



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

LEONIRA MORAIS DA SILVA

GALACTOMANANA DE SEMENTES DE *Cassia fistula*:
EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E MODIFICAÇÃO. UM POTÊNCIAL
SUBSTITUÍNTE DA GALACTOMANANA DA *Locusta bean*

Fortaleza

2012

LEONIRA MORAIS DA SILVA

**GALACTOMANANA DE SEMENTES DE *Cassia fistula*:
EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E MODIFICAÇÃO. UM POTÊNCIAL
SUBSTITUÍANTE DA GALACTOMANANA DA *Locusta bean***

Dissertação submetida à coordenação do programa de Pós-graduação em Química, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof^a Jeanny da Silva Maciel
Co-orientadora: Prof^a Pablyana Leila R. da Cunha

Fortaleza

2012

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

-
- S581g Silva, Leonira Morais da.
Galactomanana de sementes de Cassia fistula: extração, caracterização e modificação. um potencial substituínte da galactomanana da Locusta bean / Leonira Morais da Silva. – 2012.
91 f. : il. color.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2012.
Área de Concentração: Química Inorgânica.
Orientação: Profa. Dra. Jeanny da Silva Maciel.
Coorientação: Profa. Dra. Pablyana Leila R. da Cunha.
1. Cassia fistula. 2. Polissacarídeos. 3. Locusta. I. Título.

Esta Dissertação foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química, área de concentração Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.

Leonira Morais da Silva

Leonira Morais da Silva

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 14/05/2012

EXAMINADORES:

Jeanny da Silva Maciel

Profa. Dra. Jeanny da Silva Maciel
Universidade Federal do Ceará – UFC

Francisco Audísio Dias Filho:

Prof. Dr. Francisco Audísio Dias Filho,
Universidade Federal do Ceará – UFC

Daniele M^ª Alves Teixeira Sá

Profa. Dra. Daniele Maria Alves Teixeira Sá
Instituto Federal de Ciências, Tecnologia e Educação do Ceará - IFCE

“Aprendi com a primavera a deixar-me cortar e voltar sempre inteira”.

Cecília Meireles

AGRADECIMENTOS

A Deus por me guiar em seus caminhos, às vezes não compreendidos, porém sempre certos. Por ter permitido meu crescimento e ter me dado à honra de conviver com pessoas compreensivas e carinhosas, as quais sou muito grata.

À minha família. Em especial a minha avó Bia pelas suas orações em minha intenção.

À minha filha Larissa motivo pelo qual busco sempre o melhor para poder oferecê-la de maneira incondicional.

Ao meu esposo Marciano, por toda paciência e dedicação.

À minha mãe, pelo amor e por todo esforço feito na criação de seus filhos.

À minha segunda mãe e madrinha Corrinha por todo amor e carinho que me foi dado.

Aos meus irmãos Leo, Nilda e Jéssyka, por sempre estarem presentes em minha vida.

À minha orientadora Jeanny pelo acolhimento, carinho e orientação tão preciosa.

À Prof^aDra^aPablyana Cunha, por ter aceitado colaborar com a construção desse trabalho e pelas palavras de incentivo.

À Prof^aDra^a Regina Célia, pelo carinho e ajuda durante toda minha formação acadêmica.

À Prof^aDra^a Judith Feitosa pelo acolhimento no LabPol.

Aos meus queridos companheiros de laboratório, Natália, Vinicius, Maslândia, Alyne, Fabrício, Guilherme e Clara Myrlla por terem me ensinado o bê-á-bá das

práticas do laboratório com carinho e cuidado. Obrigada por estarem sempre dispostas a ajudar. E também pelos divertidos momentos de descontração.

À técnica Tereza, pelas análises termogravimétricas e pelas caronas ao RU.

À técnica Elis, pelas análises de infravermelho.

Ao coordenador do Programa de Pós-Graduação, Prof. Dr. Marcos Carlos de Mattos, pela prontidão e atenção.

Aos secretários José Orlando e Célia Regina, pela disposição e prontidão em todos os momentos.

Ao CENAUREN pelas análises de ressonância magnética nuclear.

Ao Cnpq pelo apoio financeiro.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

A procura por materiais biodegradáveis, extraídos de fontes renováveis que apresentem alto desempenho e um menor custo é cada vez mais crescente. A galactomanana extraída das sementes de *Cassia fistula* (GCF) foi caracterizada através das análises elementar; teor de proteína; teor de ácido urônico; cromatografia de permeação em gel; viscosidade intrínseca; estudos reológicos; turbidez; análise termogravimétrica; espectroscópica na região do infravermelho e RMN de ^1H e ^{13}C . O rendimento da extração foi de 26,5 % em massa. Os valores de teor de proteína, umidade e ácido urônico obtidos foram de 2,5%, 11,9% e 3,6%, respectivamente. O valor da massa molar média (M_w) ($2,2 \times 10^6$ g/mol) e viscosidade intrínseca (9,73 dL/g) encontrado para GCF foram próximos aos valores encontrados para galactomanana de locusta bean. As análises reológicas mostraram que as soluções de GCF apresentam comportamento pseudoplástico em concentrações acima de 1% m/v. Na análise termogravimétrica a amostra de GCF apresentou três eventos, o 1° referente à perda de água; o 2° evento referente à decomposição da matéria e o 3° evento referente à perda da matéria orgânica mais resistente a degradação. O espectro de infravermelho mostrou bandas características de polissacarídeo e os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C mostraram picos característicos de galactomanana. A razão manose/galactose da GCF determinado pelo espectro de RMN de ^1H foi de 3,2 razão próxima a galactomanana de locusta bean (GL). A galactomanana da locusta bean é a segunda galactomanana mais comercializada no mundo, por essa razão foi feito um comparativo entre a GCF e a GL. A GCF foi modificada através da reação com periodato de sódio em várias concentrações para obter o polissacarídeo modificado com graus de oxidação de 10%; 20%; 50%; 65% e 80% [(razão molar de periodato/unidades glicosídicas)x100]. Os valores obtidos do rendimento das reações foram em torno de 70% em massa. Os materiais oxidados foram caracterizados através das análises reológicas, por GPC e RMN ^1H e ^{13}C . Observa-se uma diminuição da massa molar (M_w) de $2,3 \times 10^6$ g/mol da GCF para

$6,4 \times 10^4$ g/mol da galactomanana de *Cassia fistula* oxidada a 10% (GCFO10%). A medida que aumenta o grau de oxidação ocorre uma redução da massa molar, confirmando que houve uma degradação da cadeia polimérica pela reação de oxidação com o periodato de sódio. A análise reológica de soluções 1% (m/v) de GCF não modificada e das galactomananas de *Cassia fistula* oxidadas (GCFOX's) mostrou uma redução da viscosidade aparente com o aumento do grau de oxidação: de 60,0 mPa.s da GCF para 14 e 1,7 mPa.s da GCFO10% e GCFO80%, respectivamente. Os espectros de RMN ^1H mostraram que para as amostras com o grau de oxidação até 20% aparecem poucos novos sinais na região de anomérico, quando comparados com as amostras com grau de oxidação acima de 50%. A razão Man/Gal aumenta de 3,2 da amostra original para 3,3 e 4,6 nas amostras de 10 e 20%, respectivamente. Esse aumento indica que a oxidação ocorre preferencialmente nas unidades de galactose.

Palavras-chave: Galactomanana; Oxidação; *Cassia fistula*

ABSTRACT

The demand for biodegradable materials extracted from renewable sources that have high performance and lower cost is increasingly growing. The galactomannan extracted from *Cassia fistula* seeds was characterized by several methodologies: Elemental Analysis; Protein content; Uronic acid content; Gel Permeation Chromatography (GPC); Intrinsic Viscosity; Rheological Studies; Turbidity; Thermogravimetry; Infrared and ^1H , ^{13}C NMR. The yield of the extraction was 26.5 % m/m. The values obtained for protein content, humidity and uronic acid content were: 2.5%, 11.9% and 3.6% respectively. The values of molar weight ($M_w = 2.2 \times 10^6 \text{ g/mol}$) and intrinsic viscosity (9.73 dL/g) found for GCF were close to those from locusta bean galactomannan. For galactomannan of locusta bean is the second galactomannan commercializes most in the world, for this reason a comparative between GCF was done and GLB. The rheological analysis showed that GCF solutions exhibited pseudoplastic behavior at concentrations higher than 1%. Thermogravimetry analysis for GCF showed three events: 1° related to water loss; 2° related to matter decomposition and the 3° related to loss of organic matter which is more resistant to degradation. The infrared spectrum showed characteristic bands for polysaccharide and the ^1H and ^{13}C NMR spectra showed galactomannan characteristic peaks. The ratio mannose/galactose of GCF determined by ^1H NMR spectrum analysis was 3.2, value close to that one from locusta bean galactomannan. The GCF was modified by reacting with sodium periodate at several concentrations to obtain the modified polysaccharide with oxidation degrees of: 10%; 20%; 50%; 65% and 80% [(periodate molar rate/glycosidic unities) x100]. The yield values obtained for the reactions were around 70% w/w. The oxidated materials were characterized by Rheology; GPC and ^1H , ^{13}C NMR. It was observed a decrease of molar mass (M_w) of $2.3 \times 10^6 \text{ g/mol}$ (GCF) to $6.4 \times 10^4 \text{ g/mol}$ (GCFO10%). As the degree of oxidation increases there is a reduction of the molecular weight, confirming that there was a degradation of the polymeric chain by the oxidation reaction with sodium periodate.

The rheological analysis for 1% (w/v) non-modified GCF solutions and of GCFOX's showed a reduction of apparent viscosity with oxidation degree increase (at 596 s⁻¹): of 60.0 mPa.s (GCF) to 14 and 1.7 mPa.s (GCFO10) and 80%, respectively. The ¹H NMR spectra showed for samples until 20% a few signals on anomeric range, when compared with samples with oxidation degree higher than 50 %. The ratio Man/Gal increased from 3.2 for the original sample to 3.3 and 4.6 for those samples of 10 and 20%, respectively. That increase means that the oxidation takes place preferably at the galactose units.

Key-words: Galactomannan; oxidation; *Cassia fistula*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática de uma galactomanana de razão manose/galactose (Man/Gal) 3:1	21
Figura 2 - Arranjos da galactomanana	22
Figura 3 - Árvore (A); folhagem (B); flor (C); sementes e vargem (D) da planta locusta bean.	25
Figura 4 - Árvore (a); flor (b); caule (c); fruto (d) e semente (e) da planta <i>Cassia fistula</i>	27
Figura 5 - Reação de oxidação de uma unidade de manose com periodato.	29
Figura 6 - Reação de oxidação de uma unidade de galactose com periodato.	30
Figura 7 - Esquema resumido do método de extração da GCF.	35
Figura 8– Absorbância em função da concentração de ácido galactourônico – Curva de calibração usando padrão de ácido galacturônico com absorbância medida em 520 nm.....	42
Figura 9 - Perfil de eluição por cromatografia de permeação em gel (GPC) da GCF.	45
Figura 10 - Perfil de eluição por cromatografia de permeação em gel (GPC) das amostras da GCF e GL.....	46
Figura 11 - Gráfico da viscosidade reduzida versus concentração para GCF.	49
Figura 12 - Variação da viscosidade com a taxa de cisalhamento para GCF a 36 °C.....	51
Figura 13 - Variação da viscosidade com a taxa de cisalhamento para GCF e GL 1% (m/v) a 25°C.....	52
Figura 14 - Curva termogravimétrica e DTG da amostra de GCF.	54

Figura 15 - Curvas termogravimétricas (A) e DTG (B) das amostras de GCF e GL respectivamente.....	55
Figura 16 - Curvas termogravimétricas da GCF e GCFP (<i>galactomanana de Cassia fistula</i> purificada).	58
Figura 17 - Espectro na região do infravermelho da GCF em pastilha de KBr.....	59
Figura 18 - Espectros de RMN ¹ H em D ₂ O a 70°C para (A) GCF e (B) GL.....	61
Figura 19 - Espectro de RMN ¹³ C em D ₂ O a 70 °C da GCF.....	62
Figura 20 - Espectro de RMN ¹³ C em D ₂ O a 70 °C da região C-4 da manose da GCF.....	63
Figura 21 - Espectro de RMN ¹³ C DEPT 135° em D ₂ O a 70 °C da GCF.	63
Figura 22 - Espectro HETERONUCLEAR ¹ H, ¹³ C-HSQC em D ₂ O a 70 °C da GCF...	64
Figura 23 - Espectro HOMONUCLEAR ¹ H, ¹ H-COSY em D ₂ O a 70 °C da GCF.	66
Figura 24 - Perfil de eluição por cromatografia de permeação em gel (GPC) da amostra de GCF e seus derivados oxidados (A) e grau de oxidação versus massa molar de pico (B).....	70
Figura 25 - Possíveis reações em unidades glicosídicas ligadas (1→6): (A) reação em C-3 e C-4;(B) Reação em C-3 e C-2; (C) Dupla oxidação. [Baseado em MAIA <i>et al.</i> 2011].	72
Figura 26 - Espectro na região do infravermelho da GCF e seus derivados oxidados (GCFOX10%; GCFOX20%; GCF50% e GCFOX80%) em pastilha de KBr.	73
Figura 27 - Análise reológica da GCF e seus derivados oxidados com concentração de 1% a 25°C.	74

