiloglucanas	21
1.5	Potenciais usos de hemiceluloses vegetais.....	23
1.6	Propriedades das hemiceluloses	24
1.6.1	<i>Reológicas</i>	24
1.6.2	<i>Funcionais</i>	27
1.7	Fontes de hemiceluloses utilizadas neste trabalho.....	28
1.7.1	<i>Galactomananas</i>	28
1.7.1.1	<i>Adenantha pavonina</i>	28
1.7.1.2	<i>Caesalpinia pulcherrima</i>	28
1.7.1.3	<i>Delonix regia</i>	29
1.7.1.4	<i>Dimorphandra mollis</i>	30
1.7.1.5	<i>Prosopis glandulosa</i>	30
1.7.1.6	<i>Schizolobium parahyba</i>	31
1.7.2	<i>Xiloglucanas</i>	31
1.7.2.1	<i>Hymenaea courbaril</i>	31
1.7.2.2	<i>Mucuna sloanei</i>	32
1.7.2.3	<i>Tamarindus indica</i>	33
2.	OBJETIVO GERAL	34
2.1	Objetivos específicos	34
3.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
3.1	Material.....	35
3.2	Extração das galactomananas.....	35

3.3	Extração das xiloglucanas	36
3.4	Percentual de proteína.....	36
3.5	Determinação de monossacarídeos por Cromatografia Gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS)	36
3.6	Caracterização macromolecular	37
3.6.1	<i>Distribuição de massa molar</i>	38
3.7	Propriedades reológicas	38
3.8	Propriedades funcionais	39
3.8.1	<i>Capacidade de absorção de água</i>	39
3.8.2	<i>Capacidade emulsificante</i>	39
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1	Extração dos polissacarídeos	40
4.2	Distribuição de massa molar.....	42
4.3	Caracterização macromolecular	43
4.4	Comportamento reológico.....	45
4.5	Propriedades Funcionais	47
5.	CONCLUSÕES.....	50
	REFERÊNCIAS.....	51
	ANEXO A – Produção Científica	61

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A família das *Leguminosae* evoluiu cerca de 60 milhões de anos atrás e se diversificou em três subfamílias: *Caesalpinioideae*, *Mimosoideae* e *Papilionoideae*. Elas formam a terceira maior família de plantas com flores, compreendendo mais de 700 gêneros e 18.000 espécies, com uma gama excepcionalmente ampla de habitats, variando desde árvores gigantes de floresta a ervas aquáticas (HOFFER; ELLIS, 2014).

Dentre as plantas produtoras de sementes, destacam-se dois grandes grupos: as gimnospermas e as angiospermas. Estas últimas, diferentemente das primeiras, apresentam suas sementes dentro de estruturas chamadas de frutos. As sementes ocupam uma posição crítica na vida das plantas, uma vez que estas, formadas por reprodução sexuada, iniciam-se com um embrião dentro da semente. Quando madura, a semente é o meio de dispersão do novo indivíduo e o desenvolvimento deste é dependente de uma série de características fisiológicas e bioquímicas dela. De fato, a importância biológica e econômica das sementes reside nas respostas desencadeadas por elas ao meio ambiente, principalmente, por suas reservas energéticas, tais como proteínas, carboidratos e ácidos graxos. Essas substâncias são mobilizadas durante o desenvolvimento da planta e seus produtos são utilizados para uma série de propostas, desde a geração de energia até a produção de matérias primas, envolvidas na construção de células e tecidos (BEWLEY; BLACK, 1985; BUCKERIDGE, SANTOS; TINÉ, 2000).

As sementes podem ser classificadas como endospermicas ou não endospermicas, com relação à presença ou ausência na semente madura, de um endosperma formado. Dentre muitas sementes, o endosperma tem como função principal prover nutrientes necessários ao embrião durante o período de germinação. Apesar da presença de endosperma, algumas sementes são consideradas não endospermicas, considerando-se que este tecido é consumido, permanecendo apenas o remanescente do que foi formado durante o desenvolvimento. O endosperma apresenta outras funções que incluem a manutenção do alto potencial osmótico em volta do embrião, suporte mecânico durante a fase inicial do crescimento embrionário, além de isolamento do embrião contra a pressão mecânica

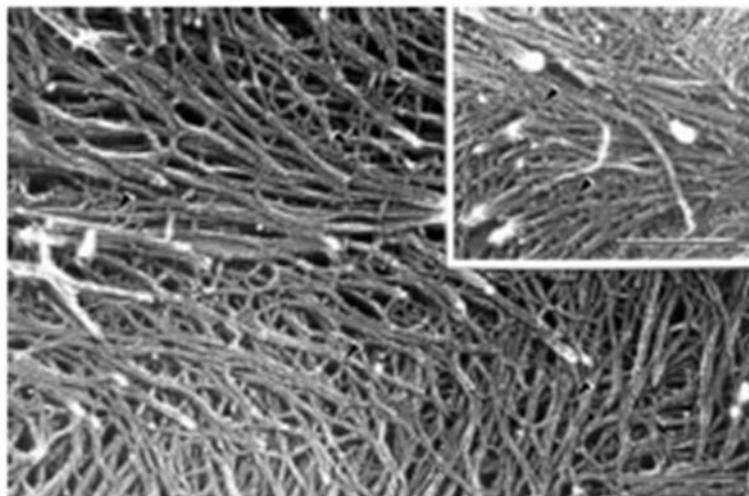
imposta pelo revestimento da semente. Para o caso de outras plantas, o cotilédone da semente oferece função de reserva comparável a estas representadas pelo endosperma (LINKIES *et al.*, 2010; MWANGI *et al.*, 2013).

Os polímeros de carboidratos foram selecionados durante a evolução das plantas como uma das principais substâncias para armazenamento de energia. O amido é o mais disseminado, seguido pelas frutanas e os polissacarídeos de reserva de parede celular. Esses carboidratos são prontamente mobilizados para o metabolismo envolvido na geração de energia, culminando não só na rápida produção de ATP, mas também como fonte de carbono durante a biossíntese das biomoléculas nas células vegetais. Cada um desses compostos apresentam características que os tornam mais convenientes para as células em determinadas situações (BUCKERIDGE, SANTOS; TINÉ, 2000).

1.1 Polissacarídeos de parede celular

As células vegetais são delimitadas por uma resistente parede compreendida por complexos de carboidratos e glicoproteínas. Isso confere às células resistência mecânica, desenvolvimento e adaptações às mudanças ambientais (OIKAWA *et al.*, 2013). Quando visualizadas por microscopia eletrônica, as paredes celulares se apresentam como uma rede de microfibrilas de celulose, polissacarídeos com altas massas moleculares, com diâmetro de aproximadamente 3 nm, permeada por outros polissacarídeos (pectinas, mananas, glucomananas, galactomananas, xiloglucanas, entre outros), como mostrado na figura 1. Paredes celulares de espécie de dicotiledôneas, tais como *Arabidopsis*, contém três classes de polissacarídeos: celulose, hemiceluloses e pectina. A celulose, polímero de glucoses unidas por ligações $-(1 \rightarrow 4)$, apresenta-se como longas fibrilas não ramificadas compostas por, aproximadamente, 30 a 36 cadeias ligadas por pontes de hidrogênio. O tamanho das fibrilas é desconhecido, mas cadeias simples de glucanas chegam a conter mais de 14 000 unidades de glucose, perfazendo um comprimento de 7 μm . (SOMERVILLE *et al.*, 2004)

Figura 1 – Micrografia eletrônica de paredes celulares epidérmicas de ervilha (*Pisum sativum*)



Fonte: Somerville *et al.*, 2004

Os polissacarídeos de parede celular podem ser divididos em estruturais e de reserva. No que concerne aos estruturais é sabido que as paredes primárias e secundárias contêm celulose e hemiceluloses. As primárias contêm pectina, bem como enzimas e proteínas estruturais, enquanto as secundárias contêm pouca proteína ou pectina, mas normalmente contêm lignina. Paredes celulares secundárias aparecem quando a célula interrompe seu crescimento. Frequentemente, estas exibem especializações elaboradas para as quais a incorporação de lignina é, geralmente, a característica mais distinta. Contudo, as paredes secundárias de células cotiledonares e endospermicas nas sementes de muitas espécies não apresentam lignina e contêm muito pouca celulose (BENTO *et al.*, 2013).

Os polissacarídeos de reserva de parede celular são encontrados como os principais compostos de reserva em sementes de muitos grupos de plantas. Estes grupos desenvolveram mecanismos bioquímicos extremamente eficientes para degradar a parede celular e usar os produtos de hidrólise para o crescimento. Muitas espécies de várias famílias são conhecidas por apresentarem sementes que estocam mananas, glucomananas ou galactomananas em suas paredes celulares endospermicas. Em contraste, arabinoglucanas e xiloglucanas são usadas por outras como reserva, porém, em paredes celulares cotiledonares (LEXOUREL *et al.*, 2006; BUCKERIDGE, 2010).

1.2 Hemiceluloses

As hemiceluloses são polissacarídeos presentes na parede celular de vegetais onde funcionam como polissacarídeos de reserva, e possuem uma cadeia principal composta por ligações $-(1 \rightarrow 4)$ em configuração equatorial. Nesta classificação estão presentes as xiloglucanas, xilanas, mananas e glucomananas, além de glucanas ligadas por $-(1 \rightarrow 3,1 \rightarrow 4)$. Estes últimos são passíveis de serem encontradas na parede celular de todos os tipos de vegetais. A estrutura detalhada das hemiceluloses e sua abundância variam consideravelmente entre os diferentes tipos de espécies e tecido das plantas. Esses polissacarídeos são chamados assim por apresentarem comportamento semelhante à celulose e se encontrarem entre as microfibrilas, conferindo, desta maneira, elasticidade ao tecido formado (SPIRIDON e POPA, 2008; SCHELLER e ULVSKOV, 2010; SOUSA *et al.*, 2011).

Dentre as hemiceluloses estruturais, podemos destacar as xilanas e glucomananas, sendo que as xilanas são as mais abundantes. Estas últimas são o principal componente das paredes secundárias de células, constituindo cerca de 20-30% da biomassa de madeiras de lei e plantas herbáceas. Em alguns tecidos de gramíneas e cereais, xilanas podem alcançar até 50% (GÍRIO *et al.*, 2010).

Os polissacarídeos de reserva de parede celular têm sido usualmente classificados em: mananas, xiloglucanas e galactanas. Essa classificação é baseada essencialmente na composição monossacarídica. As mananas, por sua vez, são divididas em mananas puras, glucomananas e galactomananas. A Tabela 1 resume as principais características desses grupos de polissacarídeos de reserva em plantas (BUCKERIDGE; SANTOS; TINÉ, 2010).

1.3 Galactomananas

Já se demonstrou que o endosperma de muitas espécies de leguminosas contém galactomanana como polissacarídeos de reserva de parede celular. A quantidade e a composição destas podem variar de espécie para espécie (AQUILA *et al.*, 2012).

Tabela 1 - Características dos principais polissacarídeos de reserva de parede celular e sua ocorrência.

Polissacarídeo	Monômeros na cadeia principal	Ramificações	Localização na planta
Mananas	Manose	Escassamente galactose	Sementes (Palmae, café e gergelim)
Glucomananas	Manose e glucose	Galactose	Sementes (alface, tomate)
Galactomananas	Manose	Galactose	Sementes (Leguminosae, Convolvulaceae, Annonaceae)
Xiloglucanas	Glucose	Xilose, galactose, arabinose	Sementes (Leguminosae, Tropaeolaceae, Myrcinaceae)
Galactanas	Galactose	Arabinose	Sementes (legumes), café

Fonte: BUCKERIDGE; SANTOS; TINÉ, 2000

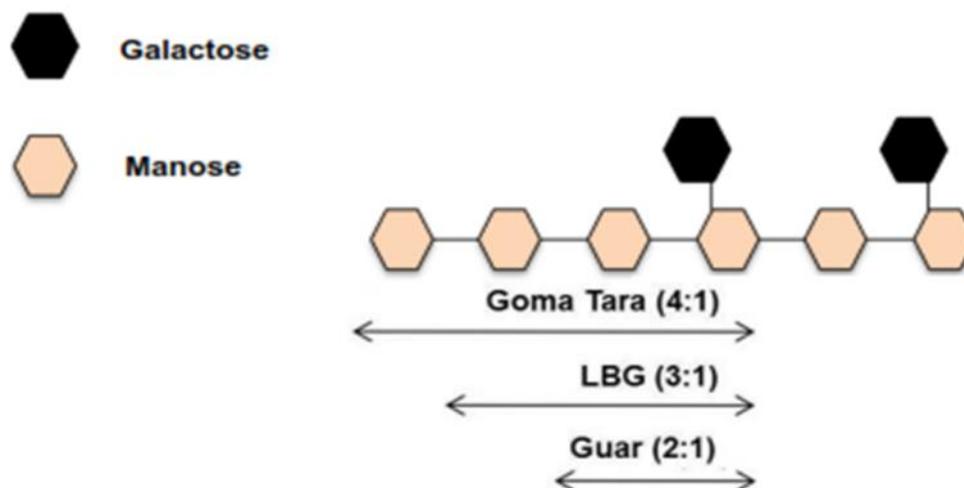
As galactomananas são polissacarídeos compostos por uma cadeia principal de manose unidas por ligações $-(1 \rightarrow 4)$ com ramificações de galactose ligadas por $-(1 \rightarrow 6)$ (FIGURA 2) (CERQUEIRA *et al.*, 2011). Nas leguminosas, a principal função das células endospermicas está associada à reserva energética da semente, com rendimentos alcançando mais de 30% da massa seca de sementes em muitas espécies. Essas células são altamente espessas, pela presença de galactomanana e alguns casos, *Schyzolobium parahyba*, por exemplo, o citoplasma desaparece quase por completo (BUCKERIDGE, 2010).

Além de desempenhar os dois maiores papéis biológicos como polissacarídeo de reserva para o crescimento da semente e componente estrutural na rede formada com hemiceluloses-celulose, as galactomananas protegem o eixo de desenvolvimento de oscilações no balanço de água devido a sua natureza hidrofílica (AQUILA *et al.*, 2012).

As galactomananas diferem entre si pela sua razão monossacarídica de manose e galactose, distribuição padrão destas galactoses ao longo da cadeia principal, tamanho das cadeias e massa molecular. O grau de substituição de galactose nesses polissacarídeos determina suas propriedades físico-químicas. Dessa forma, quanto menor a razão Manose:Galactose mais solúvel se torna esse tipo de polissacarídeo, devido aos grupos laterais de galactose impedirem associações intercadeias e cristalização. *Ceratonia siliqua* (LBG) e *Cyamopsis tetragonoloba* (goma guar) são as duas principais fontes de considerável importância

industrial. Estas apresentam relação Man:Gal de aproximadamente 3,5:1 e 1,5:1, respectivamente, e as cadeias laterais de galactose são distribuídas de forma randômica. Também são utilizadas comercialmente outras fontes de galactomanana, o fenogrego (*Trigonella foenum-graecum*) e tara (*Caesalpinia spinosa*) (MIKKONEN *et al.*, 2007; PRAJAPATI *et al.*, 2013a).

Figura 2 – Representação esquemática da estrutura das galactomananas comerciais e suas razões manose: galactose



Fonte: Sousa *et al.*, 2011

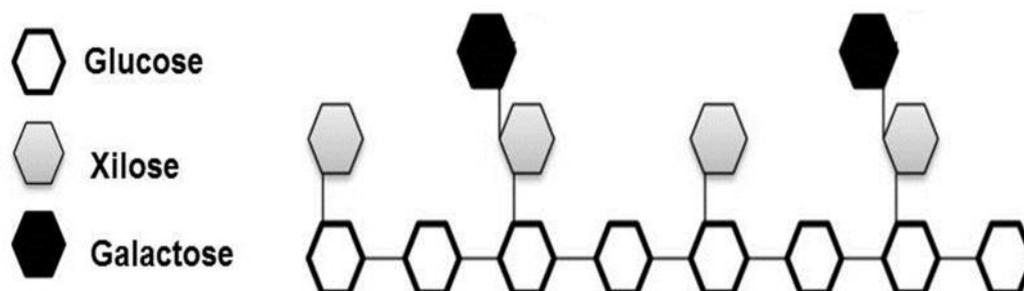
Os parâmetros mais importantes que definem a natureza da galactomanana são a razão Manose:Galactose, massa molar média e a viscosidade intrínseca. A primeira varia consideravelmente dependendo da fonte de galactomanana e tipicamente se encontra em uma faixa entre 1,1 e 5,0 e envolve técnicas como cromatografia gasosa ou troca iônica sob alta pressão. A distribuição de massa molar pode ser determinada por cromatografia de exclusão molecular e a viscosidade intrínseca com uso de viscosímetro capilar por utilização de equações de Huggins e Kramer. Vale ressaltar que a avaliação de comportamento reológico desempenha um importante papel na caracterização das soluções com galactomananas. (SRIVASTAVA; KAPOOR, 2005; PRAJAPATI *et al.*, 2013a).