Figura 28 - Curvas termogravimétricas (A) e DTG (B) das amostras de GCF e seus derivados oxidados obtidos em atmosfera de ar sintético de 25 a 700°C.	76
Figura 29- Espectros de RMN ¹ H da (A) GCF e seus derivados oxidados (B) 10% e (C) 20%.	78
Figura 30- Espectros de RMN ¹ H da (A) GCF e seus derivados oxidados (B) 50% e (C) 80%.	78
Figura 31- Formação do hemiacetalintra-residual.....	79
Figura 32- Espectros de RMN ¹³ C da GCF e seus derivados oxidados: (A) GCF; (B) 50% e (C).....	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Galactomanana do gênero <i>Cassia</i> – espécie e razão manose/galactose.	22
Tabela 2 - Taxonomia da planta <i>Locusta bean</i> .	24
Tabela 3- Taxonomia da planta <i>Cassia fistula</i> .	26
Tabela 4- Turbidez das amostras de GCF.	43
Tabela 5- Massas molares da GCF; GL e outras galactomananas do gênero <i>Cassia</i> .	47
Tabela 6- Massa molar, viscosidade intrínseca e razão Man/Gal de galactomanana do gênero <i>Cassia</i> .	50
Tabela 7-Viscosidade da GCF, taxa de cisalhamento de 2 s^{-1} a $36 \text{ }^\circ\text{C}$.	52
Tabela 8- Parâmetros obtidos usando o modelo de CROSS, para as soluções de galactomanana de <i>Cassia fistula</i> e galactomanana de locusta a 1% em água a 25°C .	53
Tabela 9- Eventos térmicos obtidos a partir das curvas de TG e DTG para GCF e GL.	57
Tabela 10- Correlações entre carbono e hidrogênio a uma ligação ($^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HSQC).	65
Tabela 11- Correlações entre hidrogênios adjacentes obtidos do espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY.	67
Tabela 12- Atribuições dos sinais de RMN ^{13}C e ^1H da galactomanana de <i>Cassia fistula</i> .	68
Tabela 13- Reação de oxidação com NaIO_4 a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.	69
Tabela 14- Distribuição da massa molar da GCF e seus derivados oxidados.	71

Tabela 15- Viscosidade aparente para a GCF e seus derivados oxidados em taxa de cisalhamento 596 s^{-1}	75
Tabela 16- Análise térmica da GCFP (sem modificação purificada em diálise) e seus derivados oxidados.	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Man -	Unidade monossacarídica de β -D-manopiranosídicas
Gal -	Unidade monossacarídica de α -D-galactopiranosídicas
GCF	Galactomanana de <i>Cassia fistula</i>
GCFP	Galactomanana de <i>Cassia fistula</i> purificada
GL	Galactomanana da locusta
Man/Gal	Razão manose/ galactose
FTIR	Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier.
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
GPC	Cromatografia de Permeação em gel
dL/g	Decilitro por grama
Ppm	Parte por milhão
Rpm	Rotação por minuto
DTG	Derivada da análise termogravimétrica
NTU	Unidade Nefelométrica de turbidez
D₂O	Água deuterada
¹H, ¹³C-HSQC	Correlação Heteronuclear de Quantum-Simples
¹H, ¹H COSY	Correlação Espectroscópica Homonuclear
DEPT 135	Intensificação da Distorção por Transferência de Polarização

MPK	Massa Molar de Pico
M_w	Massa Molar ponderal médio
M_n	Massa Molar numérica média
[η]	Viscosidade Intrínseca
η_∞	Viscosidade a taxa de cisalhamento infinita.
η₀	Viscosidade a taxa de cisalhamento zero
K	Parâmetro de consistência
K_H	Constante Huggins
N	Índice de pseudoplasticidade
δ	Deslocamento químico

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	20
1.1- Polissacarídeos	20
1.2 - Galactomanana	20
1.3 - Galactomanana da locusta	24
1.4 - Galactomanana de <i>Cassia fistula</i>	26
1.5 - Modificação química da galactomanana com periodato de sódio (NaIO ₄)	28
2 - OBJETIVO GERAL	32
2.1- Objetivos específicos	33
3- MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.1 - Extração da galactomanana da semente de <i>Cassia fistula</i>	34
3.2 - Obtenção da galactomanana de <i>Cassia fistula</i> purificada	35
3.3 - Caracterização da galactomanana de <i>Cassia fistula</i> e seus derivados	36
3.3.1 - Teor de umidade	36
3.3.2 - Análise elementar – teor de proteína	36
3.3.3 - Determinação do teor de ácido urônico por espectrofotometria	36
3.3.4 - Turbidez	37
3.3.5 - Estimativa da distribuição da massa molar por cromatografia de permeação em gel (GPC)	37
3.3.6 - Determinação da viscosidade intrínseca	38
3.3.7 - Reologia de fluxo	38
3.3.8 - Análise termogravimétrica	38

3.3.9- Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	39
3.3.10 - Ressonância magnética nuclear	39
3.4 - Modificação química por oxidação	39
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1 - Rendimento	41
4.2 - Caracterização da galactomanana de <i>Cassia fistula</i>	41
4.2.1 - Teor de umidade; proteína e ácido urônico	41
4.2.2 – Turbidez	43
4.2.3 - Estimativa da distribuição da massa molar por GPC	44
4.2.4 - Determinação da massa molar viscosimétrica e viscosidade intrínseca.	47
4.2.5 - Reologia de fluxo	50
4.2.6 - Análise termogravimétrica	54
4.2.7 - Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	58
4.2.8 - Ressonância magnética nuclear	60
4.3 - Modificação química	69
4.3.1 - Determinação do grau de oxidação	69
4.3.2 - Distribuição da massa molar	70
4.3.3 - Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	73
4.3.4 - Análises reológicas	74
4.3.5 - Análise térmica da GCF oxidada	75
4.3.6 - Ressonância magnética nuclear	77
5 - CONCLUSÃO	81
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82

1- INTRODUÇÃO

1.1- Polissacarídeos

Polissacarídeos são macromoléculas naturais encontradas em todos os organismos vivos, constituindo um grupo de compostos mais abundantes e importantes da biosfera como, por exemplo, a celulose e o amido, nas plantas, e o glicogênio nos animais (LEHNINGER, 2006).

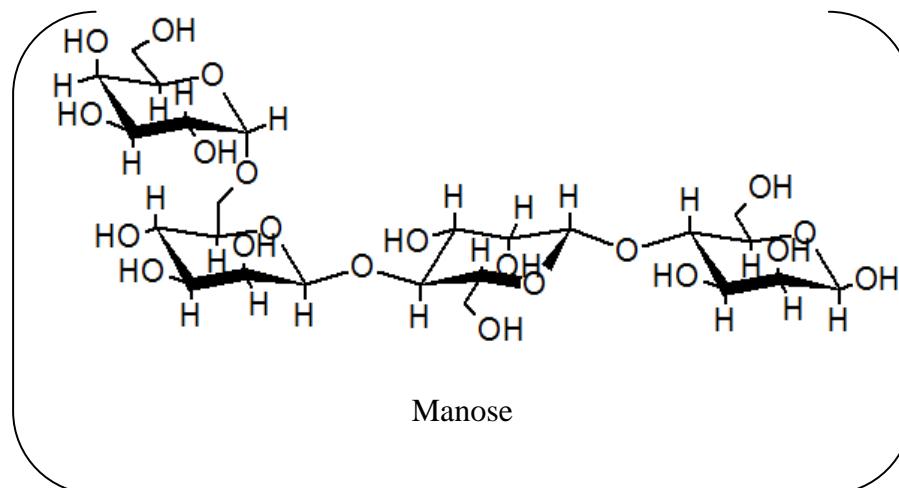
A sua estrutura primária varia em composição, sequência e massa molar. Essas variações podem dar origem à quase infinitas formas de estruturas químicas e de conformação, as quais refletem em diferentes propriedades, que direcionam muitas de suas aplicações.

Devido a diversas estruturas, os polissacarídeos cobrem uma vasta área de aplicações (RINAUDO, 2001). As principais características de interesse industrial em relação aos polissacarídeos são, em alguns casos, as formações de géis em meio aquoso, mesmo em baixas concentrações, a compatibilidade com uma grande variedade de sais em ampla faixa de pH e temperatura, a estabilidade em elevadas concentrações iônicas, alta solubilidade em água (hidrocolóides) e, também, a possibilidade de ação sinérgica com outros polissacarídeos, que ocasiona uma melhora nas propriedades viscoelásticas ou na formação de géis em sistemas aquosos (DEA e MORRISON, 1975, CLOSS *et al.*, 1999, LUCYSZYN *et al.*, 2005, 2006).

1.2 - Galactomanana

Galactomananas são polissacarídeos de reserva encontrados em algumas sementes e utilizadas para o desenvolvimento do embrião durante a germinação. Estruturalmente as galactomananas são heteropolissacarídeos ramificados consistindo de uma cadeia de unidades β -D-manopiranosídicas, unidas entre si por ligações (1 \rightarrow 4), que são substituídas por unidades simples α -D-galactopiranosídicas, ligadas à cadeia principal por ligações (1 \rightarrow 6) (DEA e MORRISON, 1975) (FIGURA 1).

Figura 1 - Representação esquemática de uma galactomanana de razão manose/galactose (Man/Gal) 3:1



ADAPTADA DE: SIERAKOWSKI *et al.*, 2000.

A principal fonte de galactomananas nos vegetais é o endosperma de sementes, a maioria proveniente da família Leguminosae, em alguns casos sendo também encontradas nas sementes das famílias Annonaceae, Compositae, Convolvulaceae, Ebenaceae, Lagoniaceae, Malvaceae, Palmae, Solanaceae, Tiliaceae, Umbelliferae. Existem ainda algumas fontes microbianas em particular as leveduras e os fungos (DEA e MORRISON, 1975).

De acordo com a origem e espécie a partir da qual a galactomanana foi extraída, podem ser observadas diferenças nas razões manose/galactose (Man/Gal) e massa molar (ROBINSON *et al.*, 1982). A razão de Man/Gal tem uma grande variação entre as diferentes espécies (WHISTLER, 1973). Dependendo do método de extração e da fonte a razão Man/Gal pode variar em uma mesma espécie. Na Tabela 1 podemos observar algumas leguminosas do gênero *Cassia* e suas razões Man/Gal.

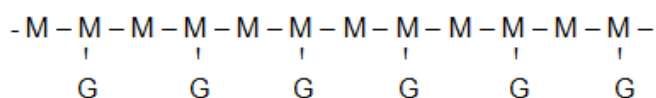
Tabela 1- Galactomanana do gênero *Cassia*– espécie e razão manose/galactose.

Espécie	Man/Gal	Referência
<i>Cassia grandis</i>	1.7	<i>Buckeridge et al. 1978</i>
<i>Cassia simea</i>	2.5	<i>Kapoor et al. 1996</i>
<i>Cassia angustifólia</i>	2.9	<i>Manjoosha et al. 2001</i>
<i>Cassia javanica</i>	3.27	<i>Kapoor et al. 1999</i>
<i>Cassia nodosa</i>	3.5	<i>Kapoor et al. 1994</i>
<i>Cassia fastuosa</i>	4.0	<i>Tavares 1994</i>

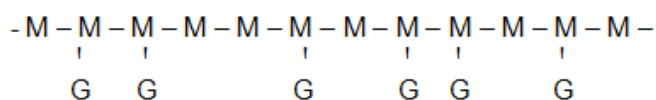
Dea e Morrison (1975) sugeriram que as ramificações das galactomananas obtidas de sementes podem apresentar três diferentes arranjos de acordo com a Figura 2.