1.4 Xiloglucanas

Entre as hemiceluloses, as xiloglucanas são polissacarídeos com potenciais aplicações industriais. Essas são encontradas na parede primária de células cotiledonares de algumas plantas, onde funcionam como polissacarídeos estruturais

e de reserva da semente (REID, 1985; FREITAS *et al.*, 2005). Sua cadeia principal é composta por monômeros de glucose ligadas por α -(1 4) e xiloses ligadas por α -(1 6), estas últimas, por sua vez, podem apresentar galactoses ligadas por β -(1 2). Em alguns casos, monômeros de fucose são encontrados ligados às tais xiloses, mas não em xiloglucanas de reserva (BUCHERIDGE, 2010).

Figura 3 – Representação esquemática da estrutura das xiloglucanas



Fonte: Sousa *et al.*, 2011

Esse tipo de polissacarídeo desempenha papel importantíssimo no controle da expansão celular. Trabalhos com microscopia mostram xiloglucanas associadas às microfibrilas e sugerem que, como outras hemiceluloses de parede, sejam capazes de proporcionar resistência mecânica e integridade física a esses arranjos, revestindo-os de forma a manter grandes associações formando feixes maiores de microfibrilas (COSGROVE, 2000). As xiloglucanas se ligam via pontes de hidrogênio à celulose e devido as suas longas cadeias polissacarídicas, elas garantem a manutenção da rede de microfibrilas durante a expansão da parede celular (AQUILA *et al.*, 2012).

Uma das fontes de xiloglucanas mais exploradas pela indústria são as sementes de *Tamarindus indica*, utilizadas como estabilizantes e espessantes em alimentos (NISHINARI *et al.*, 2007). Para algumas aplicações seu comportamento como fluido Newtoniano é explorado e em outras sua ação gelificante só é possível na presença de outros aditivos. Uma vez que as xiloglucanas nativas são incapazes de formar géis, elas são parcialmente degradadas por uma β -galactosidase a fim de eliminar os monômeros de galactose das cadeias, passando, dessa forma, a uma transição sol-gel por aquecimento. A temperatura de transição é dependente da concentração do polímero e está associada ao percentual de redução de galactose nas cadeias (COVIELLO *et al.*, 2007).

1.5 Potenciais usos de hemiceluloses vegetais

Muita atenção tem sido destinada aos polissacarídeos nos últimos anos, levando a aplicações úteis e interessantes na biomedicina, e especificamente, no campo farmacêutico. Prajapati *et al.*, 2013b enumera uma vasta lista com hemiceluloses naturais ou modificadas com aplicações farmacêuticas, com ênfase em sua importância por serem biocompatíveis, de baixo custo e largamente disponíveis. A maior vantagem desses polímeros em relação aos sintéticos reside no fato de serem quimicamente inertes, atóxicos e biodegradáveis.

-glucanas exercem importantes benefícios para a saúde, especialmente em doenças coronárias, redução de colesterol e resposta glicêmica. Alguns efeitos positivos estão associados a sua alta viscosidade, embora alguns deles estejam associados à supressão do apetite (SPIRIDON; POLPA, 2008). Aplicações variam desde engenharia de tecidos à preparação como veículo para liberação controlada de fármacos. Em geral, tais moléculas desempenham papéis como espessantes, gelificantes, emulsificantes, agentes umectantes, entre outros. (RINAUDO 2008; PRAJAPATI *et al.*, 2013c)

Atualmente, muito se trabalha com xiloglucanas e galactomananas em linhas de pesquisa com fins biotecnológicos. Os carboidratos de plantas nativas ou cultivadas no nordeste brasileiro vêm sendo amplamente investigados, por meio de estudos de extração e caracterização de fontes alternativas, como por exemplo, *Hymenaea courbaril* (xiloglucanas) e *Caesalpinia pulcherrima* (galactomananas) (SILVA, 2005).

Vale ressaltar ainda a anomericidade das galactoses presentes tanto nas galactomananas (ligações β) como nas xiloglucanas (ligações α) no estudo de ligantes à galactose tais como lectinas, proteínas capazes de se ligarem reversivelmente a carboidratos. Galactomananas podem constituir, assim, uma ferramenta sensível no estudo da especificidade de ligação de lectinas a carboidratos. Géis de galactomanana de *Schizolobium parahyba*, *Delonix regia*, *Parkinsonia aculeata*, *Caesalpinia pulcherrima*, reticuladas por tratamento com epícloridrina foram capazes de interagir seletivamente com lectinas β -D-galactose-

ligantes, o que não acontece com as lectinas ligantes (MATOS, 2000; GARROS-ROSA *et al.*, 2006; BRAGA *et al.*, 2011).

A Tabela 2 mostra algumas das aplicações biotecnológicas já destinadas às hemiceluloses.

Tabela 2 - Algumas aplicações de xiloglucanas e galactomananas

	Origem	Aplicação	Referência
Xiloglucana	<i>Hymenaea courbaril</i>	Meio de cultura para micropropagação	WHITNEY <i>et al.</i> , 1999
	<i>Tamarindus indica</i>	Elaboração de biscoitos ricos em fibra	SILVA <i>et al.</i> , 2001
		Liberação controlada de fármacos; Microencapsulação de fármacos.	NAYAK <i>et al.</i> , 2014; JANA <i>et al.</i> , 2013; MAHAJAN; GUNDARE, 2014
<i>Mucuna sloanei</i>	Matriz para isolamento de lectinas	TEIXEIRA-SÁ <i>et al.</i> , 2009	
Galactomanana	<i>Prosopis glandulosa</i>	Agente emulsificante	MARTINEZ-AVILA <i>et al.</i> , 2013
	<i>Caesalpinia pulcherrima</i>	Excipiente em comprimidos	SELVI <i>et al.</i> , 2010
	<i>Leucaena leucocephala</i>	Filme como suporte para imobilização de moléculas	VALENGA <i>et al.</i> , 2012
	<i>Delonix regia</i>	Excipiente em comprimidos	KALE <i>et al.</i> , 2009
	<i>Adenantha pavonina</i>	Recobrimentos comestíveis para frutos; Matriz para isolamento de lectinas.	LIMA <i>et al.</i> , 2008; MOREIRA <i>et al.</i> , 1998
	<i>Mimosa scabrella</i>	Matriz para liberação controlada de fármacos	VENDRUSCOLO <i>et al.</i> , 2005

Fonte: elaborada pelo autor

1.6 Propriedades das hemiceluloses

1.6.1 Reológicas

A reologia concerne no estudo das relações entre forças exercidas (tensões τ ; N.m⁻²) em um material e sua subsequente deformação (γ ; adimensional) como função do tempo. Dependendo de como o material se deforma ou flui sob tensões aplicadas ou mostra a combinação de ambos, eles são classificados em duas principais categorias reológicas: fluido ideal (comportamento viscoso) ou sólido ideal (comportamento elástico). Em ambos os casos, ao ser retirada a força aplicada,

retornam ao seu tamanho e forma originais. Para muitos materiais, a reação da tensão ou deformação é parcialmente viscosa e parcialmente elástica, sendo considerados viscoelásticos (VLIET e LYKLEMA, 2005).

Frequentemente, a relação entre τ e γ pode ser modelada por uma relação empírica:

$$\tau = k \cdot \gamma^n \quad \text{Lei das Potências (1)}$$

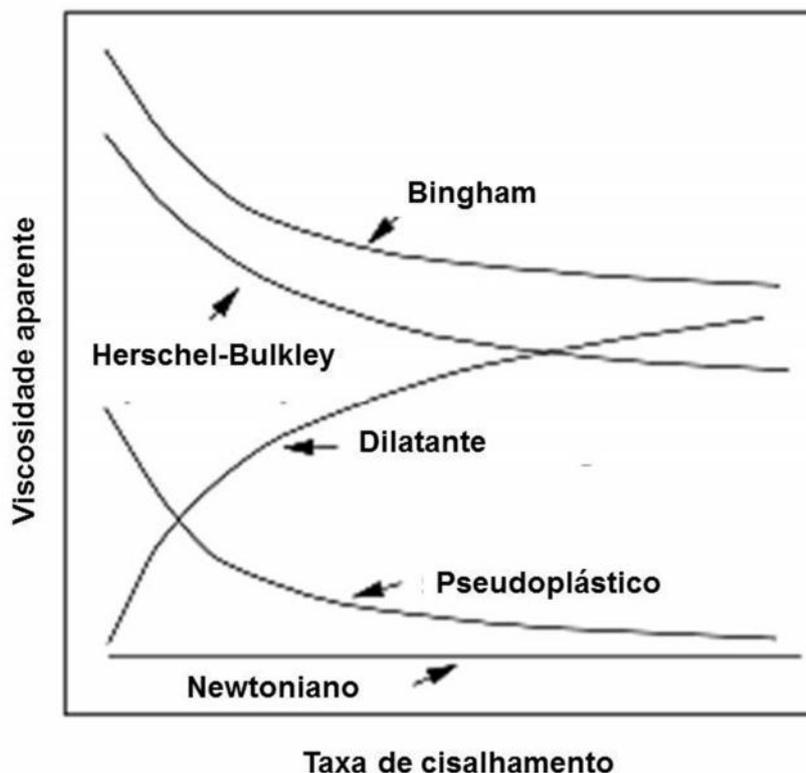
Onde k é chamado de índice de consistência ($\text{Nm}^{-2} \cdot \text{s}^n$) e n de índice de comportamento de fluxo.

Fluidos que obedecem a uma relação linear entre tensão e deformação (Figura 4) são chamados fluidos Newtonianos. Somente um parâmetro, a viscosidade (η), nesse caso, é suficiente para definir o comportamento reológico sob determinada taxa de cisalhamento. Para os fluidos não-Newtonianos, a relação entre τ e γ é não linear. Neste caso, é obtida uma viscosidade dependente da taxa de cisalhamento (deformação) é obtida, chamada de viscosidade aparente (η_{ap}). Quando essa viscosidade diminui com o aumento de γ , o fluido é classificado pseudoplástico (Figura 4). Já em materiais dilatantes, nos quais o comportamento contrário é observado, a viscosidade aumenta (Figura 4) (VLIET; LYKLEMA, 2005; STEFFE, 1996).

Materiais comuns como margarina, catchup, manteigas e muitas tintas comportam-se como sólidos sob pequenas tensões e como líquidos quando são submetidos a maiores tensões. Alguns deles só fluem após um limiar de tensão chamada de tensão de escoamento (τ_y). A estes últimos é atribuído comportamento plástico e frequentemente o fluxo desses materiais é modelado como a equação 2:

$$\tau = \tau_y + \eta_B \dot{\gamma} \quad \text{Equação de Bingham (2)}$$

Figura 4 – Viscosidade aparente de fluidos independentes do tempo



Fonte: STEFFE, 1996.

Onde η_B é uma constante chamada de viscosidade de Bingham. Fluidos de Bingham quase nunca são observados e o modelo Herschel-Bulkley é usado como alternativo para tais fluidos com comportamento plástico (Equação 3) (STEFFE, 1996, BAGLEY; DINTZIS, 1999)

$$\tau = \tau_y + k \cdot \gamma^n \quad \text{Equação de Hershel Bulkley (3)}$$

Propriedades reológicas são relacionadas aos atributos texturais de um produto e suas alterações determinam suas características sensoriais e aceitação pelos consumidores. O comportamento de fluxo é um dos mais importantes dentro dessas características reológicas. Tais dados são usados como indicadores de qualidade, para cálculo de vários processos envolvendo fluxo de fluidos, tais como extração, filtração, extrusão, purificação, além de serem também usados em análises das condições de fluxo no processamento de produtos (pasteurização, evaporação e processos de assepsia). Muitas vezes indústrias, usando ou produzindo hidrocolóides, por exemplo, precisam estimar a viscosidade aparente de

um produto em concentrações e taxas de cisalhamento específicas (CEVOLI *et al.*, 2013; MA *et al.*, 2014).

1.6.2 Funcionais

As hemiceluloses podem ser classificadas como hidrocolóides. Hidrocolóides se caracterizam como um grupo heterogêneo de longas cadeias de polímeros (polissacarídeos e proteínas) que apresentam a propriedade de formar dispersões viscosas e/ou géis quando dispersos em água. Eles apresentam ainda uma vasta gama de propriedades funcionais em alimentos, o que inclui características, espessantes, emulsificantes, estabilizantes e controladoras de cristalização. São comumente usados o amido, a goma xantana, goma guar, LBG, karaya, arábica e derivados de celulose (CEVOLI *et al.* 2013).

Um dos papéis funcionais chave de hidrocolóides envolve a preparação e controle da estabilidade de emulsões. Os polissacarídeos mais utilizados com propriedade emulsificante são a goma arábica, amidos modificados, celulosas modificadas, alguns tipos de pectina e galactomananas (DICKINSON, 2009).

A estabilidade é um dos mais importantes fatores que devem ser considerados na produção de emulsões. Os emulsificantes são, principalmente, ingredientes ativos de superfície e moléculas anfifílicas, as quais adsorvem rapidamente à interface óleo-água durante o processo de formação da emulsão. Além disso, eles podem facilitar a formação de pequenas partículas e promover a estabilidade pela redução da tensão superficial. Polissacarídeos, geralmente, não são considerados como agentes tensoativos, devido ao seu alto caráter hidrofílico (KARIMI, MOHAMMADIFAR,2014; OSANO *et al.*, 2014). Porém, trabalhos recentes mostram galactomananas como exemplos de bons agentes emulsificantes e tensoativos (DICKINSON, 2009; KARIMI; MOHAMMADIFAR,2014; OSANO *et al.*, 2014)

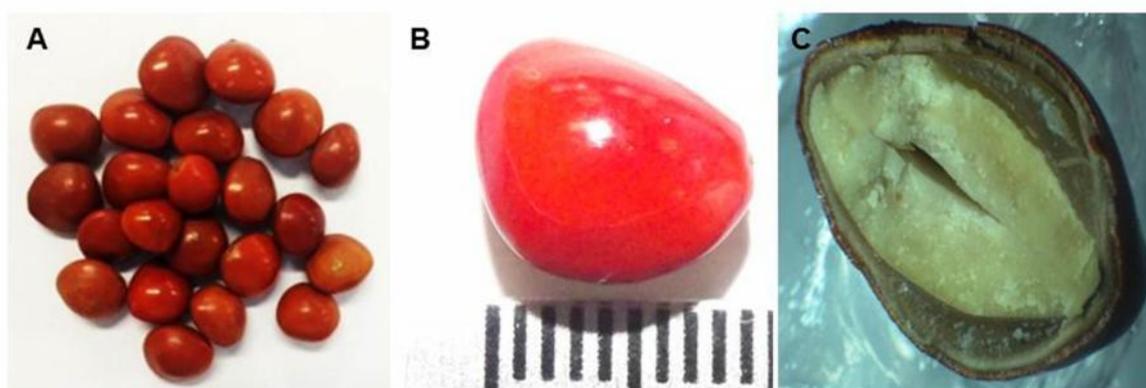
1.7 Fontes de hemiceluloses utilizadas neste trabalho

1.7.1 Galactomananas

1.7.1.1 *Adenantha pavonina*

Pertencente à subfamília *Mimosoideae* das leguminosas, *Adenantha pavonina* Linn, comumente, conhecida como carolina ou olho de pombo, é uma árvore com 18 a 24 m de altura, ereta e com 60 cm de diâmetro. Muitas espécies do gênero *Adenantha*, incluindo *A. pavonina*, têm sido usada na medicina popular contra uma série de doenças que incluem o diabetes, desordens lipídicas, diarreia, hemorragias estomacais, além de ser usada como anti-inflamatório. Tradicionalmente, suas sementes são utilizadas no tratamento de várias doenças, como furúnculos, inflamações, desordens sanguíneas, artrite, reumatismo, cólera, paralisia, epilepsia, convulsões, espasmos e indigestões. As sementes desta planta contêm o O-acetiletanolamina como princípio ativo anti-inflamatório, assim como vários outros compostos que já foram isolados de suas folhas. O extrato cru de *A. pavonina* se mostrou como hipotensor, antifúngico, antioxidante, e citotóxico em alguns casos (MUJAHID *et al.*, 2013).