Figura 2 - Arranjos da galactomanana

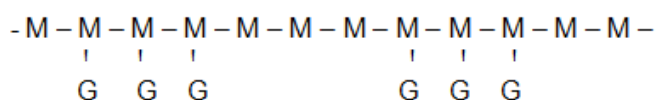
1) Arranjo regular



2) Arranjo irregular



3) Arranjo em blocos



A razão Man/Gal e a forma como os substituintes estão distribuídos ao longo da cadeia principal são fatores extremamente importantes para estabelecer uma relação entre a estrutura do polímero e suas propriedades em solução, principalmente quanto à sua capacidade de solubilização e interação molecular (ANDRADE *et al.*, 1999).

A solubilidade do polissacarídeo em água aumenta a medida que as unidades de galactose aumentam, o que pode ser explicado pelo aumento de grupos hidrofílicos, no entanto continua sendo relativamente baixa devido a formação de ligação de hidrogênio intermolecular, dificultando assim a solubilidade. Assim, a eficiência de extração aquosa depende da composição das galactomananas. O rendimento da extração pode variar com o método aplicado e com o tempo envolvido no processo (SIERAKOWSKI *et al.*, 2000).

As galactomananas vêm atraindo atenção tanto do meio acadêmico como no industrial devido suas propriedades de formação de soluções viscosas ou até mesmo gel em altas concentrações. Essas propriedades podem ser realçadas por interações com outros monômeros e polímeros, principalmente por sua capacidade de formar interações sinérgicas devido à presença de numerosos grupos OH (SRIVASTAVA e KAPOOR, 2005).

As diferentes propriedades químicas destas gomas fazem delas materiais versáteis usados para muitas aplicações, especialmente nos ramos petroquímico, farmacêutico, cosméticos, papel, tecidos, minério, explosivos (SRIVASTAVA e KAPOOR, 2005).

As principais galactomananas comerciais são a goma guar extraída das sementes de *Cyamopsis tetragonoloba* que possui razão Man/Gal igual a 2; goma tara extraída das sementes *Caesalpinia spinosa* a qual possui razão Man/Gal de 2,7 e a locusta ou alfarroba extraída das sementes de *Ceratonia siliqua* com razão Man/Gal de 3,7.

Galactomananas de sementes de várias espécies brasileiras vem sendo estudadas e há propostas para diversas aplicações entre elas destacam-se: *Adenantha pavonina* utilizada na preparação de filmes e na liberação controlada de fármacos (ABREU *et al.*, 2006; FIGUEIRO *et al.*, 2004); *Caesalpinia pulcherrina*

utilizada no meio de cultura de fungo e preparação de filmes para revestimento de frutos (MESQUITA *et al.*, 2002; SIERAKOWSKI *et al.*, 2002) *Cassia fastuosa* utilizada no preparo de matriz cromatográfica para o isolamento de pectina (LUCYSZYN *et al.*, 2006); *Mimosa scabrella* utilizada na formulação de xampu, pudim liberação de fármaco e antiviral: febre amarela (ONO *et al.*, 2003; SUGUI, 1994). Embora muitas galactomananas tenham sido exploradas nos últimos tempos somente as galactomananas da Goma Guar e locusta bean são efetivamente comercializadas, sendo a locusta uma das mais conhecidas e uma das mais antigas gomas extraídas de sementes.

1.3 - Galactomanana da locusta

A galactomanana extraída das sementes da *Cerotonia siliqua* pertencentes asub-família *Caesalpinaceae* vulgarmente conhecida como goma locusta; caroba ou alfarroba está entre as gomas comerciais mais utilizadas no mundo. Sua taxonomia é apresenta na Tabela 2.

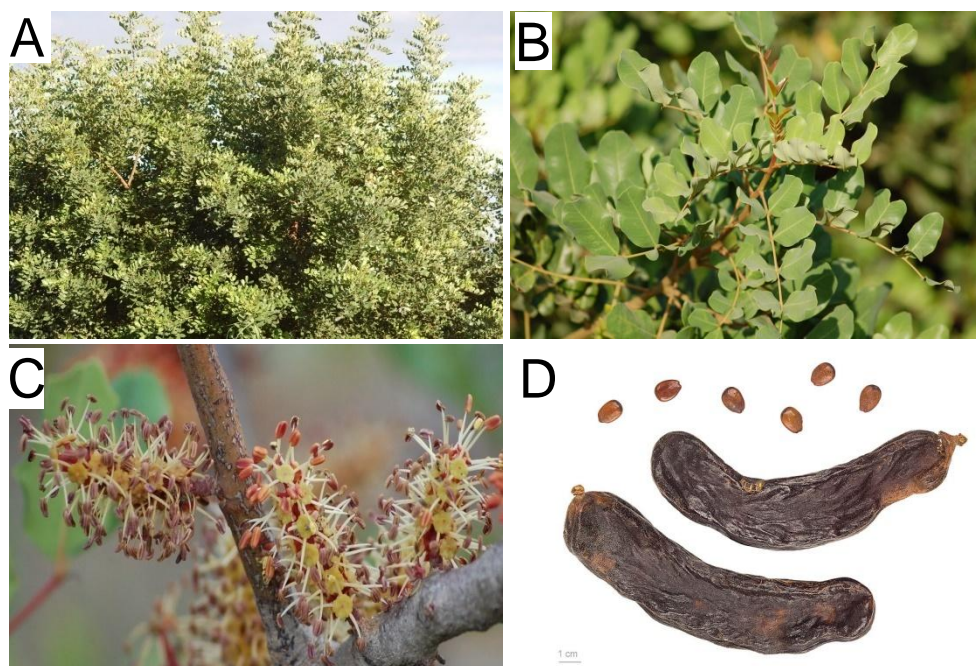
Tabela 2 - Taxonomia da planta Locusta bean.

Taxonomia	
Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Fabales
Família	Fabaceae
Subfamília	Caesalpinaceae
Género	Ceratonia
Espécie	<i>Ceratonia siliqua</i>

FONTE: FRANCISCO CLAMONTE 2012.

A espécie vegetal é originária do litoral mediterrâneo. A árvore pode alcançar 9 m de altura, no entanto, precisa em média 15 anos para frutificar. Sua polpa açucarada é introduzida na dieta de animais de fazenda, além de serem consumidas pelas crianças como lanche ou por pessoas em tempos de fome. No entanto, atualmente o principal interesse econômico são suas sementes utilizadas para extração de gomas. É possível observar algumas imagens da planta locusta bean na Figura 3.

Figura 3 - Árvore (A); folhagem (B); flor (C); sementes e vargem (D) da planta locusta bean.



FONTE: FRANCISCO CLAMONTE 2012.

Essa espécie foi a única fonte de galactomanana até a segunda guerra mundial (AZERO E ANDRADE, 2002).

A galactomanana extraída das sementes *Cerotonia siliqua* (locusta bean) apresentam razão Man/Gal em média de 3,2 – 4,0, possuem altas massas molares (ordem de 10^6). Apresentam viscosidade intrínseca em torno $[\eta]=14.2-15.1$ dl/g) (DAAS *et al.*, 2000).

O Brasil importou no período de 1996 a 2012, mais de 8 mil toneladas de sementes da goma locusta com o valor em média de 3 dólares por quilo, nesse mesmo período não houve exportação desse material mostrando uma baixa exploração desse mercado no país (ALICE WEB, 2012). Atualmente, as tendências internacionais vem exigindo a introdução de fontes alternativas de gomas de sementes, devido a grande utilização desse material. (JOSHI E KAPOOR, 2003). A investigação de novas fontes de galactomananas constitui um assunto de grande importância, tanto do ponto de vista acadêmico como industrial. Países tropicais, como o Brasil, apresentam grande potencial como produtores de recursos renováveis que ainda não foram suficientemente explorados.

1.4 - Galactomanana de *Cassia fistula*

Galactomananas podem ser extraídas das sementes de *Cassia fistula* uma leguminosa conhecida vulgarmente como chuva-de-ouro, cana-imperial ou canafístula verdadeira. Sua taxonomia é apresentada na Tabela 3.

Tabela 3- Taxonomia da planta *Cassia fistula*.

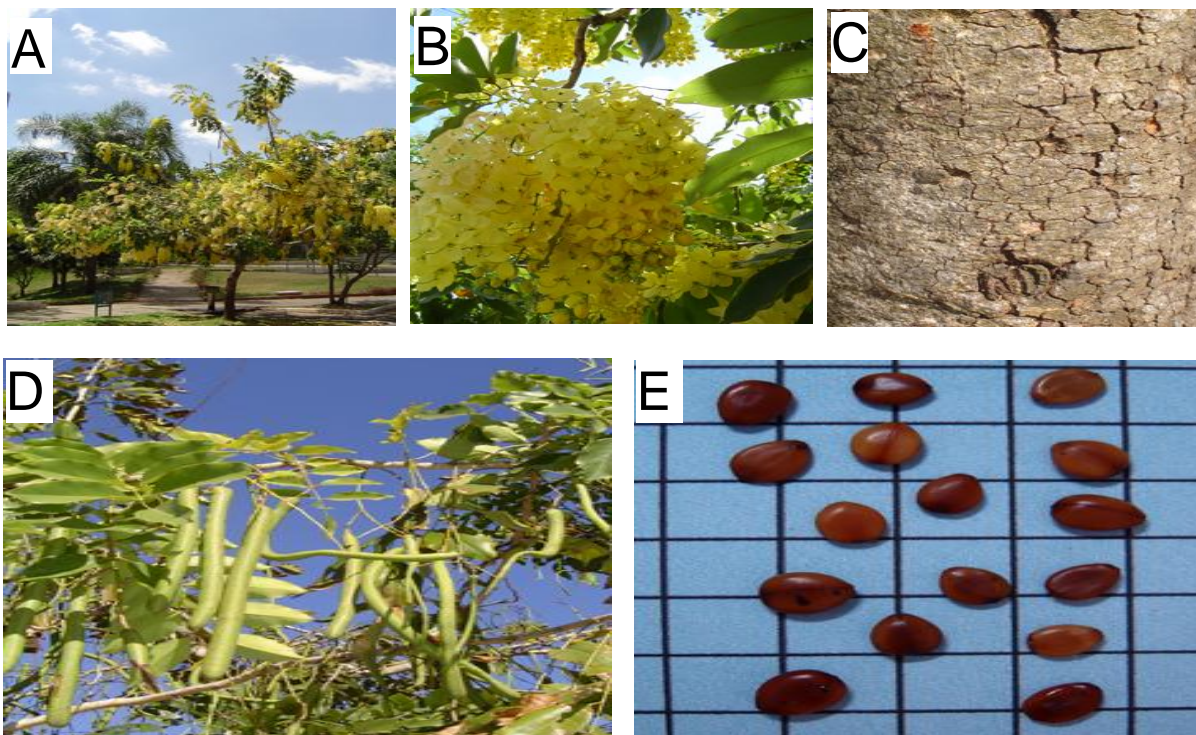
Taxonomia	
Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Fabales
Família	Fabaceae
Subfamília	Caesalpinieceae
Gênero	Cassia
Espécie	<i>Cassia fistula</i>

FONTE: CATALOGUE OF LIFE, 2011; BOSCH, 2007

Espécie exótica, originária da Ásia, e que foi introduzida no Brasil há muitos anos, encontra-se disseminada nos estados litorâneos, sendo amplamente utilizada como árvore ornamental em ruas, praças e jardins, podendo atingir até 15 metros de altura e o diâmetro de sua copa de 4 a 6 metros (CORRÊA, 1984).

A floração ocorre durante boa parte do ano (nos meses de fevereiro a abril e de agosto a dezembro) (JUAZEIRO, 2002). A *Cassia fistula* fornece madeira pesada e com cerne muito duro, difícil de trabalhar, porém de longa durabilidade. Da sua casca também é possível extrair uma resina adstringente, que encerra 12,9% de tanino que é utilizado em curtumes e tinturarias. A polpa albuminosa que envolve as sementes é utilizada como um “tempero” muito apreciado no preparo de certos tabacos orientais, e utilizada em confeitarias e sorvetes; possui também uma matéria extrativa amarga utilizada como laxativo na medicina, sobretudo para crianças. Seus galhos novos são aceitos como forragem pelo gado em época de escassez (CORRÊA, 1984; SANTOS, 1987). Na Figura 4 são mostradas algumas imagens da planta *Cassia fistula*.

Figura 4 - Árvore (a); flor (b); caule (c); fruto (d) e semente (e) da planta *Cassia fistula*.



FONTE: HERBÁRIO FLORESTAL,2011.

A galactomanana de *Cassia fistula* de origem indiana foi estudada por Khounvilay e Sittikijyothin (2010), foram feitas análises reológicas de fluxo, teor de umidade, proteína, viscosidade intrínseca. Porém não foram encontradas publicações em periódicos indexados que explorassem a galactomanana extraída das sementes de *Cassia fistula* de origem brasileira até a finalização desta dissertação.

1.5 - Modificação química da galactomanana com periodato de sódio (NaIO₄)

A procura por materiais biodegradáveis, extraídos de fontes renováveis e que apresentem alto desempenho e um menor custo é cada vez mais crescente. Vários derivados de polissacarídeos têm sido preparados através de modificação química de modo a melhorar as propriedades físico-químicas ou mecânicas ampliando as possibilidades de utilização como novos materiais.

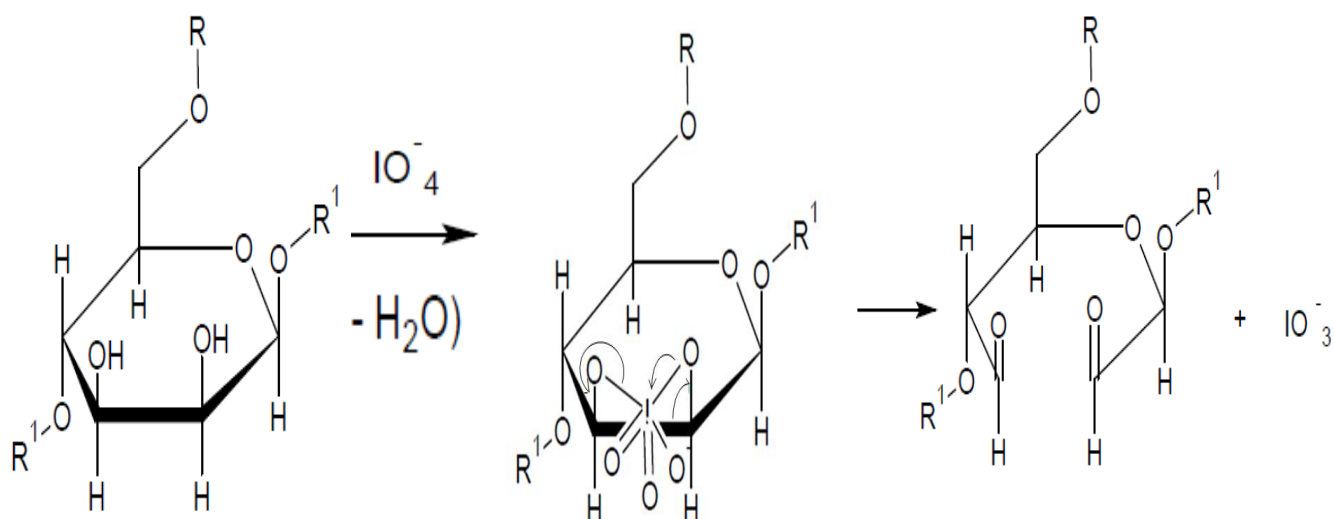
Polissacarídeos podem ser modificados quimicamente com diversos objetivos, como aumentar a quantidade de carga iônica negativa, o que possibilita a interação com polímeros catiônicos, aumentar a retenção de água num determinado sistema, adicionar grupamentos hidrofílicos (mais solúvel em meio aquoso) ou hidrofóbicos (menos solúvel) e aumentar o poder emulsificante (WHISTLER e MILLER, 1993).

Entre as modificações utilizadas está a reação de oxidação com periodato de sódio. Esta é um método clássico, uma reação simples bastante usada como ferramenta na elucidação estrutural de carboidratos complexos (PERLIN e CASU, 1982). A reação de oxidação do amido com periodato, até pouco tempo era um dos poucos exemplos empregados para modificação do amido com intuito de obter novas propriedades para aplicações industriais (VEELAERT *et al.*, 1997). Atualmente com o objetivo de melhorar as propriedades químicas e físicas, a modificação por oxidação com periodato tem sido proposta para outros polissacarídeos como pululana (BRUNEEL e SCHACHT, 1993), goma guar (VARMA *et al.*, 1997), dextrana (SOLKOLSKY - PAPKOV, DOMB e GOLENSER, 2006), goma arábica (NISHI E JAYAKRISHNAN, 2007), goma konjac

(YU e XIAO, 2008), alginato, quitosana, escleroglucana e celulose (KRISTIANSEN *et al.*, 2010).

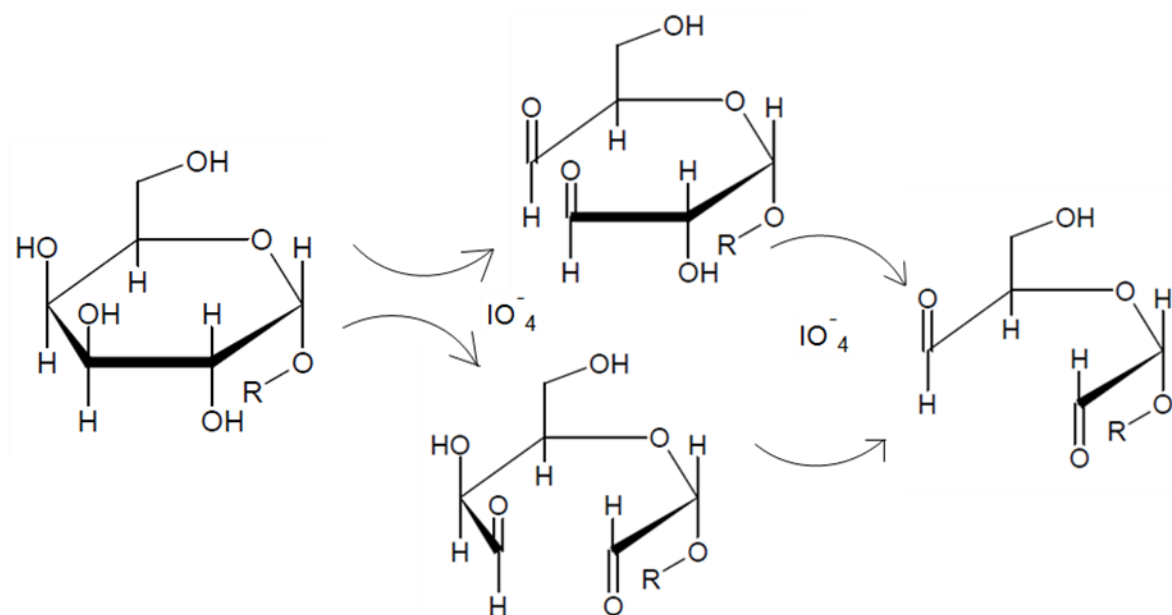
Galactomananas apresentam grupamentos –OH vicinais, que podem sofrer oxidação na presença do periodato. Na reação o ion, IO_4^- , reage com os dióis vicinais dos carbonos C-2 e C-3 da galactomanana onde ocorre a clivagem da ligação carbono-carbono, originando grupamentos aldeídicos C=O (FIGURA 5 e 6).

Figura 5 - Reação de oxidação de uma unidade de manose com periodato.



Baseado em KRISTIANSEN, K.A. *et al.*, 2010.

Figura 6 - Reação de oxidação de uma unidade de galactose com periodato.



Baseado em MAIA *et al.*, 2011

A oxidação de polissacarídeos com periodato de sódio normalmente produz um material com as qualidades esperadas para preparação de materiais utilizados na liberação de fármacos (solubilidade, viscosidade e maior reticulação com grupamentos amina) desde que seu grau de oxidação seja baixo (KRISTIANSEN *et al.*, 2010).

O estudo de derivados aldeídos funcionalizados é interessante devido a sua reatividade com grupamentos amina de quitosana e proteínas, como por exemplo, a gelatina para formação da imina ($-\text{C}=\text{N}-$). Dessa forma, um gel tipo *hybridpolymeric network* (HPN) (gel obtido no momento em que grupos funcionais presentes nos dois polímeros reagem, formando pontos de reticulação, sem a necessidade de haver um agente reticulante atuando) estável a temperatura ambiente poderá ser utilizado no desenvolvimento de scaffolds (suportes porosos). Hidrogéis derivados de proteínas e polissacarídeos são matrizes ideais para a engenharia de tecidos desde que lembrem matrizes extracelulares do tecido.

A utilização de biopolímeros em processos biológicos apresentam algumas vantagens como: não-carcinogênica, mucoadesividade, biocompatibilidade, alta capacidade de encapsulamento e liberação do fármaco de forma prolongada e a estabilidade térmica (base seca) (SUMATHI, 2002).

A caracterização de galactomananas extraídas de sementes da região nordeste, mais especificamente da planta *Cassia fistula*, é um potencial campo de exploração para preparação de novos materiais que possam substituir as principais fontes comerciais de galactomanana como a goma locusta e a goma guar, pois possuem propriedades semelhantes. Nesse sentido, a presente proposta é a extração, caracterização, modificação da galactomanana extraída das sementes de *Cassia fistula*. Podendo ser utilizada posteriormente para obtenção de novos materiais produzidos a partir deste polissacarídeo com a gelatina que poderão ser utilizados na liberação controlada de fármacos ou como matrizes para reconstrução de tecidos. Fazendo ainda uma comparação de suas propriedades com as da galactomanana da locusta bean, para uma possível substituição parcial ou total desta galactomanana pela a GCF.

2 - OBJETIVO GERAL

Extrair, caracterizar e modificar através da reação de oxidação com periodato de sódio a galactomanana da semente de *Cassia fistula* avaliando suas características estruturais e propriedades físico-químicas. Fazendo ainda uma comparação com a galactomanana das sementes da locusta bean.

2.1- Objetivos específicos

- Extrair o polissacarídeo do endosperma da semente de *Cassia fistula* e caracterizar por espectroscopia de absorção na região do Infravermelho, análise termogravimétrica.
- Avaliar por ressonância magnética nuclear do Hidrogênio (^1H), do Carbono (^{13}C) e de correlações $^1\text{H} - ^1\text{H}$ vicinais (COSY) e $^{13}\text{C} - ^1\text{H}$ (HSQC) as características estruturais desse polissacarídeo;
- Avaliar o comportamento viscoelástico das soluções da galactomanana através de estudos reológicos.
- Modificar e caracterizar o polissacarídeo por reação de oxidação com periodato;
- Avaliar os parâmetros físico-químicos assim como a massa molar do polissacarídeo de sementes da *Cassia fistula* e seus derivados oxidados, por cromatografia de permeação em gel (GPC);

3- MATERIAIS E MÉTODOS

A galactomanana da locusta bean (*Cerotonia siliqua*) foi proveniente da Sigma Corporation. As sementes de *Cassia fistula* foram coletadas em dezembro de 2008 na região do Vale do Jaguaribe-Ceará Brasil.

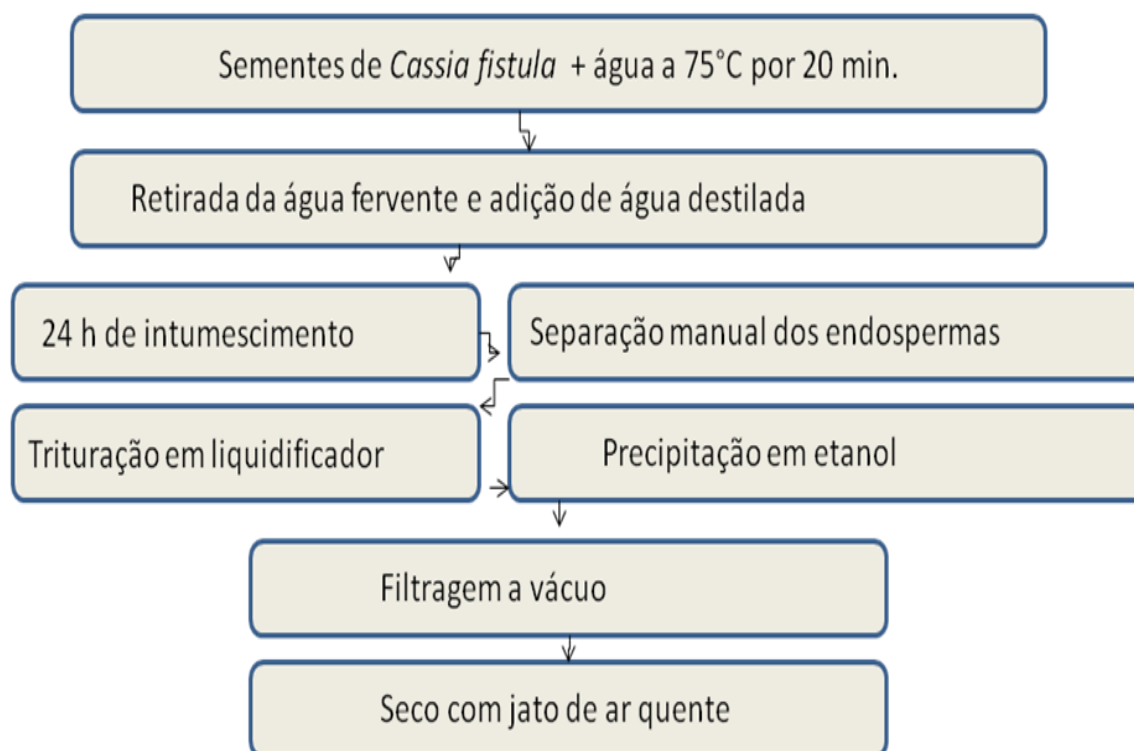
3.1 - Extração da galactomanana da semente de *Cassia fistula*

A galactomanana de *Cassia fistula* foi isolada baseado no método descrito por Cunha *et al.* (2009).