Figura 5 – Semente de *Adenantha pavonina* Inteira (A e B) e seção transversal(C)
Fonte: elaborada pelo autor

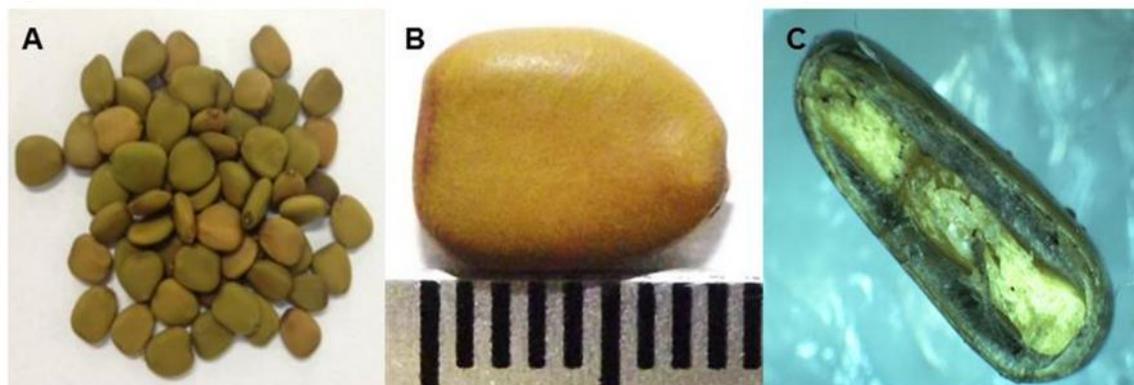


1.7.1.2 *Caesalpinia pulcherrima*

Caesalpinia pulcherrima é uma planta ornamental encontrada por toda a Índia, sendo um arbusto originário das Antilhas, mas pode ser encontrada em outros países, especialmente no Brasil, onde é vastamente difundida pela região nordeste. Pertencente à subfamília *Caesalpineaceae* das leguminosas, esta espécie

apresenta-se como lenhosa, ereta, provida de espinhos, tronco fino, que mede de 3 a 4 metros de altura. Suas sementes acumulam consideráveis quantidades de galactomanana com potenciais aplicações na indústria de alimento, como hidrocolóide, modificador de textura e fonte de fibra (LIMA *et al.*, 2008; BURITI *et al.*, 2014).

Figura 6 – Semente de *Caesalpinia pulcherrima* Inteira (A e B) e seção transversal(C)

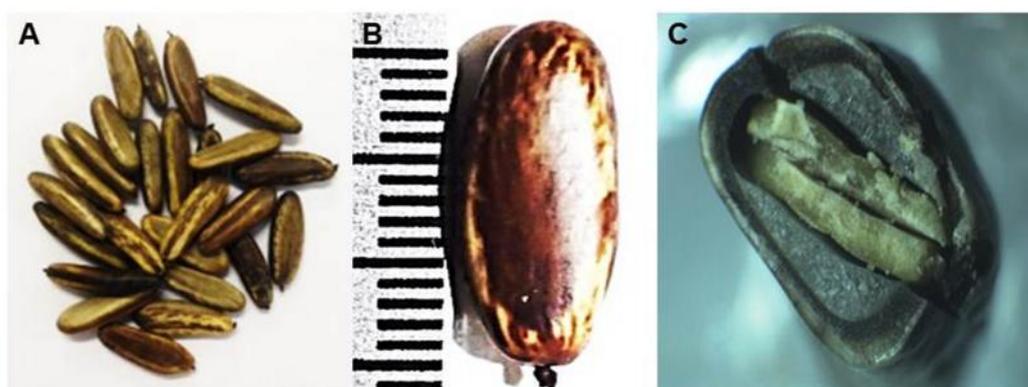


Fonte: elaborada pelo autor

1.7.1.3 *Delonix regia*

Delonix regia, usualmente, chamada de “árvore em chamas”, também conhecida como Poinciana regia ou “flaboyant”, pertence à subfamília Caesalpiniaecae das leguminosas. Nativa da ilha de Madagascar e da África tropical, essa espécie produz durante a primavera flores amarelas seguidas pela mudança de cor para vermelho-escarlate. Em áreas rurais, estas flores são frequentemente utilizadas na preparação de extratos aquosos, tradicionalmente, conhecidos pelas suas propriedades antimicrobianas e antifúngicas ou usados como antibióticos (ADJÉ *et al.*, 2012).

Figura 7 – Semente de *Delonix regia* Inteira (A e B) e seção transversal(C)

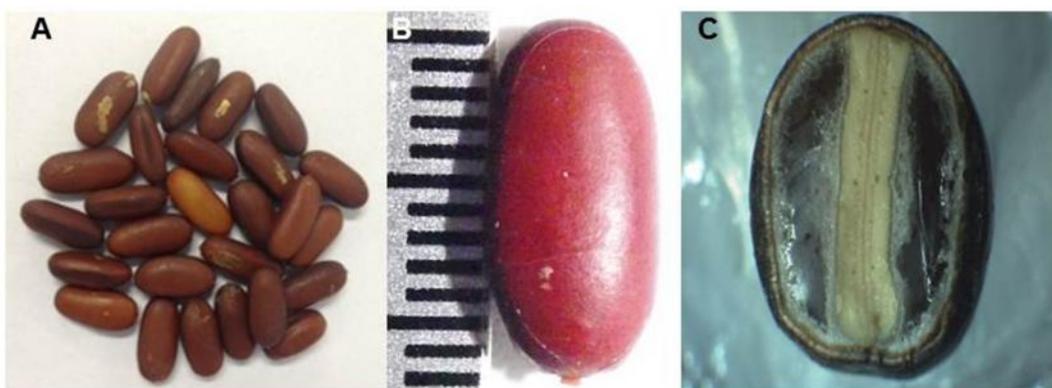


Fonte: elaborada pelo autor

1.7.1.4 *Dimorphandra mollis*

Dimorphandra mollis Benth é uma planta pertencente à subfamília Caesalpinaceae das leguminosas, bastante difundida na região central do cerrado brasileiro. Sua árvore chega a alcançar 14 metros de altura e é conhecida como faveira ou fava d'anta, sendo usada na medicina popular no tratamento de várias doenças. A composição química da espécie ainda vem sendo investigada e a sua atividade farmacológica é devida principalmente aos flavonoides totais presentes nos frutos. Rutina, o principal componente ativo no extrato seco obtido dos frutos, apresenta atividade antioxidante, antivirais, antitumorais, anti-inflamatórias, dentre outras (FÉRES *et al.*, 2006).

Figura 8 – Semente de *Dimorphandra mollis* Inteira (A e B) e seção transversal (C)



Fonte: elaborada pelo autor

1.7.1.5 *Prosopis glandulosa*

Prosopis glandulosa é uma variedade de mesquite que cresce naturalmente no noroeste do México, muito resistente à seca e boa fixadora de nitrogênio. As vagens de mesquite são utilizadas como um complemento nutricional e para a elaboração de bebidas alcólicas e não-alcólicas devido ao seu alto conteúdo de açúcares. Muitas pesquisas focaram-se nas espécies *P. juliflora*, *P. chilensis*, *P. pallida* e *P. flexuosa*, por serem fontes de galactomananas. A espécie pertence à subfamília Mimosoideae, apresentando ainda propriedades hipotensoras e reguladoras de glucose sanguínea (CHAIRES-MARTINEZ *et al.*, 2008; GEORGE *et al.*, 2011).

Figura 9 – Semente de *Prosopis glandulosa*



Fonte: Martinez-Avila *et al.*, 2013

1.7.1.6 *Schizolobium parahyba*

Schizolobium parahyba é uma espécie generalizada em quatro dos cinco tipos de florestas neotropicais (Mata atlântica, Amazônia, Andes e América Central). *Schizolobium parahyba* possui duas variedades como *parahyba* e *amazonicum*, sendo distintamente distribuídas. A primeira prospera na Mata Atlântica brasileira, Paraguai e Argentina, enquanto a segunda, é distribuída na bacia do rio Amazonas, no Brasil, Bolívia e sudeste do México. A espécie é reconhecida como árvore da floresta com importância ecológica e econômica. Por ser uma das espécies de árvores de crescimento mais rápido, é amplamente utilizada em projetos de reflorestamentos e tem sido introduzida em regiões tropicais como uma árvore ornamental e de sombra (TURCHETTO-ZOLET *et al.*, 2012).

Figura 10 – Semente de *Schizolobium parahyba* inteira (A e B) e seção transversal (C)



Fonte: elaborada pelo autor

1.7.2 Xiloglucanas

1.7.2.1 *Hymenaea courbaril*

O gênero *Hymenaea* inclui quarenta espécies. Nove delas são encontradas em algumas regiões no Brasil, incluindo os ecossistemas subtropicais, que se

seguem distribuição uniforme na floresta amazônica. Muitas espécies do gênero tem importância econômica por prover madeira de boa qualidade, resinas, frutos e raízes comestíveis ricas em taninos, fato último que justifica seus usos na medicina popular. *Hymenaea courbaril*, popularmente conhecido como jatobá, é uma árvore cujas folhas, raízes, frutos, e especialmente, a casca do caule é tradicionalmente empregada na medicina popular como meio para infusões e decocções no tratamento de anemias, problemas nos rins, inflamações na garganta e outras doenças das vias aéreas, tais como bronquite e asma (BEZERRA *et al.*, 2013).

Figura 11 – Semente de *Hymenaea courbaril* Inteira (A e B) e seção transversal (C)

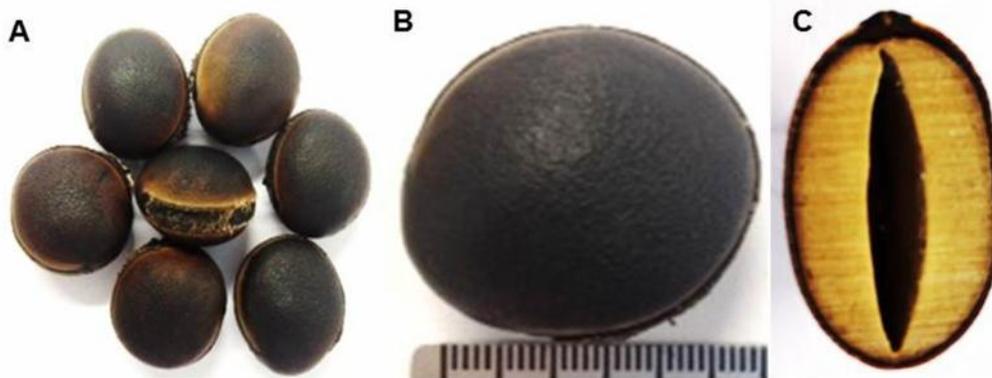


Fonte: elaborada pelo autor

1.7.2.2 *Mucuna sloanei*

Mucuna é um gênero com cerca de 100 espécies generalizadas em florestas e áreas tropicais. *Mucuna sloanei* é uma espécie com sementes, popularmente conhecidas na América Latina como “olho de boi”, pertencente à família das leguminosas, e frutos com rendimentos de até 8 sementes. É utilizada na agricultura como suplemento alimentar para porcos. Antigamente, era utilizada na medicina popular em mulheres grávidas para evitar abortos. A semente ainda é usada como espessante em alimentos nos estados de Abia e Imo, Nigéria. Também é encontrada em lugares como Gana, Camarões, Senegal, Togo e Costa do Marfim (AJIWE *et al.*, 1997).

Figura 12 – Semente de *Mucuna sloanei* Inteira (A e B) e seção transversal (C)



Fonte: elaborada pelo autor

1.7.2.3 *Tamarindus indica*

Tamarindus indica é uma árvore grande e larga, pertencente à subfamília *Caesalpiniaceae* das Leguminosas, e encontrada por toda Índia e regiões tropicais. Seus frutos são encontrados principalmente no verão, o tegumento das sementes é preto com cor castanha com seu cerne branco. Estudos farmacológicos desta planta revelam esta espécie com propriedades antibacterianas, antifúngicas, anti-inflamatórias, antioxidantes. O extrato aquoso das folhas apresentou atividade antidiabetes, sendo comparada inclusive à glibenclamida. Xiloglucanas das sementes são largamente utilizadas na indústria alimentícia como espessante e estabilizante (DE *et al.*, 2013).

Figura 13 – Semente de *Tamarindus indica* Inteira (A e B) e seção transversal (C)



Fonte: elaborada pelo autor

2. OBJETIVO GERAL

Caracterizar quanto aos parâmetros físico-químicos, hemiceluloses endospermicas e cotiledonares extraídas de sementes de leguminosas.

2.1 Objetivos específicos

- Extrair galactomananas das sementes de *Adenantha pavonina*, *Caesalpinia pulcherrima*, *Delonix regia*, *Dimorphandra mollis*, *Prosopis Glandulosa*, *Schizolobium parahyba*;
- Extrair xiloglucanas das sementes de *Hymenaea courbaril*, *Mucuna sloanei* e *Tamarindus indica*;
- Caracterizar a pureza das hemiceluloses isoladas por meio da determinação de teor de nitrogênio total;
- Determinar parâmetros macromoleculares tais como viscosidade intrínseca, massa molar e distribuição de massa molar;
- Determinar as propriedades reológicas das hemiceluloses extraídas por reologia de fluxo;
- Determinar a capacidade de absorção de água e capacidade emulsificante com as hemiceluloses;
- Comparar as propriedades reológicas e funcionais das hemiceluloses obtidas com as comerciais (goma guar, LBG e goma xantana).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material

Sementes de *Adenantha pavonina*, *Caesalpinia pulcherrima*, *Dimorphandra mollis*, *Delonix regia*, *Schizolobium parahyba*, *Hymenaea courbaril*, *Mucuna sloanei* e *Tamarindus indica* foram coletadas na região metropolitana de Fortaleza-Ceará. As sementes foram retiradas das vagens, limpas e estocadas sob temperatura ambiente até posterior utilização. As de *Prosopis glandulosa* foram obtidas do Germoplasm Center em Saltillo, Coahuila, Mexico.

As gomas comerciais guar, LBG e xantana foram adquiridas da marca Sigma Aldrich.

3.2 Extração das galactomananas

A extração para as sementes de *A. pavonina*, *D. mollis*, *D. regia*, *S. parahyba* e *C. pulcherrima* foi obtida segundo metodologia descrita por Cerqueira *et al.* (2009). Sementes de *C. pulcherrima* foram moídas e o endosperma separado manualmente do cotilédone e da casca. Em seguida, o endosperma foi imerso em solução etanólica (1:2) por 10 min para inativação das biomoléculas ativas. Para as demais espécies, a semente inteira foi submetida à fervura em água para separação do endosperma manualmente. Os endospermas das sementes, uma vez isolados, foram suspensos em água na razão 1:5 (m/v) e deixados a 8 °C por aproximadamente 12 h. As suspensões, após intumescimento, foram adicionadas de 10 volumes de água destilada, homogeneizadas em triturador e filtradas em malha de nylon. A solução viscosa obtida foi adicionada de dois volumes de etanol 96% e a galactomanana precipitada foi imersa em acetona na razão 1:5 (m:v, precipitado:acetona) por 15 min, seguido de secagem em fluxo de ar frio. O pó obtido foi então suspenso em água 1:100 (m:v) e o processo de precipitação repetido. Finalmente, o biopolímero obtido foi moído e filtrado em 0.125 mm mesh.

Para as sementes de *P.glandulosa*, a extração foi obtida de acordo com Sciarini *et al.* (2009). Uma suspensão de sementes foi preparada na proporção (1:25 p/v) foi aquecida a 100 °C por 1 h. Após resfriamento à temperatura ambiente, a suspensão foi centrifugada a 10 000 x g por 10 min. Então, o sobrenadante foi

coletado e o material remanescente foi ressuspenso em água aquecida e repetido o processo. Todo o sobrenadante do processo foi posto junto e precipitado com dois volumes de álcool 96%. Após eliminação do etanol remanescente, o polímero foi seco por liofilização em liofilizador LABCONCO FREE ZONE 4.5. Uma solução a 1% do liofilizado foi centrifugada a 10 000 x *g* por 10 min e o sobrenadante foi precipitado com dois volumes de etanol 96%. Em seguida, a galactomanana foi separada por decantação e seca novamente por liofilização. O material obtido foi estocado em condições ambientes para posterior utilização.