Inicialmente, uma massa de 50 g de sementes de *Cassia fistula* foram postas para intumescimento em 200 mL de água fervente por 20 minutos em agitação magnética, para inativação das enzimas endógenas presentes nas sementes. Estas permaneceram em água por um período de 24 h em temperatura ambiente sem agitação. As sementes intumescidas foram descascadas manualmente, separando-se o endosperma, retirando-se o tegumento e o embrião.

Os endospermas separados foram colocados em 500 mL de água destilada sob agitação por 2 horas a 75 °C. Após o término do aquecimento deixou-se por mais 24 h sob agitação magnética para completar o intumescimento. Posteriormente foram adicionados 800 mL de água destilada e após uma rápida agitação a mistura foi triturada em liquidificador. Em seguida, centrifugou-se esta suspensão por 30 minutos a 6000 rpm. Após a centrifugação, separou-se o sobrenadante (este foi reservado) e com o resíduo preparou-se uma nova suspensão, adicionando 250 mL de água destilada sob agitação, a mesma foi centrifugada a 6000 rpm por 30 minutos. Ao sobrenadante obtido nesta etapa misturou-se ao sobrenadante anterior, sendo então precipitada em álcool etílico P.A na proporção de 1:3 (volume de solução de galactomanana/volume de álcool). A galactomanana obtida foi recolhida em funil de placa sinterizada n° 3 porosidade média, lavado com álcool etílico e acetona P.A e em seguida seco com jato de ar quente. O resumo da extração é mostrado na Figura 7.

Figura 7 - Esquema resumido do método de extração da GCF.



3.2 - Obtenção da galactomanana de *Cassia fistula* purificada

A amostra de galactomanana obtida a partir do método 3.1, passou por uma purificação na qual a amostra de GCF foi ressolubilizada em seguida posta em diálise contra água por um período de três dias, logo após a diálise a amostra foi liofilizada. Obtendo-se assim um novo material a galactomanana de *Cassia fistula* purificada (GCFP).

3.3 - Caracterização da galactomanana de *Cassia fistula* e seus derivados

3.3.1 - Teor de umidade

Para encontrar o teor de umidade na amostra de GCF foi realizado um uma análise gravimétrica, o qual quantifica o teor de água da amostra através da diferença de peso da amostra hidratada e seca, seguindo o método ASTM D1347-72. Foram utilizados três pesa-filtros limpos, secos e pesados, a estes foram adicionados 1 g de GCF. Os pesa filtros com a amostra de GCF foram colocados em estufa a 105°C durante quatro dias até atingirem peso constante. As amostras eram pesadas duas vezes ao dia.

3.3.2 - Análise elementar – teor de proteína

A análise elementar foi realizada em um microanalisador CARLOS ERBA EA1108. O teor de proteína foi estimado pelo teor de nitrogênio encontrado. O cálculo foi realizado utilizando-se um fator de conversão de 5,85 usual para proteínas de leguminosas (MATUDA e NETO, 2005).

3.3.3 - Determinação do teor de ácido urônico por espectrofotometria

A determinação do teor de ácido urônico foi feita de acordo com o método descrito por Blumenkrantz e Asboe-Habnen (1973). Como padrão foi utilizado o ácido galacturônico (Merck).

Para a curva padrão, foram preparadas soluções de ácido galacturônico nas concentrações de 2,5; 5; 10; 20; 40; 60 µg/mL em água. A amostra da galactomanana de *Cassia fistula* foi preparada na concentração de 100 µg de galactomanana/mL de solução, após solubilização por 48 horas.

Foram retirados 0,4 mL das soluções preparadas para a curva de calibração e 0,4 mL da amostra de GCF, em seguida foram transferidas para tubos de ensaio que foram imersos em banho de gelo. Aos tubos de ensaio foram adicionados 2,4 mL de solução de tetraborato de sódio/H₂SO₄ (0,0125 mol/L) em seguida agitados em vortex, logo após aqueceu-se em banho Maria a 100 °C por 5 minutos. Os tubos foram retirados do aquecimento ocados novamente em banho

de gelo. A estes foram adicionados 40 µL de solução de metahidroxibifenil/NaOH (0,15 % do reagente em NaOH 0,05 %). Mais uma vez foi realizada agitação em vortex e após 10 minutos fez-se a leitura em um espectrofotômetro, no comprimento de onda de 520 nm. Através da equação da reta (Equação 1) obtida pela curva padrão fez-se a determinação do teor de ácido urônico na amostra. O procedimento foi realizado em triplicata.

$$ABS = -0,027 + 0,014 \times [\acute{a}c. \text{ur\^o}nico] \quad (1)$$

3.3.4 - Turbidez

Foram preparadas soluções aquosas de galactomanana de *Cassia fistula* em quatro concentrações diferentes 0,1; 0,3; 0,5 e 1% (m/v) através de agitação magnética, por um período de 24 h em água destilada. As soluções foram então analisadas em turbidímetro Modelo HI-93703C da Hanna Instruments a temperatura ambiente (28 °C). O instrumento foi calibrado com solução padrão coloidal de 0,40 e 500 NTU (Unidade Nefelométrica de turbidez).

3.3.5 - Estimativa da distribuição da massa molar por cromatografia de permeação em gel (GPC)

As amostras de galactomanana foram dissolvidas em água destilada na concentração de 0,1% m/v, sendo filtrada em membrana MILLIPORE 0,45 µm. A distribuição da massa molar foi determinada através de Cromatografia de Permeação em Gel (GPC), utilizando cromatógrafo Shimadzu (LC-10AD) acoplado a um detector de índice de refração (RID-6A). Foi utilizada uma coluna PolySep-GCF-P Linear de 7,8 x 300 mm, com fase móvel de NaNO₃ 0,1 mol/L, a temperatura ambiente e fluxo de 0,5 mL/min. O volume injetado das amostras foi de 50 µL. A curva padrão para a determinação da massa molar foi construída utilizando-se padrões de pululana com massas molares no intervalo de 5,9 x 10³ e 7,8 x 10⁵ g/mol.

3.3.6 - Determinação da viscosidade intrínseca

As soluções de galactomananas foram preparadas na concentração de 0,05% (m/v) em água, sendo posteriormente essa filtrada em funil de placa sinterizada de porosidade média nº 3. A viscosidade intrínseca foi determinada em viscosímetro capilar de Ubbelohde da CANNON INSTRUMENTS modelo 1 I-71 à temperatura de 25°C em banho de água com temperatura controlada. O tempo de escoamento para o solvente (água) foi de 88 s. Para a determinação da viscosidade intrínseca foram feitas cinco diluições. Para cada amostra de GCF foram feitas no mínimo três medidas de tempo do escoamento. A concentração real da solução, após a filtração, foi obtida por evaporação do solvente em estufa a 105 °C durante 2 dias e pesagem do resíduo até massa constante. A determinação da viscosidade intrínseca foi obtida através da Equação de Huggins (Equação 2).

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

3.3.7 - Reologia de fluxo

As propriedades reológicas das soluções aquosas de galactomanana de *Cassia fistula* nas concentrações de 0,1; 0,3; 0,5 e 1,0% (m/v) foram determinadas em reômetro da TA Instruments modelo Advanced Rheometer, modelo AR-550 utilizando um sensor do tipo cone-placa de diâmetro de 40 mm a 36 °C e na faixa da taxa de cisalhamento de 10 s⁻¹ a 1000 s⁻¹. Foi avaliado o efeito da taxa de cisalhamento sobre a viscosidade.

3.3.8 - Análise termogravimétrica

O comportamento térmico da amostra foi analisado utilizando o equipamento Q50 da TA Instruments em ar sintético com um fluxo de 50 mL/min. A taxa de aquecimento utilizada foi de 10 °C/min na faixa de 25-900 °C e a massa da amostra foi de 10 mg.

3.3.9- Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em espectrômetro de infra-vermelho FT-IR da Shimadzu FT IR – 8500 operando na faixa de 400 - 4000 cm^{-1} . Para obtenção dos espectros, as amostras trituradas foram misturadas a brometo de potássio para preparação de pastilhas.

3.3.10 - Ressonância magnética nuclear

Para obtenção dos espectros de RMN a galactomanana foi dissolvida em água deuterada contendo DSS na concentração de 1 %. Os espectros de RMN uni e bidimensionais foram obtidos a 70 °C em espectrômetro BRUKER modelo AVANCE-DRX500. Os derivados oxidados foram analisados nas mesmas condições. O DSS foi adicionado para calibração dos espectros em deslocamento químico (δ) zero no RMN ^1H .

3.4 - Modificação química por oxidação

A oxidação parcial da galactomanana foi realizada através do método descrito por Guo *et al.*(1998). Foram preparadas soluções 0,5% m/v (1 g de amostra em 200 mL de água) de GCF dissolvida em água destilada durante 24 h, logo após esse período foram adicionados a cada solução de GCF 10 mL de solução de periodato de sódio de concentrações diferentes para obtenção de graus oxidação teórica de 80, 65, 50, 20 e 10% (n° de mols de periodato em relação ao n° de mols de unidades glicosídicas vezes 100), respectivamente.

O grau de oxidação real da galactomanana foi determinado por espectroscopia de absorção na região do UV-VIS, como descrito por Gomez *et. al.* (2007). No método um indicador é preparado com volumes iguais de soluções de amido (1% m/v) e iodeto de potássio (20 % m/v) dissolvidos em tampão fosfato pH 7,4. Para determinar o teor de iodeto foi retirada uma alíquota de 0,5 mL de cada solução oxidada após 24 h de reação, esse volume foi transferido para um balão de 10 mL, junto a essa alíquota acrescentou-se 1,5 mL do indicador, em seguida o

volume foi completado para 10 mL com água destilada. A quantidade de periodato residual foi analisada no espectrofotômetro Hitachi U-2000 em 486 nm. A diferença entre a concentração inicial e final de periodato corresponde a porcentagem molar de unidades glicosídicas oxidadas.

A curva padrão do íon periodato foi utilizada para calcular a concentração de IO_4^- residual (Equação 3). A curva de calibração do periodato foi preparada com soluções de concentrações de $1,57 \times 10^{-5}$, $1,96 \times 10^{-5}$, $2,35 \times 10^{-5}$, $2,75 \times 10^{-5}$ e $3,14 \times 10^{-5}$ mol/L obtendo um coeficiente de correlação linear, $r = 0,99$.

$$ABS = 0,02 \times 26.000 \times [IO_4^-] \quad (3)$$

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Rendimento

O rendimento da extração da galactomanana de *Cassia fistula* foi calculada considerando-se a massa inicial das sementes postas para intumescimento e a massa de galactomanana obtida após o processo de extração. O valor médio de 4 extrações foi de 26,5%. Valores bem próximos foram relatados para a extração de galactomanana de *Cassia javanica* (26%) (ANDRADE *et al.*, 1999) e *Cassia fastuosa* (27%) (TAVARES, 1994). O processo de extração utilizado para as sementes de *Cassia fistula* mostrou-se eficiente. O percentual encontrado foi semelhante ao da maioria das sementes da família *Caesalpiniaceae*, as quais apresentam rendimento em termos de galactomanana solúvel a temperatura ambiente de 25 a 30% (BUKERIDGE, 1995).

4.2 - Caracterização da galactomanana de *Cassia fistula*

4.2.1 - Teor de umidade; proteína e ácido urônico

O teor de umidade foi encontrado pelo método gravimétrico para as amostras de galactomanana de *Cassia fistula* e goma locusta o valor encontrado foi aproximadamente de 11,9% e 9,5% respectivamente. Esse valor foi bem próximo ao encontrado por Bourbon *et al.* (2010) para galactomanana de Goma Guar (11,7%) e locusta bean (11,38%).

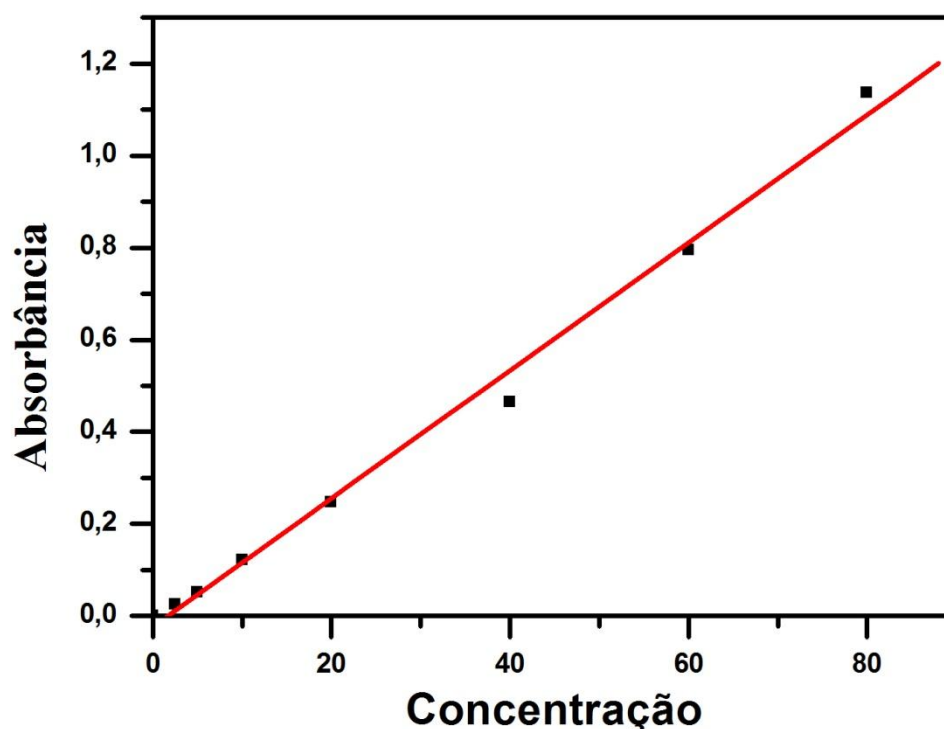
Considerando que todo nitrogênio presente nas amostras se deve a presença de proteína, utilizou-se um fator de conversão igual a 5,85 usual para leguminosas (MATUDA e NETTO, 2005) para calcular o teor de proteína.

A galactomanana de *Cassia fistula* estudada apresentou um teor de proteína de 2,50%. Khouvilay e Sittikijyothin (2010) encontraram para galactomanana de *Cassia fistula* de origem indiana um valor maior (6,72%). Fernandes *et al.* (2004) encontraram para galactomanana de *Senna spectabilis* o

valor 7,90%. Andrade *et al.* (1999) encontraram para goma locusta um valor de 3,64% de proteína. Essa proteína pode ser um contaminante ou pode estar associada com a cadeia do polissacarídeo via ligação covalente (DEBON e TESTER, 2001).

O teor de ácido urônico nas amostras foi encontrado a partir da curva de calibração de ácido galacturônico (Merck) (FIGURA 8).

Figura 8– Absorbância em função da concentração de ácido galactourônico – Curva de calibração usando padrão de ácido galacturônico com absorbância medida em 520 nm.



Galactomananas são consideradas polissacarídeos neutros, contudo foi encontrado na amostra um teor de 2,08% de ácido urônico. O mesmo procedimento foi realizado para galactomanna da locusta bean que apresentou um valor de 2,8% de ácido urônico, esse teor de ácido pode está associado a proteínas que se localizam na casca do material. Os valores encontrados para

GCF e GL foram próximos ao encontrado em galactomanana de goma guar 3,28% (CUNHA *et al.*, 2009).

4.2.2 – Turbidez

A turbidez está relacionada com a redução da transparência da solução ocasionada pelo material em suspensão, que reflete a luz, dificultando sua passagem. A quantificação da luz refletida pelas partículas em suspensão dá uma ordem de grandeza de sólidos nas amostras medidas em NTU (TOMAZONI *et al.*, 2005).

Observa-se que a medida que concentração da galactomanana estudada (*Cassia fistula*) aumenta a turbidez também aumenta (TABELA 4), esse fato pode ser explicado pela presença de porções insolúveis de endosperma (SEAMAN, 1980). A turbidez está associada ainda a viscosidade, em soluções com valores maiores de viscosidade, as partículas se encontram mais agregadas, resultando numa modificação do espalhamento da luz (CUNHA *et al.*, 2007). Soluções de galactomanana da goma guar apresentaram maior turbidez (41,7 NTU para soluções 0,1% m/v), em relação a GCF na mesma concentração, já soluções de galactomanana de Fava danta apresentaram menor turbidez (9,9 NTU para soluções de 0,1% m/v) (CUNHA, *et al.*, 2009; MONTEIRO, 2009).

Tabela 4- Turbidez das amostras de GCF.

Concentração (%)	Turbidez (NTU)
0,1	27,6
0,3	75,0
0,5	80,5
1	390,0

4.2.3 - Estimativa da distribuição da massa molar por GPC

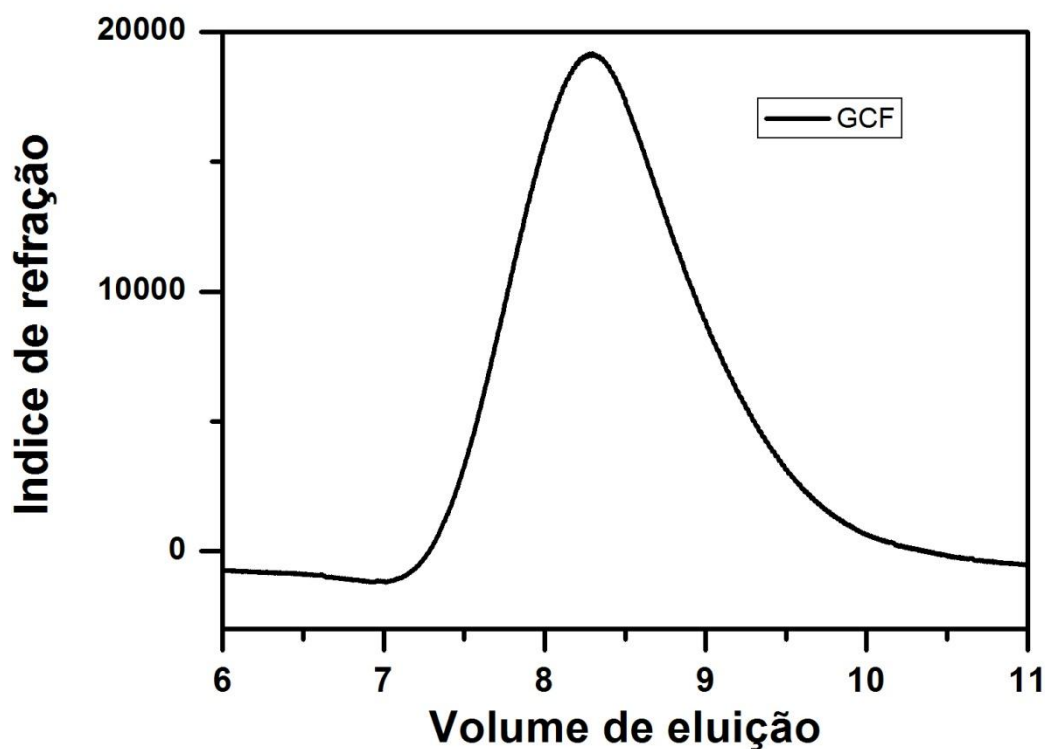
Através da curva padrão de pululana foi possível estabelecer uma relação linear entre $\log M$ (logaritmo da massa molar dos padrões) e os respectivos valores de volume de eluição, definidos pelos picos de cada padrão. Deste modo, com estes pares de valores foi possível construir a curva de calibração, através da qual, encontrou-se a Equação 4:

$$\text{Log } M_{pk} = 13,47 - 0,97 \times V_e \quad (R = 0,9907) \quad (4)$$

Onde M_{pk} é a massa molar de pico e V_e o volume de eluição, com base nessas informações pode-se calcular a massa molar de pico.

A Figura 9 mostra o cromatograma para a amostra da GCF. Foi obtida uma curva uni-nodal. A M_{pk} encontrada para GCF, no valor de $1,2 \times 10^6$ g/mol está na mesma ordem de grandeza de M_{pk} determinado para galactomanana da locusta ($2,2 \times 10^6$ g/mol) e para galactomanana de *Dimorphandra gardneriana* (razão 1,84:1) ($4,2 \times 10^6$ g/mol) (CUNHA, 2009).

Figura 9 - Perfil de eluição por cromatografia de permeação em gel (GPC) da GCF.



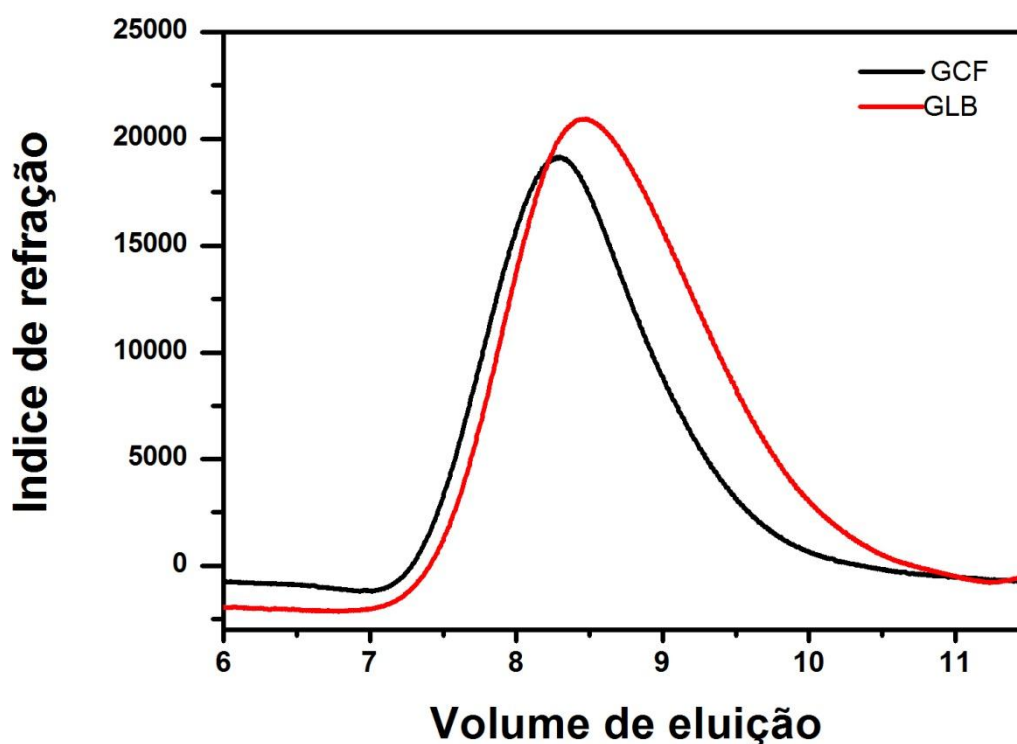
Os polímeros não possuem uma única massa molar e sim uma distribuição de massas molares. Para a determinação da massa molar média de um polímero leva-se em consideração a massa molar de cada molécula e o número delas. Uma das massas molares médias mais importantes é a massa molecular ponderal média (M_w) (Equação 5) (CANEVAROLO, 2004) onde:

$$M_w = \frac{\sum N_i M_i^2}{\sum N_i M_i} \quad (5)$$

N_i representa o número de moléculas de espécie i e M_i a massa molar de i .

Através da análise do GPC foi possível determinar a massa molar ponderal (Mw) da GCF e da goma locusta sendo seus valores de $2,34 \times 10^6$ g/mol e $2,39 \times 10^6$ g/mol para GCF e GL respectivamente. A GCF e GL apresentaram perfis semelhantes, ambos unimodal (FIGURA 10).

Figura 10 - Perfil de eluição por cromatografia de permeação em gel (GPC) das amostras da GCF e GL.