3.3 Extração das xiloglucanas

A extração destes polissacarídeos foi baseada na metodologia reportada por Freitas *et al.* (2003). Sementes de *T. indica*, *H. courbaril* e *M. sloanei* foram descascadas, moídas e intumescidas em água destilada na razão 1: 40 (m:v) a 8 °C por 12 h. O extrato viscoso obtido foi filtrado em malha de nylon e centrifugado a 4 °C, 10 000 x *g*, 20 min. Ao sobrenadante obtido foram adicionados dois volumes de etanol 96% e o precipitado oriundo foi então ressuspenso em água (1:10, m:v), e o processo de precipitação repetido. O excesso de álcool foi descartado e o precipitado foi imerso em acetona na razão 1:5 (m:v) por 15 min, seguido de secagem em fluxo de ar frio.

3.4 Percentual de proteína

A quantidade de nitrogênio total foi obtida de acordo com método reportado por Baethgen & Alley (1989) e associado ao percentual de proteína pelo fator de conversão N x 5,7.

3.5 Determinação de monossacarídeos por Cromatografia Gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS)

A hidrólise das hemiceluloses e o processo de derivatização dos monossacarídeos foram obtidos de acordo com Xu *et al.* (2012). Brevemente, 10 mg de cada hemicelulose foi hidrolisada com ácido trifluoracético (TFA) 2 M a 110 °C por 4 h. Após hidrólise, o solvente foi evaporado e ao resíduo seco adicionado metanol para remover o excesso de ácido. Mais uma vez evaporado, a derivatização prosseguiu com redução usando boroidreto de sódio por 3 h em temperatura

ambiente. Após esse tempo, a reação foi interrompida com algumas gotas de ácido acético glacial até o desaparecimento de bolhas, seguido de evaporação até a secura. Metanol, mais uma vez, foi utilizado para remoção do agente redutor e o material foi seco a 110 °C por 15 min. A acetilação foi obtida pelo uso de anidrido acético e piridina na proporção 3:4 a 100 °C por 3 h. Após, esse tempo, a mistura foi evaporada e ao resíduo seco foi adicionado triclorometano. A fase orgânica foi então lavada com água destilada por cinco vezes para remoção de impurezas, e por fim, a água foi removida e o triclorometano evaporado.

Galactose, glucose, manose e xilose foram determinadas usando cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GCMS- QP2010, Shimadzu, Tokyo, Japan). Uma alíquota de 1 µL das amostras foi injetada no modo *split* (1:25), usando hélio como gás carreador a um fluxo constante de 1,16 mL/min. A separação dos monossacarídeos foi obtida em coluna RTX-5MS (30 m × 0.25 mm i.d. × 0.25 µm) (Restec, Bellefonte, USA). A temperatura foi programada de forma a se manter a 160 °C por 3 min, seguida de aumento gradual de 1 °C/min até 190 °C e finalmente aumento de 15 °C/min até 240 °C, tempo de espera de 1 min. Cada amostra foi aplicada em triplicata.

3.6 Caracterização macromolecular

A viscosidade intrínseca foi realizada a $26 \pm 0,1$ °C em um viscosímetro capilar Ostwald-Fensk, série 200. Uma solução estoque foi preparada e a partir dessa foram feitas diluições de modo a contemplar seis diluições e promover um intervalo de diluições $1.2 < r < 2.0$, onde r é a viscosidade relativa. Valores estes considerados adequados para manter as soluções dentro do platô newtoniano.

As plotagens de η_{sp}/C e $\ln \eta_r/C$ versus C , segundo Huggins-Kramer, foram utilizadas para estimar a viscosidade intrínseca $[\eta]$, de acordo com as equações 4 e 5:

$$\frac{[\eta_{sp}]}{C} = [\eta] + k_H C \quad \text{Equação de Huggins (4)}$$

$$\frac{\ln(\eta_r)}{C} = [\eta] + k_K [\eta]^2 C \quad \text{Equação de Kramer (5)}$$

Onde η_{sp} = viscosidade específica; η_r = viscosidade relativa; $[\eta]$ = viscosidade intrínseca ; C = concentração do polímero ; k_H = constante de Huggins e k_K = constante de Kramer.

3.6.1 Distribuição de massa molar

A massa molar média (M_w) e o número médio de massa molar (M_n) foram estimados por Cromatografia de Permeação em Gel (GPC), usando coluna linear Ultrahydrogel (7.8 x 300 mm) acoplada a cromatógrafo Shimadzu LC-10AD. Uma solução aquosa das amostras a (0.1%; m/v) foi submetida a fluxo de 0,5 mL/min usando NaNO_3 0,1 M como eluente. Um refratômetro diferencial foi usado como detector a 40 °C. Amostras de pululana (Shodex Denko) com M_w de 5.9×10^3 , 2.28×10^4 , 4.73×10^4 , 1.12×10^5 , 4.04×10^5 e 7.88×10^5 g/mol foram usadas como padrões moleculares.

3.7 Propriedades reológicas

Soluções de hemiceluloses a 1% (m:v) foram usadas para comparar as propriedades reológicas entre elas. A dispersão foi preparada em água destilada usando agitador com hélice Fisatom 713A a 2000 rpm, em temperatura ambiente. Após duas horas de homogeneização, as soluções foram centrifugadas a 25 °C, 10000 x g, 30 min, para remoção de partículas insolúveis. Após envase em recipientes plásticos as soluções foram estocadas em temperatura ambiente por 24 h antes da análise reológica.

Para a determinação do comportamento reológico das amostras utilizou-se um reômetro AR 550 TA instruments, com um sistema de controle de temperatura Peltier. A reologia de fluxo foi obtida a 25 °C operando com uma taxa de deformação de 0,1 a 100 s^{-1} . As análises foram realizadas por meio da metodologia cone-placa (cone: 1°, diâmetro de 40 mm e abertura de 28 μm). As curvas de fluxo foram determinadas a partir da tensão (τ) versus taxa de deformação ($\dot{\gamma}$) e os parâmetros reológicos como índice de consistência (k), índice de comportamento (n) e tensão de escoamento (σ_0) foram obtidos pelos modelos da Lei da Potência e Hershel-Bulkley, de acordo com as equações 1 e 3, respectivamente.

A análise dos dados foi feita em triplicatas, com auxílio do *software* Origin 8.0 (OriginLab Corporation, MA, USA)

3.8 Propriedades funcionais

3.8.1 Capacidade de absorção de água

Capacidade de absorção de água (WAC) foi determinada baseada na metodologia reportada por Sciarini *et al.* 2009. Brevemente, 0,4 g de cada hemicelulose foram adicionados a 40 mL de água destilada e deixados sob repouso até completa umidificação do material. Após esse tempo, a suspensão foi centrifugada a 25 °C, 5 000 x *g*, por 10 min. O sobrenadante foi descartado e o peso do polissacarídeos intumescido foi registrado. A capacidade de absorção foi calculada por diferença de peso.

3.8.2 Capacidade emulsificante

Para a capacidade emulsificante, 40 mL de soluções a 1 % (m/v) de cada hemicelulose foram adicionados de 5 mL de óleo vegetal de soja Sadia ®. A mistura foi homogeneizada em agitador Turratec Tecnal TE-102 a 20 500 rpm por 1 min e armazenadas a 8 °C por 12 h. Após esse tempo, a mistura foi centrifugada a 4 °C, 5 000 x *g*, por 10 min. E então, a capacidade emulsificante foi calculada segundo equação 6:

$$\% E = \frac{V_e}{V_t} \times 100 \quad \text{Equação (6)}$$

Onde V_e é o volume da emulsão e V_t o volume final.

Os valores obtidos para as capacidades de absorção de água e emulsificante foram expressos como MÉDIA ± EPM e comparados por análise de variância (ANOVA) de uma via e teste de comparações múltiplas de Tukey ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

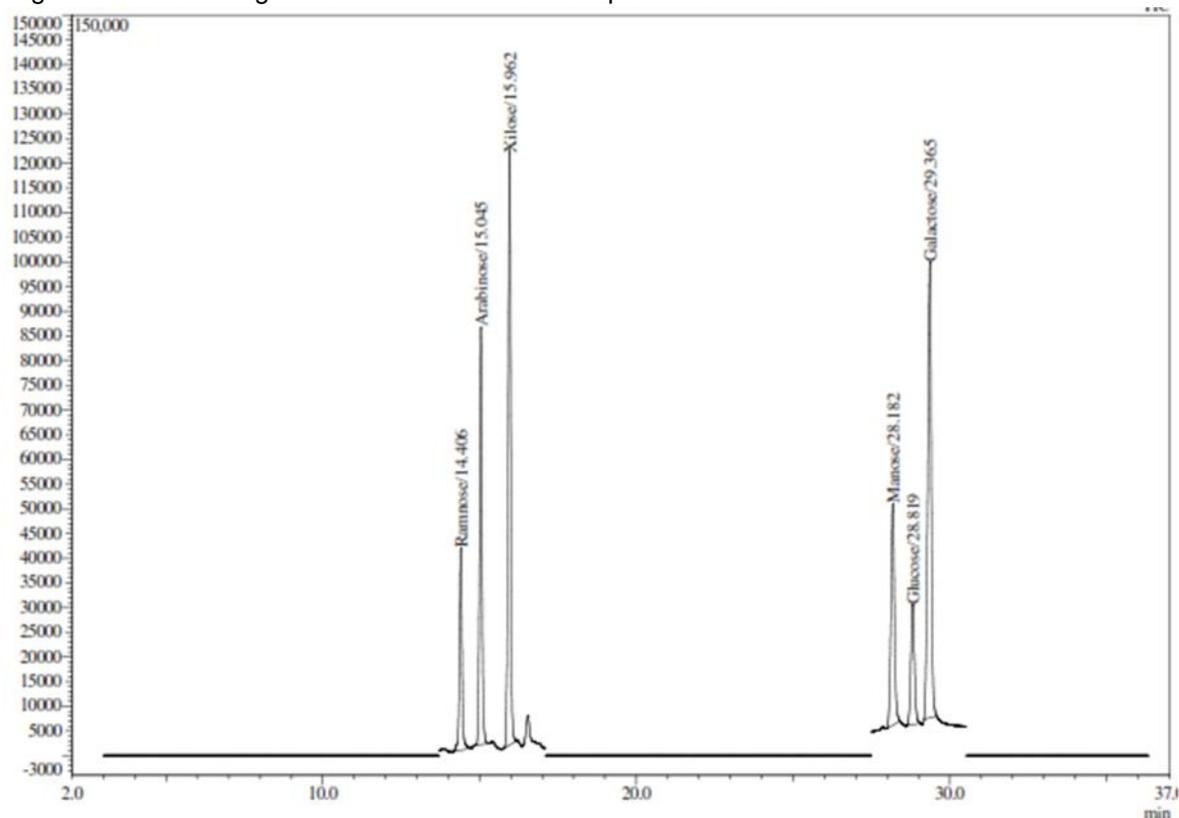
4.1 Extração dos polissacarídeos

Os rendimentos das extrações de galactomananas e xiloglucanas em relação à massa de sementes e percentual de proteína são apresentados na tabela 3. As xiloglucanas de *H.courbaril* (35,4%) e *T.indica* (40,63%) apresentaram maior rendimento. Já para as hemiceluloses endospérmicas, galactomananas, a espécie *D.regia* (31,7%) apresentou maior rendimento. Muitas plantas têm sido analisadas quimicamente e apresentadas como potenciais fontes de galactomanana, Mirhosseini e Amid (2012) enfatizam principalmente goma guar com 19–43%, *Cassia brewsteri* com $33.7\pm 0.4\%$ e mesquite com 24.9%.

Os valores percentuais de proteína foram obtidos pela associação à detecção de nitrogênio total nas amostras, sendo considerados contaminantes no processo de extração. O isolamento do endosperma antes do intumescimento garante extração das galactomananas com uma pureza mais acentuada, podendo ser observada pela coloração branca obtida para todas as espécies. Essa ação previne a contaminação do endosperma por pigmentos e taninos oriundos da casca ou do cotilédone. Ausência ou baixa quantidade de biomoléculas tais como proteínas é desejável para análises reológicas, uma vez que estas podem promover a formação de agregados com carboidratos, e dessa forma, afetar a viscosidade das soluções. Foi observado percentuais de proteína mais altos nas galactomananas de *D.mollis* (1,56), *D.regia* (2,25) e *P.glandulosa* (5,88) quando comparados a LBG e goma guar; contudo, quando as sementes são moídas e peneiradas antes da extração, apresentam valores maiores segundo Panegassi, Serra e Bucheridge (2000). As xiloglucanas apresentam os maiores valores percentuais de proteína, justificado pelo fato de tais hemiceluloses serem cotiledonares, o que dificulta sua extração com baixo teor de contaminantes, como as proteínas.

Na Figura 14, é possível observar o cromatograma de uma mistura com os padrões de monossacarídeos, após separação pela cromatografia gasosa. Demonstrando assim, que a técnica e metodologia empregada foram capazes de identificar e quantificar com precisão os monossacarídeos envolvidos nas cadeias de galactomananas e xiloglucanas.

Figura 14 – Cromatograma dos monossacarídeos padrões utilizados



Fonte: elaborado pelo autor

Os resultados obtidos para a razão de monossacarídeos são apresentados na tabela Tabela 3. Esses dados se complementam aos já observados por Bucheridge *et al.* (1995) quando mostraram uma relação entre a posição taxonômica (subfamília), os rendimentos de galactomanana e razão Man:Gal entre as leguminosas. Mananas puras e celulose são insolúveis em água fria e pH neutro; como resultado, ambas galactomananas e xiloglucanas têm suas solubilidades em água afetada pelo aumento proporcional do conteúdo de galactose. Este aumento é atribuído à extensiva hidratação das regiões ricas em galactose em tais polímeros. Tais regiões previnem a cadeia de manose de formar agregados por pontes de hidrogênio (DEA *et al.*, 1986; GARTI *et al.*, 1997).

Em soluções aquosas, galactomananas tais como LBG, interagem fortemente por meio de segmentos depletados de galactose na cadeia principal com hélices compatíveis (por exemplo, xantana, k-carragenana) ou por autointeração, produzindo arranjos característicos de géis que são texturantes úteis em produtos alimentícios. Por outro lado, regiões substituídas com galactose não interagem com

outros polissacarídeos, e tornam estes eficientes espessantes em soluções (POLLARD *et al.*, 2010).

Tabela 3 – Rendimento e caracterização físico-química das hemiceluloses

Espécie	Rendimento (%)	Proteína (%)[#]	Razão monossacarídica
<i>A.pavonina</i>	7,0	0,11 ± 0,00	1,7 : 1,0 *
<i>C.pulcherrima</i>	27,0	0,08 ± 0,00	4,1 : 1,0 *
LBG	-	0,42 ± 0,03	4,4 : 1,0 *
Goma guar	-	0,35 ± 0,00	1,8 : 1,0 *
<i>D.mollis</i>	9,90	1,56 ± 0,01	3,0 : 1,0 *
<i>D.regia</i>	31,07	2,25 ± 0,03	6,1 : 1,0 *
<i>P.glandulosa</i>	16,53	5,88 ± 0,24	1,5 : 1,0 *
<i>S.parahyba</i>	10,29	0,05 ± 0,00	3,2 : 1,0 *
<i>H.courbaril</i>	35,4	2,73 ± 0,52	1,0 : 0,9 : 0,5 **
<i>M.sloanei</i>	16,01	6,44 ± 0,16	1,0 : 0,6 : 0,6 **
<i>T.indica</i>	40,63	7,34 ± 0,64	1,0 : 0,5 : 0,2 **
Xantana	-	2,86 ± 0,15	1,0 : 2,1***

Proteína(%) = MÉDIA ± EPM

*Man : Gal **Glu : Xil : Gal ***Man : Glu

Fonte: Elaborada pelo autor

4.2 Distribuição de massa molar

A massa molar média (M_w), número de massa molar média (M_n) e polidispersão foram estimados pelo cromatograma obtido com as curvas padrões de pululana (Tabela 5). Os valores obtidos variaram entre 0,09 e $3,37 \times 10^7 \text{ g mol}^{-1}$. Pollard *et al.* (2010) listam um intervalo de $0,09 - 0,31 \times 10^7 \text{ g mol}^{-1}$ para as galactomananas estudadas em seu trabalho, associa ao envolvimento de uma enzima manosyl transferase na regulação do tamanho ou terminação da cadeia durante a biossíntese das galactomananas menos substituídas, resultando em cadeias mais longas. Picot *et al.* (2003) destacam que cadeias de xiloglucanas com alta massa molar apresentam algumas limitações, tais como solubilidade em água e

alto índice de polidispersão, os quais se originam da habilidade de tais polímeros formarem longos agregados via pontes de hidrogênio.