A GL apresentou maior valor de Mw ($2,39 \times 10^6$ g/mol) em relação a GCF ($2,34 \times 10^6$ g/mol). Valor na mesma ordem de grandeza encontrado por Dakia *et al.* (2008) para GL comerciais (Mw $1,0 \times 10^6$ g/mol). A Tabela 5 mostra os valores de Mw para alguma goma do gênero Cassia.

Tabela 5- Massas molares da GCF; GL e outras galactomananas do gênero *Cassia*.

Amostra	Mw	Referências
<i>Cassia fistula</i>	$2,34 \times 10^6$	Este trabalho
<i>Ceratonia siliqua (GL)</i>	$2,39 \times 10^6$	Este trabalho
<i>Cassia grandis</i>	$1,10 \times 10^6$	Azero e Andrade, 2002
<i>Cassia javanica</i>	$1,20 \times 10^6$	Joshi e Kapoor, 2003
<i>Cassia Angustifolia</i>	$9,66 \times 10^4$	Manjoosha e Kapoor, 2001

O valor encontrado para GCF está na mesma ordem de grandeza dos valores encontrados para outras espécies de *Cassia* tais como: *Cassia grandis* (Mw $1,1 \times 10^6$ g/mol) (JOSHI E KAPOOR, 2003); *Cassia javanica* (Mw $1,2 \times 10^6$ g/mol) (ANDRADE *et al.* 1999); *Cassia spectabilis* (Mw $2,1 \times 10^6$ g/mol) (KAPOOR *et al.* 1998). Porém Manjoosha e Kapoor (2001) encontraram para galactomanana de *Cassia Angustifolia* um valor de Mw bem menor ($9,66 \times 10^4$ g/mol).

4.2.4 - Determinação da massa molar viscosimétrica e viscosidade

intrínseca.

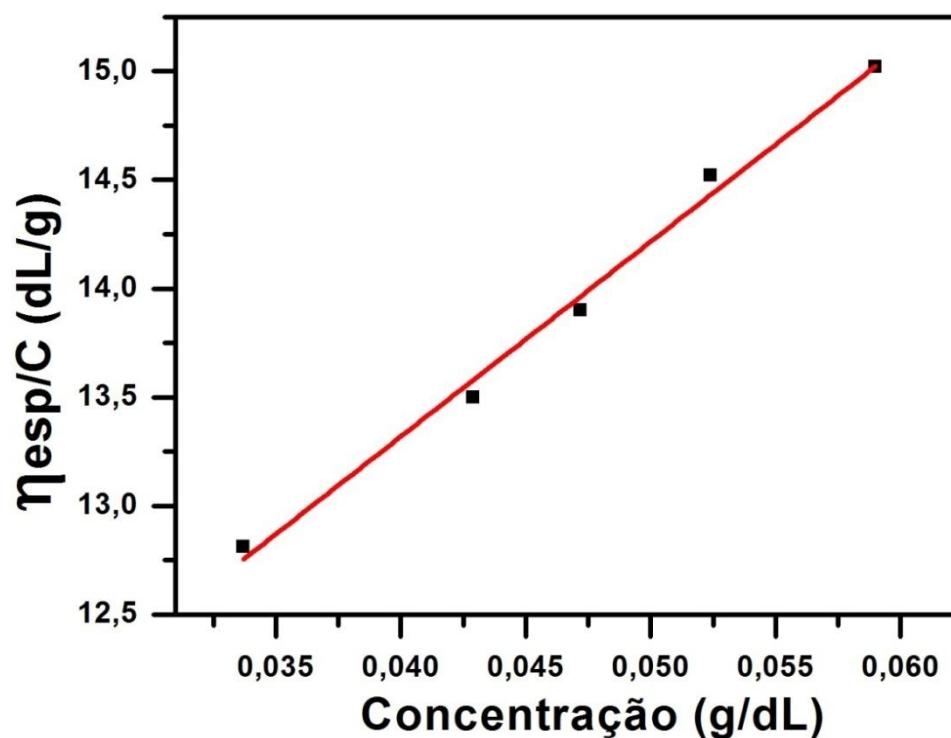
A viscosidade intrínseca ($[\eta]$) é uma propriedade do polissacarídeo em solução, definida como o volume hidrodinâmico ocupado pelas moléculas de um polímero isolado. Ela é definida como o valor de viscosidade reduzida à diluição infinita ($c \rightarrow 0$). A equação de Huggins (Equação 6) descreve a relação entre a viscosidade intrínseca e as concentrações das soluções diluídas dos polímeros como:

$$\eta_{sp}/c = [\eta] + k_H[\eta]^2 c \quad (6)$$

Onde, η_{sp} é a viscosidade específica, η_{sp}/c é a viscosidade reduzida, k_H é o coeficiente de Huggins, e C é a concentração do polímero.

A viscosidade intrínseca da GCF foi determinada pela equação de Huggins relacionando a viscosidade reduzida com a concentração pelo gráfico da Figura 11. A constante de Huggins está relacionada com as interações entre polímero-polímero e polímero-solvente cujo valor depende da qualidade do solvente e da conformação das moléculas. Bons solventes apresentam valores de K_H na faixa de 0,3 – 0,8 (ELIAS, 1997). Valores maiores que um são atribuídos à associações intermoleculares. O valor da k_H encontrado para GCF foi de 0,98. Khouvilay e Sittikijyothin (2010) encontraram o valor de 0,87 também para galactomanana de *Cassia fistula Indiana*. Já Azero e Andrade (2002) encontraram para a galactomanana de *Cassia javanica* o valor de 0,98.

Figura 11 - Gráfico da viscosidade reduzida versus concentração para GCF.



O valor de viscosidade intrínseca $[\eta]$ obtido para GCF foi de 9,73 dL/g. Valor inferior à de *Cassia javanica* (11,8 dL/g) (AZERO e ANDRADE, 2002) e superior a *Cassia grandis* (8,48 dL/g) e *Cassia Angustifolia* (2,09 dL/g) (JOSHI e KAPOOR, 2003; MANJOOSHA E KAPOOR, 2001) a diferença entre os valores pode estar relacionada a diferentes formas de extração, massa molar e razão Man/Gal.

A Tabela 6 apresenta os valores de razão Man/Gal viscosidade intrínseca e Massa Molar (Mw) para as galactomananas de *Cassia fistula*, *Cassia javanica*, *Cassia grandise* *Cassia Angustifolia*.

Tabela 6- Massa molar, viscosidade intrínseca e razão Man/Gal de galactomanana do gênero *Cassia*.

Galactomanana	Mw	[η] (dL/g)	Man/Gal	Ref
<i>Cassia fistula</i>	$2,3 \times 10^6$	9,7	3,1	Este trabalho
<i>Cassia javanica</i>	$1,2 \times 10^6$	11,8	3,2	Azero e Andrade, 2002
<i>Cassia grandis</i>	$1,1 \times 10^6$	8,5	3,1	Joshi e Kapoor, 2003
<i>Cassia Angustifolia</i>	$9,7 \times 10^4$	2,1	2,9	Manjoosha e Kapoor, 2001

De acordo com Dea e Morrison (1975) o valor da viscosidade para galactomananas na mesma faixa de razão Man/Gal aumenta com a elevação da massa molar. Os dados estão listados na Tabela 5, observa-se que a galactomanana de *Cassia fistula* apresenta a mesma razão, porém como a GCF apresenta maior massa molar sua viscosidade também será maior em relação a galactomanana de *Cassia grandis*.

A massa molar viscosimétrica (Mv) da GCF foi obtida a partir da equação de Mark-Houwink modificada por Gaisford *et al.* (1986) (Equação 7):

$$[\eta] = 11,55 \times 10^{-6} [(1 - \alpha)Mv] \times 0,98 \quad (7)$$

Em que $\alpha = 1/[\text{Man/Gal} + 1]$.

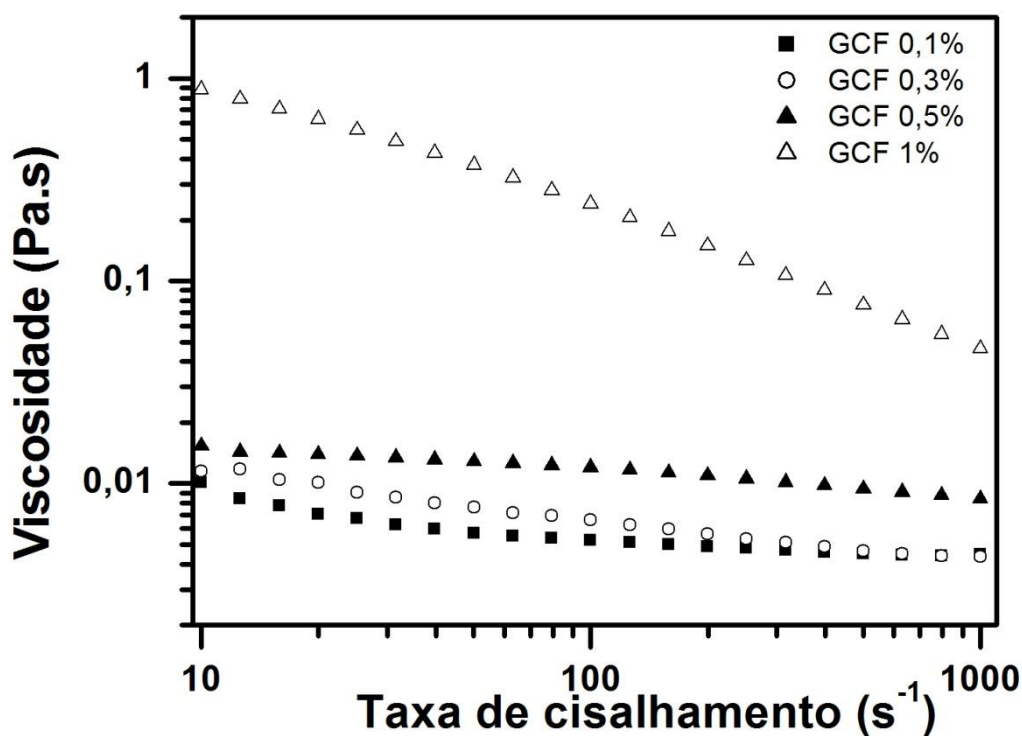
O valor encontrado foi de $1,11 \times 10^6$ g/mol. Para *Cassia javanica*, a Mv utilizando a mesma equação foi de $1,94 \times 10^6$ g/mol (ANDRADE *et al.*, 1999).

4.2.5 - Reologia de fluxo

Na Figura 12 estão mostradas as medidas reológicas de fluxo, variando-se a taxa de cisalhamento e verificando qual o efeito desta sobre a viscosidade das soluções aquosas de galactomanana com diferentes concentrações. Observar-se um leve comportamento pseudoplástico, ou seja, uma

diminuição da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento para solução de concentração 1% (m/v). Essa pseudoplasticidade diminui nas concentrações de 0,5; 0,3 e 0,1% (m/v). Soluções de *Dimorphandra gardneriana* nas mesmas concentrações apresentaram comportamento semelhante (CUNHA *et al.*, 2009). De acordo com Dea e Morrison (1975), solução de 1% (m/v) de goma guar apresenta comportamento pseudoplástico. Esta pseudoplasticidade diminui e se aproxima de um comportamento Newtoniano em concentrações abaixo de 0,3% (m/v).

Figura 12 - Variação da viscosidade com a taxa de cisalhamento para GCF a 36 °C.