Tabela 4 – Distribuição de massa molar das hemiceluloses

Espécie	<i>A.pavonina</i>	<i>C.pulcherrima</i>	LBG	Goma guar	<i>D.mollis</i>	<i>D.regia</i>	<i>P.glandulosa</i>	<i>S.parahyba</i>	<i>H.courbaril</i>	<i>M.sloanei</i>	<i>T.indica</i>	Xantana
Mw (x10⁷)	1,45	1,34	1,20	2,62	1,55	0,64	3,07	1,00	0,09	1,32	0,12	3,37
Mn (x10⁶)	2,14	2,64	1,93	4,31	2,60	0,68	0,59	1,29	0,19	2,58	0,23	19,3
Mw/Mn	6,75	5,09	6,21	6,09	5,95	9,38	5,17	7,73	4,58	5,11	5,27	1,75

Fonte: elaborada pelo autor

4.3 Caracterização macromolecular

Os valores médios para viscosidade intrínseca e constante de Huggins são mostrados na Tabela 5. Os métodos viscosimétricos são baseados no fato que a viscosidade de um líquido aumenta proporcionalmente com o volume do polímero, e isso provê informações interessantes relacionadas ao tamanho do polímero em solução e às interações polímero-solvente. (DEA *et al.*, 1977; KWAAMBWA *et al.*, 2007). A viscosidade intrínseca pode ser obtida pela plotagem de viscosidade reduzida ou viscosidade inerente para extrapolações às concentrações tendendo a zero. A constante de Huggins (k_H) reflete as interações soluto-solvente e o estado de agregação das moléculas, isto é, em solventes adequados ou para macromoléculas flexíveis, $0,3 < k_H < 0,7$. Contudo, é possível obter valores maiores que 1,0 em caso de agregações moleculares (MORRIS *et al.*, 1981). Nesse estudo, os altos valores obtidos para a constante de Huggins refletem agregações intermoleculares nas amostras. Isso pode ser atribuído à existência de emaranhados físicos não específicos nas soluções com tais polissacarídeos. DEA *et al.* (1986) reportam que essas associações em galactomananas ocorrem em regiões com mais de seis manoses não substituídas por galactoses.

Tabela 5 - Parâmetros macromoleculares das hemiceluloses

Espécie	Viscosidade Intrínseca Huggins (dL g ⁻¹)	Viscosidade Intrínseca Kramer (dL g ⁻¹)	Viscosidade Intrínseca média (dL g ⁻¹)	Coefficiente de Huggins (K _H)
<i>A.pavonina</i>	4,13	4,16	4,14	0,43
<i>C. pulcherrima</i>	9,49	9,80	9,64	1,08
LBG	2,56	2,57	2,57	0,77
Goma guar	10,33	10,56	10,44	0,73
<i>D.mollis</i>	9,58	9,91	9,74	1,15
<i>D.regia</i>	3,27	4,04	3,66	0,86
<i>P.glandulosa</i>	10,68	11,29	10,98	1,10
<i>S.parahyba</i>	7,26	7,49	7,38	1,26
<i>H.courbaril</i>	7,84	7,82	7,83	0,23
<i>M.sloanei</i>	14,82	14,55	14,69	0,36
<i>T.indica</i>	3,40	3,62	3,51	2,38
Xantana	12,88	12,42	12,65	0,17

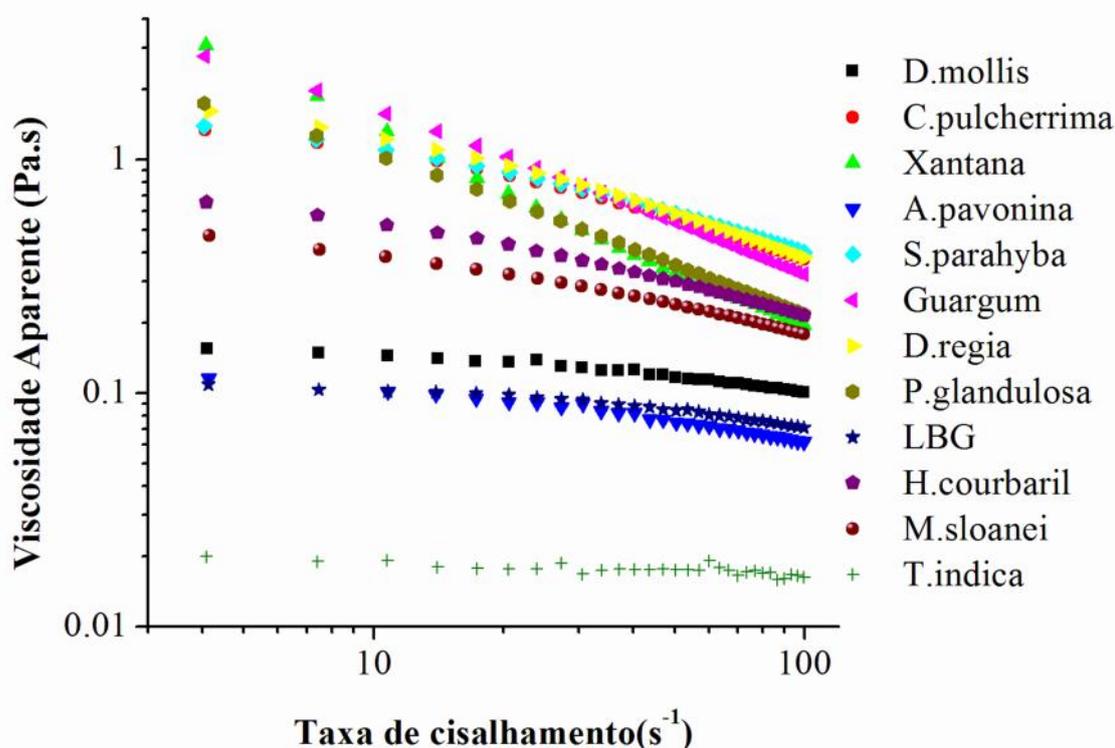
Fonte: Elaborada pelo autor

A viscosidade intrínseca das hemiceluloses neste trabalho variaram entre 2,56 e 14,82 dL g⁻¹ (Tabela 2). Cerqueira *et al.* (2009) mostram valores entre 8,74 e 11,34 dL g⁻¹ para galactomananas extraídas de quatro fontes diferentes. No entanto, aqui, galactomananas exibiram viscosidades intrínsecas diferentes mesmo apresentando razões Man:Gal similares. Até mesmo para xiloglucanas de *H.courbaril* e *M.sloanei* que tem razão de monossacarídeos (Glc:Xil:Gal), 1.0 : 0.9: 0.5 e 1.0 : 0.6: 0.6, respectivamente, apresentaram enormes diferenças nos valores obtidos (7,84) e (14,82), respectivamente. No entanto, essa distribuição de galactose na cadeia ainda não é completamente entendida, e acredita-se ser importante para as propriedades funcionais desses polissacarídeos (DAKIA *et al.*, 2008).

4.4 Comportamento reológico

Similar a outros polissacarídeos, tais como carragenana, pectina e amido (MARCOTE *et al.*, 2001; SINGH; SHARMA, 2013), todas as soluções de galactomananas na concentração de 1% (m:v) exibiram comportamento pseudoplástico ($n < 1$), o que significa que sua viscosidade aparente decresce com o aumento da taxa de cisalhamento nestes fluidos (Figura 15). A diminuição da viscosidade é um comportamento comum em soluções de polissacarídeos, uma vez que suas cadeias são conhecidas por formar estruturas ordenadas por meio de emaranhados cadeia-cadeia. E estes últimos são rompidos quando submetidos a uma força cisalhante, levando conseqüentemente à diminuição da viscosidade com o aumento da taxa de deformação (SINGTHONG *et al.*, 2005). De fato, a diminuição da viscosidade aparente com o aumento da taxa de deformação gera uma mudança estrutural dos polímeros devido às forças hidrodinâmicas causadas e ao maior alinhamento das moléculas na direção da tensão aplicada.

Figura 15 – Viscosidade aparente das hemiceluloses



Fonte: elaborada pelo autor

Usando o modelo da Lei da Potência, é possível observar que os valores para o índice de comportamento de *A. pavonina* (0,74), *D. mollis* (0,81) e LBG (0,79) são os mais próximos de $n = 1$, valor característico de fluidos Newtonianos. Apesar

do aumento da razão Man:Gal levar a incrementos correspondentes na viscosidade, as galactomananas das espécies acima mostraram valores similares para índices de consistência (Tabela 6). Isso pode ser influenciado pelo padrão de distribuição de galactose nas cadeias e a interação entre essas moléculas. Comportamento semelhante foi observado para galactomananas de *S. parahyba*, *D. regia* e *C. pulcherrima*.

Tabela 6 – Parâmetros reológicos pela Lei da Potência

	Coeficiente de consistência (k)	Índice de comportamento (n)	Coeficiente de regressão (R ²)
<i>A.pavonina</i>	0,21	0,74	0,9984
<i>C. pulcherrima</i>	3,89	0,50	0,9915
LBG	0,19	0,79	0,9985
Goma guar	8,62	0,29	0,9977
<i>D.mollis</i>	0,25	0,81	0,9992
<i>D.regia</i>	4,91	0,45	0,9889
<i>P.glandulosa</i>	5,23	0,31	0,9954
<i>S.parahyba</i>	3,79	0,52	0,9934
<i>H.courbaril</i>	1,57	0,57	0,9968
<i>M.sloanei</i>	1,00	0,63	0,9977
<i>T.indica</i>	0,04	0,93	0,9989
Xantana*	0,10	0,90	0,9890

*Exceto para xantana em que modelo Herschel Bulkley foi aplicado

Fonte: Elaborada pelo autor

Apesar de *P. glandulosa* e goma guar, neste trabalho, apresentarem razão Man:Gal similar e valores de índice de comportamento, elas mostram os maiores valores para o índice de consistência (*k*). De qualquer forma, *P. glandulosa* tem maior massa molar ($3,07 \times 10^7$) comparada à goma guar ($2,62 \times 10^7$) e pode ser o motivo para elevada pseudoplasticidade.

A estrutura dos polissacarídeos de reserva é complicada no que concerne aos seus arranjos e distribuição de unidades substituintes que não é homogênea. Assim, a fórmula química dessas repetições na cadeia mostradas em artigos e textos de livros é somente uma forma idealizada ou média, e não representa uma estrutura específica das estruturas das amostras experimentais lá estudadas. (NISHINARI *et al.*, 2007)

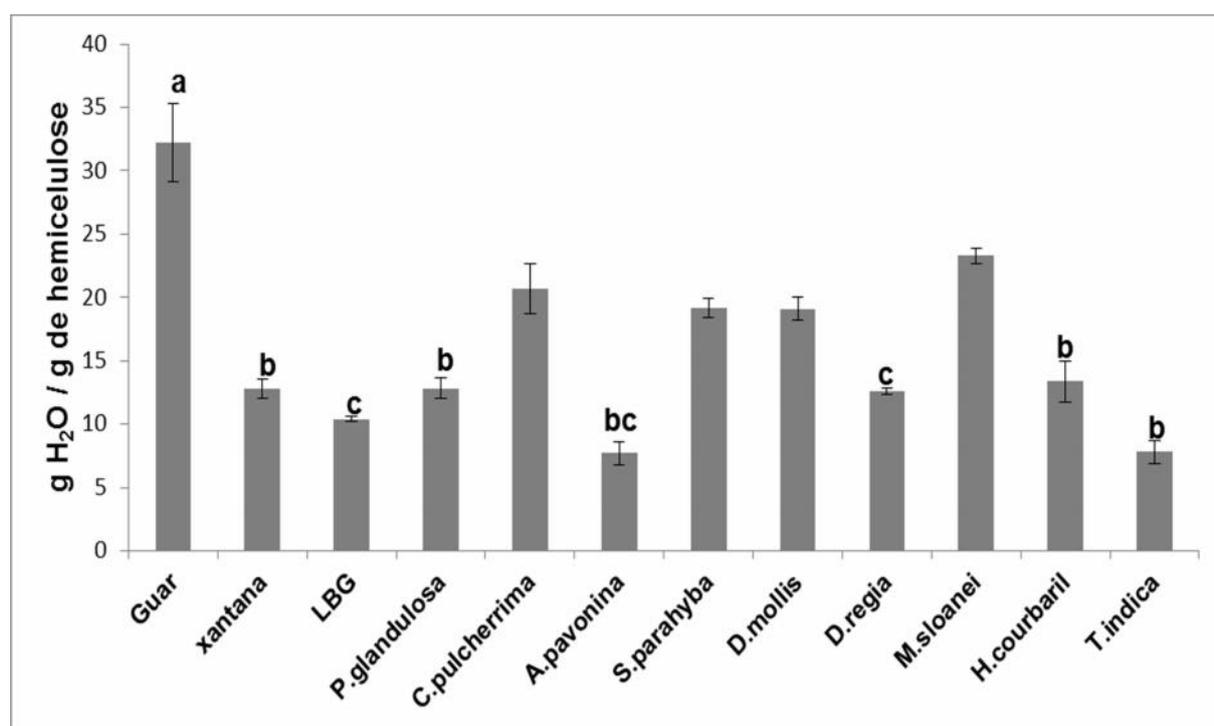
Quando se compara as xiloglucanas de *M.sloanei* e *H.courbaril* na concentração de 1% (m:v), é vista similaridade em seus índices de comportamento. No entanto, tais xiloglucanas foram capazes de fornecer soluções com diferentes

viscosidades, vistas pelos seus índices de consistência 1,00 e 1,57, respectivamente. O grau de substituição de galactose e a composição das unidades de repetição na cadeia afetam as propriedades das soluções aquosas de xiloglucanas. A amostra de *T. indica* teve aproximadamente um comportamento Newtoniano e um baixo índice de consistência; estes resultados são próximos dos observados para xantana neste trabalho. Porém, foi necessário analisar a solução de xantana pelo modelo Hershel-Bulkley, apresentando uma tensão de escoamento de 12.88 Pa, onde esta representa a tensão requerida para alcançar fluxo. Abaixo do valor de tensão de escoamento, a solução exibe característica semelhante aos sólidos.

4.5 Propriedades Funcionais

Os valores da capacidade de absorção de água são mostrados na Figura 16.

Figura 16 – Capacidade de absorção de água das hemiceluloses



Média ± EPM

Fonte: elaborado pelo autor

O maior valor foi apresentado pela goma guar em termos de absorção de água, dentro da metodologia empregada. Contudo, isso pode ser explicado pelo método de extração na indústria e a granulometria dos materiais obtidos. Sciarini et

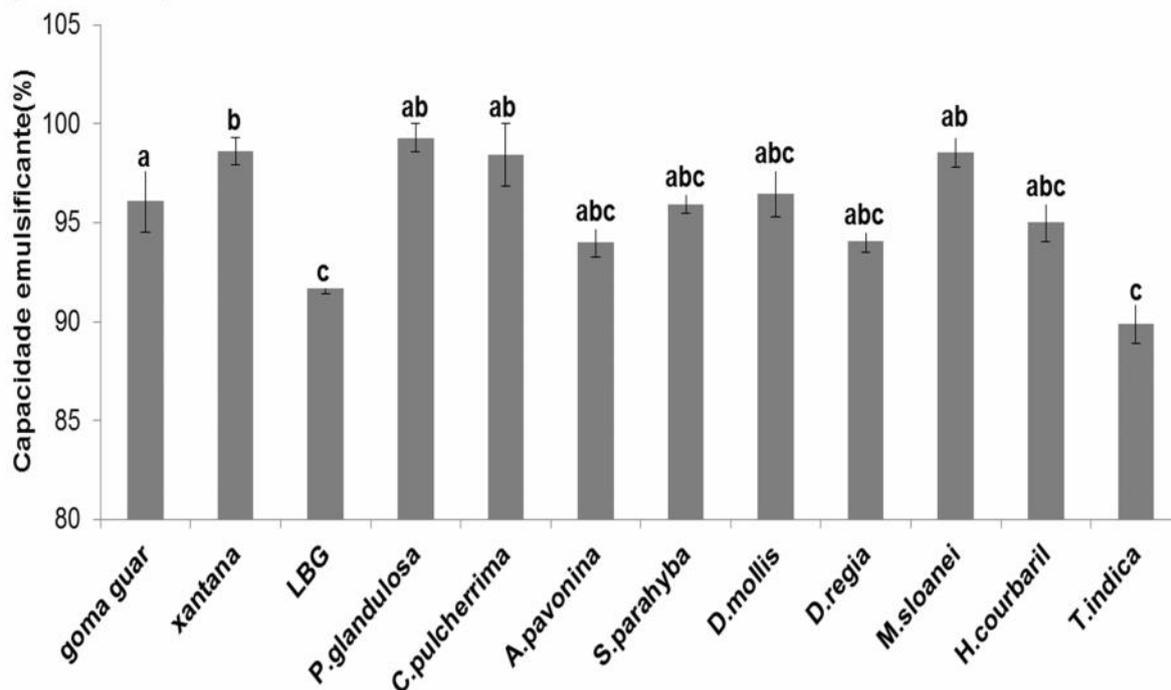
al., 2009 enfatiza que a interação da água com as moléculas de hemicelulose pode ser mais fácil quando há redução das interações intercadeias dos polissacarídeos, onde os métodos drásticos de extração podem afetar a estrutura dessas moléculas, alterando o desdobramento destas e aumentando a proporção da ramificação do polímero.

As propriedades funcionais das galactomananas são influenciadas pelo comportamento reológico de suas moléculas em fase aquosa e também por interações intermoleculares em certas condições. As moléculas hidratadas ocupam um volume hidrodinâmico considerável e controlam o comportamento reológico de uma solução inteira. Galactomananas por si só não apresentam a capacidade de formar géis, portanto não são gelificantes. Contudo, sob interações sinérgicas com outros polissacarídeos tais como ágar, goma xantana e carragenana, elas são capazes de formar géis com redes tridimensionais em apropriadas condições. (SCHORSCH, GARNIER; DOUBLIER, 1997; PRAJAPATI *et al.* 2013c).

Os valores percentuais de formação de emulsão são mostrados na Figura 17. Essa capacidade de emulsão tem sido associada à alta superfície ativa dos polímeros. Contudo, já foi reportado que essa atividade de superfície não é o único fator determinante das propriedades emulsificantes. Atividades de interface, peso molecular e interações com pequenas quantidades de proteína podem também ser considerados. A estabilidade das emulsões com hidrocolóides é atribuída também aos grupos funcionais ou segmentos hidrofóbicos. Estes grupos agem como moléculas multifuncionais que reorienta a interface óleo-água funcionando como âncora para os efeitos estéricos e eletrostáticos. (WU *et al.*, 2009; DICKINSON, 2009).

A goma arábica é um agente emulsificante de grande importância, a qual mantém sua função efetivamente em diferentes condições (baixo pH, força iônica, etc.). Mas, devido a sua baixa eficiência em aumentar a viscosidade dos líquidos é necessário usar quantidades que atingem 25% de concentração de goma em solução. Isso, somado ao preço e à disponibilidade do material limitam seu uso. E assim, nos recentes anos, muitos estudos tem se desenvolvido a fim de se encontrar novas fontes de matéria prima (KARIMI e MOHAMMADIFAR, 2014).

Figura 17 – Capacidade emulsificante das hemiceluloses



Média ± EPM

Fonte: elaborado pelo autor

As galactomananas e xiloglucanas aqui apresentadas ainda não são fontes exploradas pela indústria, podendo competir com as já comerciais. Recentemente, estudos mostram que muitos consumidores não têm conhecimento de determinados aditivos usados em alimentos. Nesses estudos, alimentos contendo uma série de tais polissacarídeos em alimentos já comerciais são avaliados sensorialmente, e enfatizam o desconhecimento das fontes naturais de obtenção desses aditivos, o que muitas vezes, leva a percepções negativas na aceitação dos produtos (AOKI *et al.*, 2010; VARELA e FISZMAN, 2013).

5. CONCLUSÕES

– Os rendimentos das extrações em relação à massa das sementes mostrou um intervalo de 7,0 a 40,63%, destacando espécies como *Caesalpinia pulcherrima*, *Delonix regia* e *Hymenaea courbaril* com rendimento semelhante à goma guar;

– Galactomananas de *Schizolobium parahyba* e *Caesalpinia pulcherrima* apresentaram os menores percentuais de proteínas, 0,05% e 0,08%, respectivamente. Mostrando, uma pureza acentuada em relação à preparação e obtenção dessas hemiceluloses;

– Valores de M_w variaram dentro de um intervalo entre $0,09 - 3,37 \times 10^7$ g mol⁻¹. Os parâmetros macromoleculares refletem a formação de agregados moleculares com valores de constante de Huggins superiores a 0,7;

– Todas as hemiceluloses estudadas apresentaram comportamento pseudoplástico. Galactomananas e xiloglucanas, com diferentes razões de monossacarídeos, apresentaram valores similares para índices de comportamento e de consistência, os quais podem ser atribuídos às diferenças de distribuição de galactose na cadeia;

– As hemiceluloses permitem uma série de aplicações nas indústrias farmacêutica e alimentícia, o que enfatiza o interesse por novas fontes de tais moléculas. Um melhor entendimento das suas funções fisiológicas, químicas e propriedades reológicas constituem uma tarefa capaz de prover alternativas de exploração das fontes estudadas, e aplicações mais profundas em áreas como ciência de materiais, medicina e biologia.

REFERÊNCIAS

- ADJÉ, F.A.; LOZANO, Y.F.; GERNEVÉ, C.; LOZANO, P.R.; MEUDEC, E.; ADIMA, A.A.; GAYDOU, E.M. Phenolic acid and flavonol water extracts of *Delonix regia* red flowers. **Industrial Crops and Products**, 37, 303-310, 2012.
- AJIWE, V. I. E.; OKEKE, C. A.; NNABUIKE, B.; OGUNLEYE, G. A.; ELEBO, E. Applications of Oils Extracted from African Star Apple (*Chrysophyllum africanum*), Horse Eye Bean (*Mucuna sloanei*) and African Pear (*Dacryodes edulis*) Seeds. **Bioresource Technology**, 59, 259-261, 1997.
- AOKI, K.; SHEN, J.; SAIJO, T. Consumer reaction to information on food additives: evidence from an eating experiment e a field survey. **Journal of Economic Behavior & Organization**, 73, 433- 438, 2010.
- AQUILA, M.E.A; BRAGA, M.R.; DIETRICH, S.M.C. The similarity of galactomannan in seeds and endocarp of pods during development in *Senna macranthera* var. *nervosa*. **South Africa Journal of Botany**, 83, 56-62, 2012.
- BAETHGEN, W.E. & ALLEY, M.M. A manual colorimetric procedure for measuring ammonium nitrogen in soil e plant Kjeldahl digest. *Soil Science Plant Analysis*, 20, 961-969, 1989.
- BAGLEY, E.B. e DINTZIS, F.R. **Shear thickening e flow induced structures in foods e biopolymer systems**. In: Rheology Series, 8, 63-86, 1999.
- BENTO, J.F.; MAZZARO, I.; SILVA, L.M.A.; MOREIRA, R.A.; FERREIRA, M.L.C.; REICHER, F.; PETKOWICZ, C.L.O. Diverse patterns of cell wall mannan/galactomannan occurrence in seeds of the Leguminosae. **Carbohydrate Polymers**, 92, 192-199, 2013.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Seeds germination, structure e composition. In: **Seeds: Physiology of Developement e Germination**. New York: Pleming Press, 1985.
- BEZERRA, G.P.; GÓIS, R.W.S.; BRITO, T.S.; LIMA, F.J.B.; BANDEIRA, M.A.M.; ROMERO, N.R.; MAGALHÃES, P.C.; SANTIAGO, G.M.P. Phytochemical study guided by the myorelaxant activity of the crude extract, fractions and constituent from

stem bark of *Hymenaea courbaril* L. **Journal of Ethnopharmacology**, 149, 62-69, 2013.

BRAGA, R.C.; TEIXEIRA-SÁ, D.M.A.; RIBEIRO, A.F.; MIRANDA, R.L.; ALMEIDA, L.M.; HORTA, A.C.G.; MOREIRA, R.A. Evaluation of *Caesalpinia Pulcherrima* Endospermic Gum as Affinity Matrices for Galactose-Binding Lectins Interaction. **Brazilian Archives of Biology Technology**, 54, 283-292, 2011.

BUCKERIDGE, M.S. Seed cell wall storage polysaccharides: models to understand cell wall biosynthesis e degradation. *Plant Physiology*, 154, 1017–1023, 2010.

BUCKERIDGE, M.S.; SANTOS, H.P.; TINÉ, M. A. S. Mobilisation of storage polysaccharides in seeds. **Plant Physiology e Biochemistry**, 38, 141-156, 2000.

BURITI, F.C.A.; SANTOS, K.M.O. ; SOMBRA, V.G.; MACIEL, J.S.; TEIXEIRA-SÁ, D.M.A.; SALLES, H.O.; OLIVEIRA, G.; PAULA, R.C.M.; FEITOSA, J.P.A.; MONTEIRO-MOREIRA, A.C.O.; MOREIRA, R.A.; EGITO, A.S. Characterisation of partially hydrolysed galactomannan from *Caesalpinia pulcherrima* seeds as a potential dietary fibre. **Food Hydrocolloids**, 35, 512-521, 2014.

CERQUEIRA, M.A. ; BOURBON, A.I. ; PINHEIRO, A.C. ; MARTINS, J.T. ; SOUZA, B.W.S. ; TEIXEIRA, J.A. ; VICENTE, A.A. Galactomannans use in the development of edible films/coatings for food applications. **Trends in Food Science & Technology**, 22, 662–671, 2011.

CERQUEIRA, M.A., PINHEIRO, A.C., SOUZA, B.W.S., LIMA, A.M.P., TEIXEIRA, J.A., MOREIRA, R.A., COIMBRA, M.A., GONÇALVES, M.P., & VICENTE, A.A.. Extraction, purification and characterization of galactomannans from non-traditional sources. *Carbohydrate Polymers*, 75, 408-414, 2009.

CEVOLI, C.; BALESTRA, F.; RAGNI, L.; FABBRI, A. Rheological characterisation of selected food hydrocolloids by traditional and simplified techniques. **Food Hydrocolloids**, 33, 142-150, 2013.

CHAIRES-MARTÍNEZ, L., SALAZAR-MONTOYA, J. A., & RAMOS-RAMÍREZ, E. G. Physicochemical e functional characterization of the galactomannan obtained from

mesquite seeds (*Prosopis pallida*). *European Food Research e Technology*, 227, 1669-1676, 2008.

COSGROVE, D.J. Expansive growth of plant cell walls. **Plant physiology e Biochemistry**, 38, 109-124, 2000.

COVIELLO, T.; MATRICARDI, P.; MARIANECCI, C.; ALHAIQUE, F. Polysaccharide hydrogels for modified release formulations. **Journal of Controlled Release**, 119, 5-24, 2007.

DAKIA, P. A., BLECKERB, C., ROBERTA, C., WATHELETA, B. & PAQUOTA, M. Composition e physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid or water dehulling pre-treatment. **Food Hydrocolloids**, 22, 807-818,2008.

DE, D.; CHATTERJEE, K.; JANA, K.; ALI, K. M.; BERA, T. K.; SAMANTA, R.; GHOSH.,D. Searching for antihyperglycemic phytomolecules through bioassay-guided solvent fractionation and subfractionation from hydro-methanolic (2:3) extract of *Tamarindus indica* Linn. seeds in streptozotocin-induced diabetic rat. **Biomarkers and Genomic Medicine**, 5, 164- 174, 2013.

DEA, I. C. M., CLARK, A. H., & MCCLEARY, B. V. Effect of galactose substitution patterns on the interaction properties of galactomannans. **Carbohydrate Research**, 147, 275–294, 1986.

DEA, I. C. M., MORRIS, E. R., REES, D. A., WELSH, E. J., BRANES, H. A., & PRICE, J. Associations of like and unlike polysaccharides: mechanism e specificity in galactomannans, interacting bacterialpolysaccharides, e related systems. **Carbohydrate Research**, 57, 249–272, 1977.

DICKINSON, E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. **Food hydrocolloids**, 23, 1473-1482, 2009.

FÉRES, C.A.O.; MADALOSSO, R.C.; ROCHA, O.A.; LEITE, J.P.V.; GUIMARÃES, T.M.D.P.; TOLEDO, V.P.P.; TAGLIATI, C.A. Acute and chronic toxicological studies of *Dimorphandra mollis* in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, 108, 450–456, 2006.

- FREITAS, R.A, GORIN, P.A.J., NEVES, J., SIERAKOWSKI, M.R. A rheological description of mixtures of a galactoxyloglucan with high amylose e waxy corn starches. **Carbohydrate Polymers**, 51, 25-32, 2003.
- FREITAS, R.A. MARTIN, S., SANTOS, G.L., VALENGA, F., BUCKERIDGE, M.S., REICHER, F., SIERAKOWSKI, M.R. Physico-chemical properties of seed xyloglucans from different sources. **Carbohydrate polymers**, 60, 507-514, 2005.
- GARROS-ROSA, I.; REICHER, F.; PETKOWICZ, C.L.O; SIERAKOWSKI, M.R.; MOREIRA, R.A. Characterization of the Galactomannans from Parkinsonia Aculeata Seeds and their Application on Affinity Chromatography. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 16, n, 2, p 99-103, 2006.
- GARTI, N., MADAR, Z., ASERIN, A., & STERNHEIM, B. Fenugreek galactomannans as food emulsifiers. **Food Science e Technology**, 30, 305–311, 1997.
- GEORGE, C.; LOCHNER, A.; HUISAMEN, B. The efficacy of *Prosopis glandulosa* as antidiabetic treatment in rat models of diabetes and insulin resistance. **Journal of Ethnopharmacology**, 137, 298-304, 2011.
- GÍRIO, F.M.; FONSECA, C.; CARVALHEIRO, F.; DUARTE, L.C.; MARQUES, S.; BOGEL-LUKASIK, R. Hemicelluloses for fuel ethanol: a review. **Bioresource Technology**, 101, p. 4775–4800, 2010.
- HOFER, J.M.; ELLIS, T.N. Developmental specialisations in the legume family. **Current opinion in Plant Biology**, 17, 153-158, 2014.
- JANA, S.; SAHA, A.; NAYAK, A.K.; SEN, K.K.; BASU, S.K. Aceclofenac-loaded chitosan-tamarind seed polysaccharide interpenetrating polymeric network microparticles. **Colloids e Surfaces B: Biointerfaces**, 105, 303-309, 2013.
- KALE, R.H.; JOSHI, U.M.; AMBHORE, D.P.; SITAPHALE, G.R. Evaluation of *Delonix regia* endospermic mucilage as tablet binder. **International Journal of ChemTech Research**, 1, 11-15, 2009.

KARIMI, N.; MOHAMMADIFAR, M.A. Role of water soluble and water swellable fractions of gum tragacanth on stability and characteristic of model oil in water emulsion. **Food hydrocolloids**, 37, 124-133, 2014.

KWAAMBWA, H.M., GOODWIN, J.W., HUGHES, R.W., & REYNOLDS, P.A. Viscosity, molecular weight and concentration relationships at 298 K of low molecular weight *cis*-polyisoprene in a good solvent. **Colloids e Surfaces A: Physicochem. Engineering Aspects**, 294, 14–19, 2007.

LEROUXEL, O.; CAVALIER, D. M; LIEPMAN, A. H.; KEEGSTRA, K. Biosynthesis of plant cell wall polysaccharides — a complex process. **Current Opinion in Plant Biology**, 9, 621–630, 2006.

LIMA, A.M.P.; CERQUEIRA, M.A.; SOUSA, B.W.; TEIXEIRA, J.A.; VICENTE, A.A.; MOREIRA R.A. **Influence of galactomannans/collagen edible coatings in gas transfer rates in fruit**. In: VALNATURA: A Europe-Latin American post-graduate research network in the Valorization of Natural Resources. Media Addict. Porto, Portugal, 82-88, 2008.

LINKIES, A.; GRAEBER, K. ; KNIGHT, C. ; LEUBNER-METZGER, G. The evolution of seeds. **New Phytologist**, 186, p.817–831, 2010.

MA, J.; LIN, Y.; CHEN, X.; ZHA, B.; ZHANG, J. Flow behavior, thixotropy and dynamical viscoelasticity of sodium alginate aqueous solutions. **Food Hydrocolloids**, 38, 119-128, 2014.

MAHAJAN, H.S.; GUNDARE, S.A. Preparation, characterization e pulmonary pharmacokinetics of xyloglucan microspheres as dry powder inhalation. **Carbohydrate Polymers**, 102, 529-536, 2014.

MARCOTTE, M., HOSHASILI, A.R.T, RAMASWAMY, H.S. Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration e temperature. **Food research international**, 34, 695-703, 2001.

MARTINEZ-AVILA, G.C.G.; HERNANDEZ-ALMANZA, A.Y.; SOUSA, F.D.; MOREIRA, R.A.; GUTIERREZ-SANCHEZ, G.; AGUILAR, C.N. Macromolecular and

functional properties of galactomannan from mesquite seed (*Prosopis glandulosa*). **Carbohydrate Polymers**, in press, 2013.

MATOS, V.C. **Gomas endospérmicas de *Delonix regia* e *Schizolobium parahyba***. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2000.

MIKKONEN, K.S.; RITA, HANNU; H., H.; TALJA, R.A. HYVÖNEN, L., & TENKANEN, M. Effect of Polysaccharide Structure on Mechanical e Termal Properties of Galactomannan-Based Films. **Biomacromolecules ACS**, 8, 3198-3205, 2007.

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**, 46, 387-398, 2012.

MOREIRA, R. A.; CASTELO-BRANCO, C. C.; MONTEIRO, A. C.O.; TAVARES, R. O.; BELTRAMINI, L.M. Isolation e partial characterization of a lectin from *Artocarpus incisa* L. seeds. **Phytochemistry**, 47, 1183-1188, 1998.

MORRIS, E. R., CUTLER, A. N., ROSS-MURPHY, S. B., REES, D. A., & PRICE, J. Concentration and shear rate dependence of viscosity in reom coil polysaccharide solutions. **Carbohydrate Polymers**, 1, 5–21, 1981.

MUJAHID, M.; SIDDIQUI, H.H.; HUSSAIN, A.; HUSSAIN, S. Hepatoprotective effects of *Adenanthera pavonina* (Linn.) against anti-tubercular drugs-induced hepatotoxicity in rats. **Pharmacognosy Journal**, 5, 286-290, 2013.

MWANGI, J. W.; RODE, C.; COLDITZ, F.; HAASE, C.; BRAUN, H.P.; WINKELMANN, T. Proteomic e histological analyses of endosperm development in *Cyclamen persicum* as a basis for optimization of somatic embryogenesis. **Plant Science**, 201-202, p.52-65, 2013.

NAYAK, A.K; PAL, D.; SANTRA, K. Tamarind seed polysaccharide-gellan mucoadhesive beads for controlled release of metformin HCl. **Carbohydrate polymers**, 103, 154-163, 2014.

NISHINARI, K., TAKEMASA, M., ZHANG, H., TAKAHASHI, R. **Storage plant polysaccharides: xyloglucans, galactomannans, glucomannans.**

Comprehensive glycoscience, chemistry to systems biology, 4, 614- 646, 2007.

OIKAWA, A.; LUND, C.H; SAKURAGI, Y; SCHELLER, H.V. Golgi-localizes enzyme complexes for plant cell wall biosynthesis. **Trends in Plant Science**, 18, N.1, Jan-2013.

OSANO, J.P.; HOSSEINI-PARVAR, S.H.; MATIA-MERINO, L.; GOLDING, M. Emulsifying properties of a novel polysaccharide extracted from basil seed (*Ocimum bacilicum* L.): Effect of polysaccharide and protein content. **Food hydrocolloids**, 37, 40-48, 2014.

PANEGASSI, V. R.; SERRA, G. E.; BUCKERIDGE, M. S. Potencial tecnológico do galactomanano de sementes de faveiro (*Dimorphandra mollis*) para uso na indústria de alimentos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 20, n. 3, Dec. 2000.

PICOT, D.R., ROSS-MURPHY, S.B., ERRINGTON, N., HARDING, S.E. Pressure cell assisted solubilization of xyloglucans: tamarind seed polysaccharide and Detarium gum. **Biomacromolecules**, 4, 799-807, 2003.

POLLARD, M.A., EDER, B., FISCHER, P., WINDHAB, E.J. Characterization of galactomannans isolated from legume endosperms of *Caesalpinioideae* and *Faboideae* subfamilies by multidetection aqueous SEC. **Carbohydrate Polymers**, 79,70–84, 2010.

PRAJAPATI, V. D.; JANI, G. K.; MORADIYA, N.G.; REERIA, N. P. Pharmaceutical applications of various natural gums, mucilages and their modified forms. **Carbohydrate polymers**, 92, 1685-1699, 2013b.

PRAJAPATI, V. D.; JANI, G. K.; MORADIYA, N.G.; REERIA, N. P.; NAGAR, B. J.; NAIKWADI, N. N.; VARIYA, B. C. Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide. **International Journal of Biological Macromolecules**, 60, 83-92, 2013a.

PRAJAPATI, V. D.; JANI, G. K.; MORADIYA, N.G.; REERIA, N. P.; NAGAR, B. J. Locust bean gum: a versatile biopolymer. **Carbohydrate polymers**,94, 814-821, 2013c.

REID, J.S.G. Cell wall storage carbohydrates in seeds. Biochemistry of the seed "gums" and "hemicelluloses". **Advance in Botanic Research**, 11, 125-155, 1985.

RINAUDO, M. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. **Polymer international**, 57, 397-430, 2008.

SHELLER, H.V. e ULVSKOV, P. Hemicelluloses. **Annual review of plant biology**, 61, 263-269,2010.

SCHORSCH, C.; GARNIER, C.; DOUBLIER, J.L. Viscoelastic properties of xanthan / galactomannan mixtures: comparison of guar gum with locust vean gum. **Carbohydrate Polymers**, 34, 165-175, 1997.

SCIARINI, L. S., MALDONADO, F., RIBOTTA, P. D., PÉREZ, G. T., & LEÓN, A. E. Chemical composition and functional properties of *Gleditsia triacanthos* gum. **Food Hydrocolloids**, 23, 306-313, 2009.

SELVI, R. S., GOPALAKRISHANAN, S., RAMAJAYAM, M., SOMAN, R. Evaluation of mucilage of *Caesalpinia pulcherrima* as binde for tablets. **International Journal of ChemTech Research**, 2, 436-442, 2010.

SILVA, L.M.A. **Galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima*: biossíntese, estrutura e aplicação em matrizes cromatográficas**, 2005, 175 f. Tese (Doutorado em bioquímica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

SILVA, M.R.; SILVA, M.S.; MARTINS, K.A.; BORGES, S. Utilização tecnológica dos frutos de jatobá-do-cerrado e de jatobá-da-mata na elaboração de biscoitos fontes de fibra alimentar e isentos de açúcares. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, 21: 176-182, 2001.

SINGH, B. & SHARMA, V. (2013). Influence of gamma radiation on the physicochemical and rheological properties of sterculia gum polysaccharides. **Radiation Physics e Chemistry**, 92, 112 – 120, 2009.

- SINGTHONG, J., NINGSANOND, S., CUI, S. W., GOFF, H. D. Extraction and physicochemical characterization of Krueo Ma Noy pectin. **Food Hydrocolloids**, 19, 793 – 801, 2005.
- SOMERVILLE, C.; OSBORNE, E.; BAUER, S.; PAREDEZ, A. ; BRININSTOOL, G.; PERSSON, S.; FACETTE, M.; RAAB, T.; HAMANN, T.; VORWERK, S.; MILNE, J.; YOUNGS, H. Toward a systems approach to understanding plant cell walls. **Science**, 306, 2004
- SOUSA, F.D., MARTÍNEZ-ÁVILA, G.C.G, MOREIRA, A.C.O.M., AGUILAR, C.N., MOREIRA, R.A. Perspectivas biotecnológicas de hemicelulosas vegetales. **Acta Química Mexicana**, 2, N°4, 2011.
- SPIRIDON, I., POPA, V.I. **Hemicelluloses: major sources, properties and applications**. In. Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources. Elsevier, 289-204, 2008.
- SRIVASTAVA, M. e KAPOOR, V.P. Seed galactomannans: An overview. **Chemistry e Biodiversity**, 2, 295–317, 2005.
- STEFFE, J.F. **Rheological methods in food process engineering**. 2nd edition. Freeman press, 418p, 1996.
- TEIXEIRA-SÁ, D. M.A.; REICHER, FANY; BRAGA, R. C.; BELTRAMINI, L.M.; MOREIRA, R. A. Isolation of a lectin and a galactoxyloglucan from *Mucuna sloanei* seeds. **Phytochemistry**, 70, 1965-1972, 2009.
- TURCHETTO-ZOLET, A.C.; CRUZ, F.; VENDRAMIN, G.G.; SIMON, M. F.; SALGUEIRO, F.; MARGIS-PINHEIRO, M.; MARGIS, R. Large-scale phylogeography of the disjunct Neotropical tree species *Schizolobium parahyba* (Fabaceae-Caesalpinioideae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 65, 174-182, 2012.
- VALENGA, F.; PETRI, D.F.S.; LUCYSZYM, N.; JÓ, T.A.; SIERAKOWSKI, M.R. Galactomannan thin films as supports for the immobilization of Concanavalin A e/or dengue viruses. **International Journal of Biological Macromolecules**, 50, 88-94, 2012.

VARELA, P.; FISZMAN, S.M. Exploring consumers' knowledge e perceptions of hydrocolloids used as food additives e ingredientes. **Food Hydrocolloids**, 30, 477-484, 2013.

VENDRUSCOLO, C.W.; ADREAZZA, I.F.; GANTER, J.L.M.S; FERRERO,C.; BRESOLIN, T.M.B. Xanthan e galactomannan (from *M. scabrella*) matrix tablets for oral controlled delivery of theophylline. **International Journal of Pharmaceutics**. 296, 1-11, 2005.

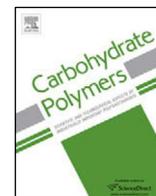
VLIET, T.; LYKLEMA,HANS. **Rheology**. In: Fundamentals of Interface e Colloid Science, Volume 4, 1-88, 2005.

WHITNEY, S.E.C; GOTHARD, M.G.E.; MITCHELL, J.T.; GIDGLEY, M.J. Roles of Cellulose and Xyloglucan in Determining the Mechanical Properties of Primary Plant Cell Walls. **Plant physiology**, 121, 657-663, 1999.

WU,Y.; CUI,W.; ESKIN,N.A.M.; GOFF,H.D. An investigation of four commercial galactomannans on their emulsion and rheological properties. **Food research international**, v.42, p.1141-1146, 2009.

XU, R.B., YANG, X, WANG, J, ZHAO, H.T., LU, W.H., CUI, J, CHENG, C.L., ZOU, P., HUANG, W.W., WANG, P., LI, W.J., HU, X.L. Chemical Composition e antioxidant activities of three polysaccharide fractions from Pine Cones. **International journal of molecular sciences**, 13, 14262-14227, 2012.

ANEXO A – Produção Científica



Short Communication

Macromolecular and functional properties of galactomannan from mesquite seed (*Prosopis glandulosa*)

G.C.G. Martínez-Ávila^a, A.Y. Hernández-Almanza^a, F.D. Sousa^b, R. Moreira^b,
G. Gutierrez-Sanchez^c, C.N. Aguilar^{a,*}

^a Department of Food Science and Technology. Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Blvd. V. Carranza y González Lobo S/N. 25280, Saltillo, Coahuila, Mexico

^b Department of Biochemistry and Molecular Biology. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil

^c Complex Carbohydrate Research Center. University of Georgia, Georgia, 315 Riverbend Road, Athens, GA 30602, USA

ARTICLE INFO

Article history:

Received 20 March 2012

Received in revised form

17 September 2013

Accepted 14 October 2013

Available online 22 October 2013

Keywords:

Prosopis glandulosa

Galactomannans

Functional properties

Viscosity average molecular mass

ABSTRACT

In this work, galactomannans from *Prosopis glandulosa* seeds were evaluated for their chemical composition and functional properties for potential industrial applications. In addition, those characteristics were compared with the commercial galactomannan guar gum. Mannose and galactose were the two most abundant carbohydrates present in *P. glandulosa* seeds, which represent 95.32% of total carbohydrates present in this material. Galactomannans from mesquite seed (GMS) yield was 16.53% and presented a M/G ratio of 2:1, which was higher than value observed for guar gum (1.6:1). The results obtained from functional properties showed that GMS has considerable potential to be considered as a food additive.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The galactomannans are polysaccharides found as principal storage compounds in several endospermic seeds. They have a backbone chain of manose moieties linked by β -1,4 glycosidic linkages, which is substituted with single units of galactose linked α -1,6 to mannose backbone chain (Buckeridge, 2010). Some species of mesquite (*Prosopis* spp.) have been suggested as a source of galactomannan. The species receiving most attention have been *P. juliflora*, *P. chilensis*, *P. pallida* and *P. flexuosa* which are widely distributed through South America. *P. glandulosa* is another mesquite variety that grows naturally in Northern Mexico. It is resistant to arid conditions and has good nitrogen-fixing capacity (Chaires-Martínez, Salazar-Montoya, & Ramos-Ramírez, 2008). In a traditional way, mesquite pods were used as nutritional complement and for alcoholic and non-alcoholic beverage production due to their high sugar contents (Prokopiuk, Cruz, Grados, Garro, & Chiralt, 2000). In addition, seeds can be used as a galactomannan source for possible industry applications. Due to their structural features and non-toxicity, galactomannans have been used for different applications such as in low-fat cheese production (Hernández-Tinoco,

Ramos-Ramírez, Falcony-Guajardo, & Salazar-Montoya, 2004), coatings and films formulation to extend the shelf-life of several tropical fruits (Cerqueira, Lima, Texeira, Moreira, & Vicente, 2009a). Usually, physicochemical and functional characteristics of galactomannans depend on mannose/galactose (M/G) ratio, which basically is determined by source and method employed for the extraction of this kind of polysaccharides (Cerqueira et al., 2009b). There are some commercial galactomannans such as guar gum (GG); locust bean gum (LBG), tara gum (TG) and fenugreek gum (FG) which are used in food and pharmaceutical industries. They have high water-binding capacity and generate viscous solutions acting as good emulsifying agents, effective thickeners and stabilizers (Wu, Cui, Eskin, & Goff, 2009).

This study had as objective to determine the chemical composition and functional properties of GMS and to compare those features with a commercial galactomannan. In addition, this study aims to promote the sustainable exploitation of mesquite for industrial applications.

2. Materials and methods

2.1. GMS extraction and purification

Mesquite seeds were obtained from Germoplasm Center in Saltillo, Coahuila, Mexico. The GMS extraction was carried

* Corresponding author. Tel.: +52 844 4161238; fax: +52 844 4159534.
E-mail address: crisobal.aguilar@uadec.edu.mx (C.N. Aguilar).

out following the methodology previously reported by Sciarini, Maldonado, Ribotta, Pérez, and León (2009) with slight modifications. Briefly, an aqueous suspension of mesquite seeds (1:25 w/v ratio) was heated at 100 °C for 1 h. After cooling at room temperature, the suspension was centrifuged at 10,000 rpm for 10 min. The supernatant was collected and the pellet was resuspended in boiling water. This process was repeated twice. The supernatants were precipitated with ethanol 96% (v/v) and pellet containing the polymer was lyophilized. GMS purification was carried out using the methodology previously reported by Chaires-Martínez et al. (2008).

2.2. Chemical analysis

Moisture, ash, lipid and protein contents were determined by following the official procedures of AOAC (1990). Glycosyl composition was determined using 500 mg of each galactomannan by combined gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) of the per-*O*-trimethylsilyl (TMS) derivatives of the monosaccharide methyl glycosides produced from the sample by acidic methanolysis according to the methodology previously described by Merkle and Poppe (1994). GC/MS analysis of the TMS methyl glycosides was performed on a 6890N GC interfaced to a 5975B MSD, using a Supelco EC-1 fused silica capillary column (30 m × 0.25 mm ID).

2.3. Functional properties

Water absorption capacity (WAC) of GMS and GG (form Sigma–Aldrich–*Cyamopsis tetragonoloba*) was evaluated according to the methodology previously reported by Sciarini et al. (2009). Briefly, 0.5 g of the sample was placed in a tube and 20 ml of distilled water were added. The suspension was left to rest until the polymer was completely wet. After that, the sample was centrifuged at 5000 rpm for 10 min the supernatant was decanted and the weight of the hydrated polymer was registered. WAC was calculated by weight difference. For emulsifying capacity (EC), 40 ml of solutions at different concentrations of each galactomannan (0.1, 0.25 and 0.5%) were mixed with 4 ml of corn oil (Maizola®) the mixture was homogenized in a homogenizer (WiseTis® HG-15D-USA) for 1 min and then, the sample was centrifuged at 2500 rpm for 10 min. The EC was calculated as:

$$\%EC = \frac{E_v}{t_{vs}} * 100 \quad (1)$$

where E_v is the emulsion volume and t_{vs} is the total volume of the solution. In addition, stability of the emulsion at high temperature was estimated. For such analysis, the emulsions were placed in a water bath at 80 °C for 20 min. Then, the samples were centrifuged at 2500 rpm for 10 min.

Finally, the emulsion stability (ES) was calculated as:

$$\%ES = \frac{f_{ev}}{i_{ev}} * 100 \quad (2)$$

where f_{ev} is the final emulsion volume and i_{ev} is the initial emulsion volume.

2.4. Molecular characterization

The determination of viscosity parameters was carried out with an Ostwald-Fenski capillary viscometer (series 200) at 26 ± 0.1 °C, using exactly 10 ml of solution. Solutions of GMS at 0.5% (w/w) were employed and a range of dilutions was made to get relative viscosity values 1.2 < η_r < 2.0 which were considered to maintain those solutions into good linearity of extrapolation to zero concentration.

Table 1
Chemical composition of galactomannans from mesquite seed (GMS) and guar gum.

	GMS	guar gum
Moisture (%)	10 ± 0.0b	12 ± 0.0a
Ashes (%)	1.8 ± 0.2a	1.2 ± 0.2b
Lipid (%)	0.45 ± 0.051b	1.47 ± 0.33a
Protein (%)	0.55 ± 0.06b	0.64 ± 0.53a
WAC (g g ⁻¹)	3.93 ± 0.41b	5.86 ± 0.81a

Different letters denote significant differences ($p < 0.05$).

Huggins–Kraemer plots of η_{sp}/C and $\ln \eta_r/C$ versus C were used to estimate intrinsic viscosity $[\eta]$, according to the equations below:

$$\eta_{sp} = [\eta] + \kappa_H [\eta]^2 C \quad (3)$$

$$\ln \left(\frac{\eta_r}{C} \right) = [\eta] + \kappa_K [\eta]^2 C \quad (4)$$

were η_{sp} = specific viscosity, η_r = relative viscosity; $[\eta]$ = intrinsic viscosity; C = polymer concentration; κ_H = Huggins's constant and κ_K = Kraemer's constant.

2.4.1. Viscosity average molecular mass (M_v)

M_v was obtained from the intrinsic viscosity using the Mark–Houwink equation given by Doublier and Launay (1981) for GG and modified by Gaisford, Harding, Mitchell, & Bradley (1986) taking into account the different values of M/G of the galactomannans studied.

$$[\eta] = 11.55 \times 10^{-6} [(1-r)M_v]^{0.98} \quad (5)$$

where r represents galactose/(mannose + galactose) ratio and $[\eta]$ is expressed in dL g⁻¹.

2.5. Statistical analysis:

Data analysis was carried out using SAS® 9.0. Mean comparison of treatments was made with a Tukey multiple range test ($p < 0.05$).

3. Results and discussion

Galactomannans extraction yield from *P. glandulosa* seeds was 16.53%. Ibañez and Ferrero (2003), and Chaires-Martínez et al. (2008) reported an extraction yield of 13% of galactomannans from *P. flexuosa* and *P. pallida* seeds, using NaOH as extractor agent. Strong acid and alkali solutions can affect the polymerization degree of polysaccharides; in this sense, the differences in yields can be attributed to use of NaOH which could affect the galactomannan yield extraction. In other study, Sciarini et al. (2009) recovered 11.9% of galactomannans from *Gleditsia triacanthos* using a similar method to the one used in this study. Our results indicate that the extraction and purification processes used in this work were more efficient to obtain galactomannans than those reported previously (Chaires-Martínez et al., 2008; Dakia, Blecker, Roberta, Watheleta, & Paquota, 2008; Figueiró, Góes, Moreira, & Sombra, 2004; Ibañez and Ferrero, 2003).

Table 1 shows the results obtained for proximal chemical analysis of GMS and GG. It can be observed that GMS had less content of protein and lipids than GG. Absence or low contents of lipids and proteins are desirable for polysaccharides such as galactomannans, since it is related with the purity of the sample.

Sugar composition analysis is shown in Table 2. The major amount of sugar present in the samples corresponds to galactose and mannose, which represent 95.32 and 93.94% of the total carbohydrates present in GMS and GG respectively. Smaller quantities of other sugars such as glucose, arabinose, rhamnose, xylose and

Table 2
Monosaccharide compositions of galactomannans from mesquite seed (GMS) and guar gum.

Sugar	GMS (g/100 g)	Guar gum (g/100 g)
Arabinose	0.40	1.58
Rhamnose	ND	0.19
Xylose	0.16	0.28
Galacturonic acid	0.36	ND
Mannose	63.08	58.06
Galactose	31.64	35.88
Glucose	0.62	0.86

Glycosyl composition was determined using 500 mg of each galactomannan. ND = not detected.

galacturonic acid were observed in the analyzed samples. According to this analysis, 2:1 was the M/G ratio for GMS and 1.6:1 for GG. Smaller values of M/G ratio were reported for *P. pallida* (Chaires-Martínez et al., 2008) and similar for *P. flexuosa* (Ibañez and Ferrero, 2003).

WAC values are shown in Table 1. The highest values of WAC were observed for GMS. It has been reported that water-galactomannans interaction could be easier due to decreasing chain-to-chain interaction degree of the polysaccharide, when drastic conditions were used in the procedures to extract these hydrocolloids, which could cause the structural unfolding and the increasing of the branched proportion of the biopolymer (Sciarini et al., 2009).

Emulsifying capacity has been associated at high surface active polymers. However, it has been reported that surface activity is not the only factor determining the emulsion properties. Interfacial activities, molecular weight and interaction with small amounts of protein must also be considered (Wu et al., 2009; Dickinson, 2009). Fig. 1 shows the emulsifying capacity observed for GMS and GG. It can be observed that emulsifying capacity was dependent of galactomannan concentration. The highest emulsifying capacity was recorded at 0.5% for both GMS and GG. Nonetheless, significant differences ($p < 0.5$) were observed between samples of galactomannans. GMS presented higher emulsifying capacity (92 ± 1.64 , 94 ± 0.72 and 100%) than GG at all tested concentration. Our findings are consistent with those reported by Sciarini et al. (2009) for galactomannans extracted from *G. triacanthos* seeds. They observed 100% of emulsifying capacity for samples extracted with hot water. On the other hand, in a relevant study of four commercial galactomannans, Wu et al. (2009) reported values of emulsifying capacity that ranged from 40 to 70%, which are lower than those

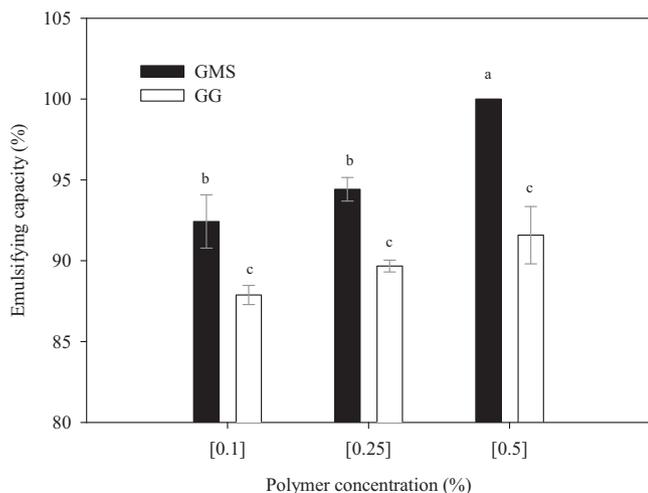


Fig. 1. Emulsifying capacity of galactomannans from mesquite seed (GMS) and guar gum (GG) as a function of polymer concentration.

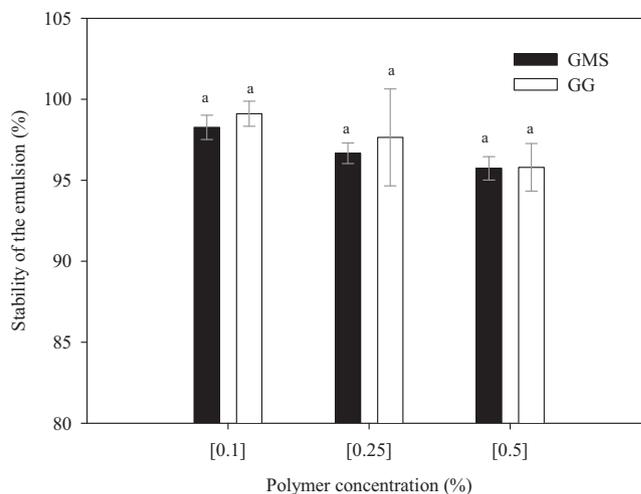


Fig. 2. Stability of the emulsion at 80 °C as a function of polymer concentration.

reported in this study. This gives a perspective for further possible uses of the GMS in food formulation as an emulsifying agent.

Usually, emulsions are thermodynamically unstable at high temperatures. In this study the stability of the emulsions at 80 °C was evaluated and is shown in Fig. 2. Both GMS and GG had a good capacity for keeping the emulsions stable. The stability of the emulsions ranged from 95 ± 0.63 to 97.4 ± 0.74 and 94.2 ± 1.47 to 100 ± 0.77 for GMS and GG, respectively. However, no significant differences were observed across these ranges (Fig. 2), which suggest that emulsion stability is independent of polymer concentration for the concentration reported in this work. Similar behavior was reported for galactomannans extracted from *G. triacanthos* seeds (Sciarini et al., 2009). According to Dickinson (2009), in some

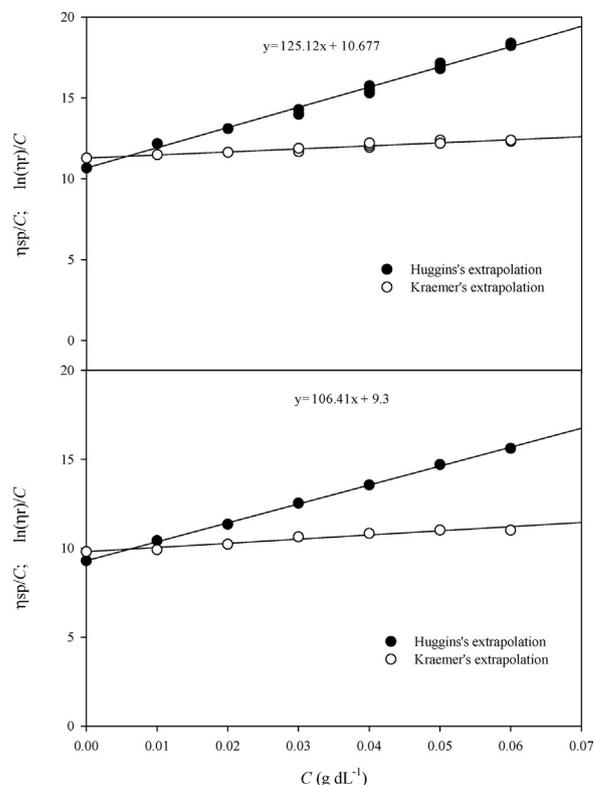


Fig. 3. The Mark-Houwink plot of the measured intrinsic viscosity data using Huggins and Kraemer's extrapolations, (a) GMS and (b) guar gum.

cases emulsifying stability does not depend of the emulsifier concentration, but hydrodynamic processes of droplet disruption have also influence on such property. That is, emulsion stability also depends on equipment and conditions employed for emulsion formation.

The values of intrinsic viscosity derived from relative viscosities of solutions with concentrations ranging from 0.01 to 0.07 g/dL by combined Huggins and Kramer extrapolation (Eqs. (3) and (4)) to infinite dilution ($C=0$) were $[\eta]=11.0$ dL/g for GMS and $[\eta]=9.6$ dL/g for GG, giving viscosity-average molecular weights (Eq. (5)) of ~ 1.5 and $\sim 1.4 \times 10^6$ Da, respectively (Fig. 3). Thus the extract from *P. glandulosa* has slightly higher solution viscosity and molecular weight than a typical sample of guar gum, which is used extensively as a commercial thickener.

4. Conclusions

The results obtained in chemical and functional properties and the macromolecular characterization of the hydrocolloid extracted from *P. glandulosa*, suggest that this polymer has great potential as a food additive especially as an emulsifier agent. However, further studies are required in order to understand the interactions between GMS and more complex systems.

Acknowledgements

The authors thank to Germoplasm Center of Saltillo for providing mesquite seed. Martínez-Ávila Guillermo thanks to the Mexican Council for Science and Technology (CONACYT) for the post-graduate scholarship. This work was supported in part by the DOE-funded Center for Plant and Microbial Complex Carbohydrates (DE-FG05-93ER20097).

References

- AOAC. (1990). *Official Methods for Analysis of the Association of Official Analytical Chemist* (15th ed., pp. 70). Arlington, VA: AOAC., 1011.

- Buckeridge, M. S. (2010). Seed cell wall storage polysaccharides: Models to understand cell wall biosynthesis and degradation. *Plant Physiology*, 154, 1017–1023.
- Cerqueira, M. A., Lima, A. M., Texeira, J. A., Moreira, R. A., & Vicente, A. A. (2009). Suitability of novel galactomannans as edible coatings for tropical fruits. *Journal of Food Engineering*, 94, 372–378.
- Cerqueira, M. A., Pinheiro, A. C., Souza, B. W. S., Lima, A. M. P., Teixeira, J. A., Moreira, R. A., et al. (2009). Extraction, purification and characterization of galactomannans from non-traditional sources. *Carbohydrate Polymers*, 75, 408–414.
- Chaires-Martínez, L., Salazar-Montoya, J. A., & Ramos-Ramírez, E. G. (2008). Physico-chemical and functional characterization of the galactomannan obtained from mesquite seeds (*Prosopis pallida*). *European Food Research and Technology*, 227, 1669–1676.
- Dakia, P. A., Blecker, C., Roberta, C., Watheleta, B., & Paquota, M. (2008). Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid or water dehulling pre-treatment. *Food Hydrocolloids*, 22, 807–818.
- Dickinson, E. (2009). Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 23, 1473–1482.
- Doublier, J. D., & Launay, B. (1981). Rheology of galactomannan solutions: Comparative study of guar gum and locust bean gum. *Journal Texture Studies*, 12, 151–172.
- Figueiró, S. D., Góes, J. C., Moreira, R. A., & Sombra, A. S. B. (2004). On the physico-chemical and dielectric properties of glutaraldehyde crosslinked galactomannan–collagen films. *Carbohydrate Polymers*, 56, 313–320.
- Gaisford, S. E., Harding, S. E., Mitchell, J. R., & Bradley, T. D. (1986). A comparison between the hot and cold water soluble fraction of two locust bean gum samples. *Carbohydrate Polymers*, 6, 423–442.
- Hernández-Tinoco, A., Ramos-Ramírez, E. G., Falcony-Guajardo, C., & Salazar-Montoya, J. A. (2004). Rheometry and scanning electron microscopy study of casein curds added with mesquite seed gum and soy proteins. *Latin American Applied Research*, 34, 195–202.
- Ibañez, M. C., & Ferrero, C. (2003). Extraction and characterization of the hydrocolloid from *Prosopis flexuosa* DC seeds. *Food Research International*, 36, 455–460.
- Merkle, R. K., & Poppe, I. (1994). Carbohydrate composition analysis of glycoconjugates by gas–liquid chromatography/mass spectrometry. *Methods in Enzymology*, 230, 1–15.
- Prokopiuk, D., Cruz, G., Grados, N., Garro, O., & Chiralt, A. (2000). Estudio comparativo entre frutos de *Prosopis alba* y *Prosopis pallida*. *Multequina Latin American Journal of Natural Resources*, 9, 35–45.
- Sciarini, L. S., Maldonado, F., Ribotta, P. D., Pérez, G. T., & León, A. E. (2009). Chemical composition and functional properties of *Gleditsia triacanthos* gum. *Food Hydrocolloids*, 23, 306–313.
- Wu, Y., Cui, W., Eskin, N. A. M., & Goff, H. D. (2009). An investigation of four commercial galactomannans on their emulsion and rheological properties. *Food Research International*, 42, 1141–1146.