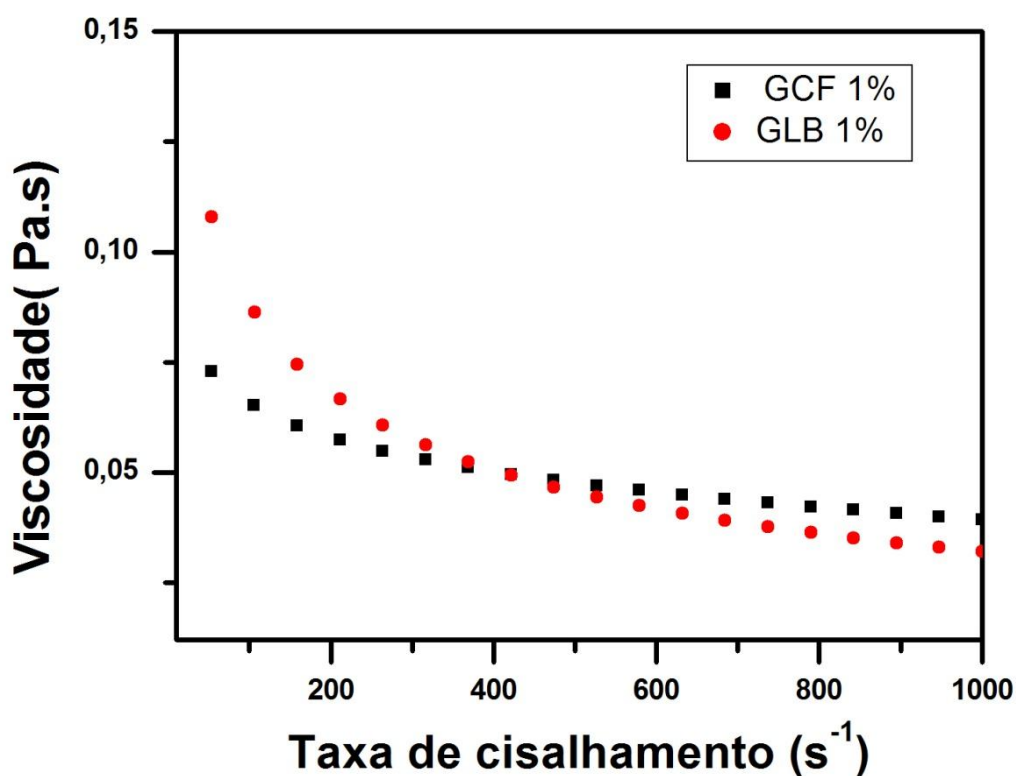
Na Tabela 7 são apresentados os valores de viscosidade aparente das soluções 0,1; 0,3; 0,5 e 1% (m/v) da GCF em uma taxa de cisalhamento de 2 s⁻¹. A viscosidade aparente da GCF aumenta consideravelmente com o acréscimo da concentração do polissacarídeo na dispersão em água.

Tabela 7-Viscosidade da GCF, taxa de cisalhamento de 2 s^{-1} a $36 \text{ }^\circ\text{C}$.

Concentração (% m/v)	Viscosidade (mPa.s)
1	1662
0,5	42
0,3	40
0,1	32

Foram analisados os comportamentos reológicos da GCF na concentração de 1% em comparação com a galactomanana da locusta (FIGURA 13), esta apresenta uma viscosidade maior que a GCF, apresentando um leve comportamento pseudoplástico.

Figura 13 - Variação da viscosidade com a taxa de cisalhamento para GCF e GL 1% (m/v) a 25°C .



A Tabela 8 apresenta os parâmetros de viscosidade das amostras de galactomanana da *Cassia fistula* e galactomanana da locusta, obtidos a partir da equação de Cross (Equação 8) :

$$\eta = \eta_{\infty} + \frac{(\eta_0 - \eta_{\infty})}{1 + (K\dot{\gamma})^n} \quad (8)$$

Em que η_0 e η_{∞} são as viscosidades limites quando a taxa de cisalhamento nula e infinita, respectivamente. K é uma constante de ajuste, $\dot{\gamma}$ é a taxa de cisalhamento e n é o índice de pseudoplasticidade.

As duas soluções apresentaram valores diferentes de índice de pseudoplasticidade. Para GCF foi observado um menor índice de pseudoplasticidade (0,49) e o maior valor foi obtido para a GL (0,60).

Tabela 8- Parâmetros obtidos usando o modelo de CROSS, para as soluções de galactomanana de *Cassia fistula* e galactomanana de locusta a 1% em água a 25°C.

Amostra	η_{∞} (Pa.s)	η_0 (Pa.s)	K (s)	N
GL	$6,94 \times 10^{-8}$	0,2874	0,0218	0,6036
GCF	$2,30 \times 10^{-8}$	0,1015	0,0035	0,4907

η_{∞} : viscosidade a taxa de cisalhamento infinita.

η_0 : viscosidade a taxa de cisalhamento zero.

K: parâmetro de consistência.

n: índice de pseudoplasticidade.

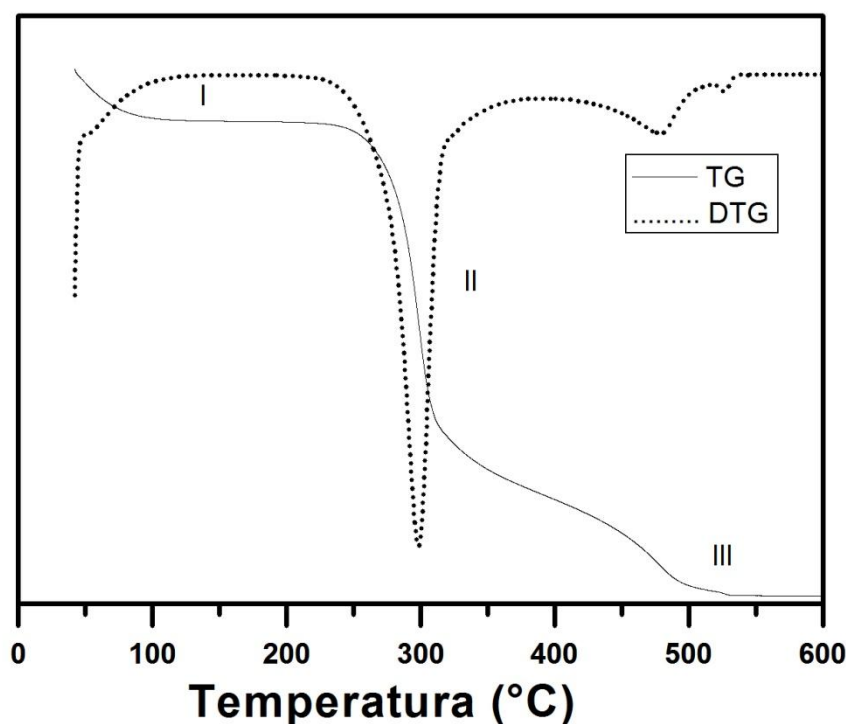
A solução de GL apresentou maior viscosidade em taxa de cisalhamento infinita que a solução GCF. A uma taxa de cisalhamento nula as

maiores viscosidades são detectadas para as amostras de GL, comportamento ratificado pelo parâmetro de consistência, que apresentou valor 0,28 para GL enquanto que a GCF apresentou parâmetro de consistência igual a 0,10.

4.2.6 - Análise termogravimétrica

A análise termogravimétrica é um método simples e preciso para estudar o padrão de decomposição e estabilidade térmica de polímeros. Foram realizadas análises termogravimétricas para GCF e GL (FIGURA 14).

Figura 14 - Curva termogravimétrica e DTG da amostra de GCF.



Avaliando as curvas termogravimétricas (FIGURA 14) observam-se três eventos. O primeiro evento (40 °C – 113 °C) está relacionado a perda de água de hidratação, podendo esse ser considerado o teor de umidade da amostra (9,1%). Como uma forma comparativa foi realizada a análise termogravimétrica da galactomanana da locusta, o primeiro evento apresenta uma perda de massa de

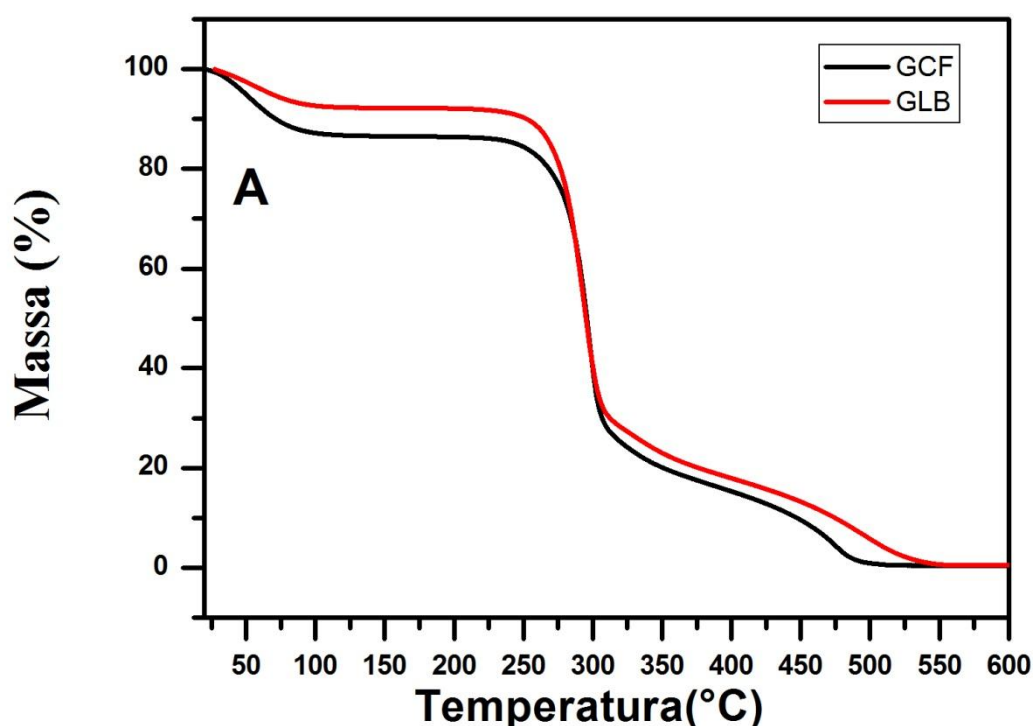
8,0%. Para galactomananas de goma locusta, Dakia *et al.* (2007) obtiveram o valor de 6% e Cunha *et al.* (2007) entre 11 e 14% para a goma Guar.

O segundo evento (140 °C – 380 °C) está relacionado com o processo de decomposição da matéria orgânica, nesta etapa houve a perda de mais de 75% e 71% da massa da GCF e GL respectivamente.

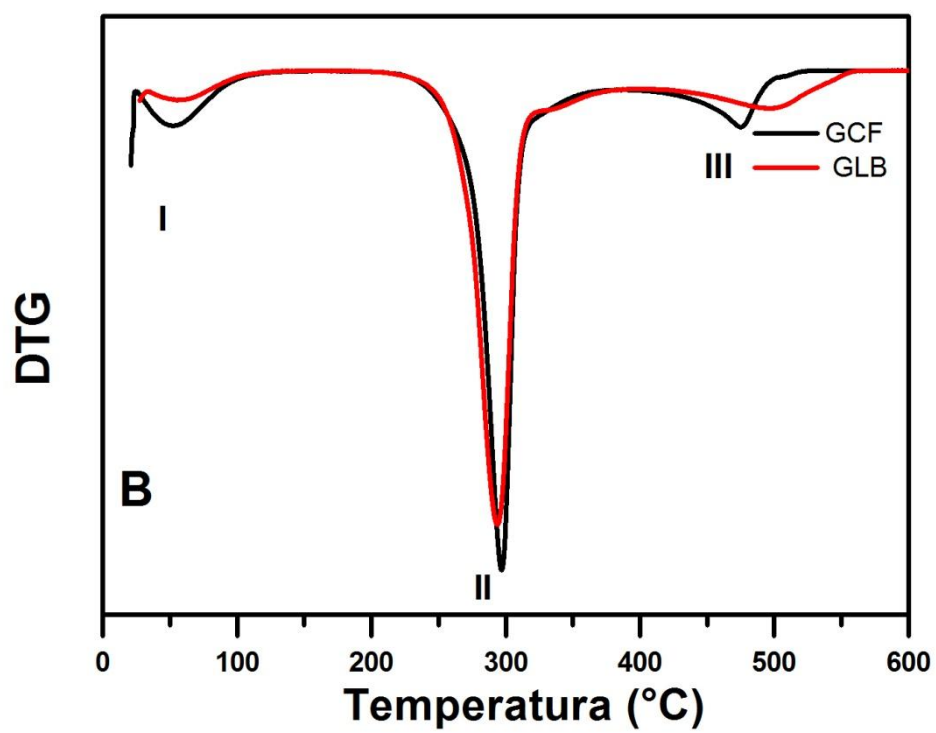
O terceiro evento (410 °C – 600 °C) estaria relacionado à matéria orgânica mais resistente a degradação, deslocando a degradação do material para temperaturas mais elevadas. A quantidade de material degradado nesta etapa foi de mais de 23% tanto para GCF como para GL.

O teor de residual das amostras de GCF e GL que podem ser considerado como teor de cinzas (SOUZA, C. F., 2009) encontrado pela curva termogravimétrica foi de 0,4% e 0,5% respectivamente.

Pela Figura 15 foi possível observar que as amostras de GCF e GL apresentam um perfil de decomposição semelhante.



ura 15 - Curvas termogravimétricas (A) e DTG (B) das amostras de GCF e GL respectivamente.



Os eventos térmicos apresentados nos gráficos de TGA e DTG estão resumidos na Tabela 9.

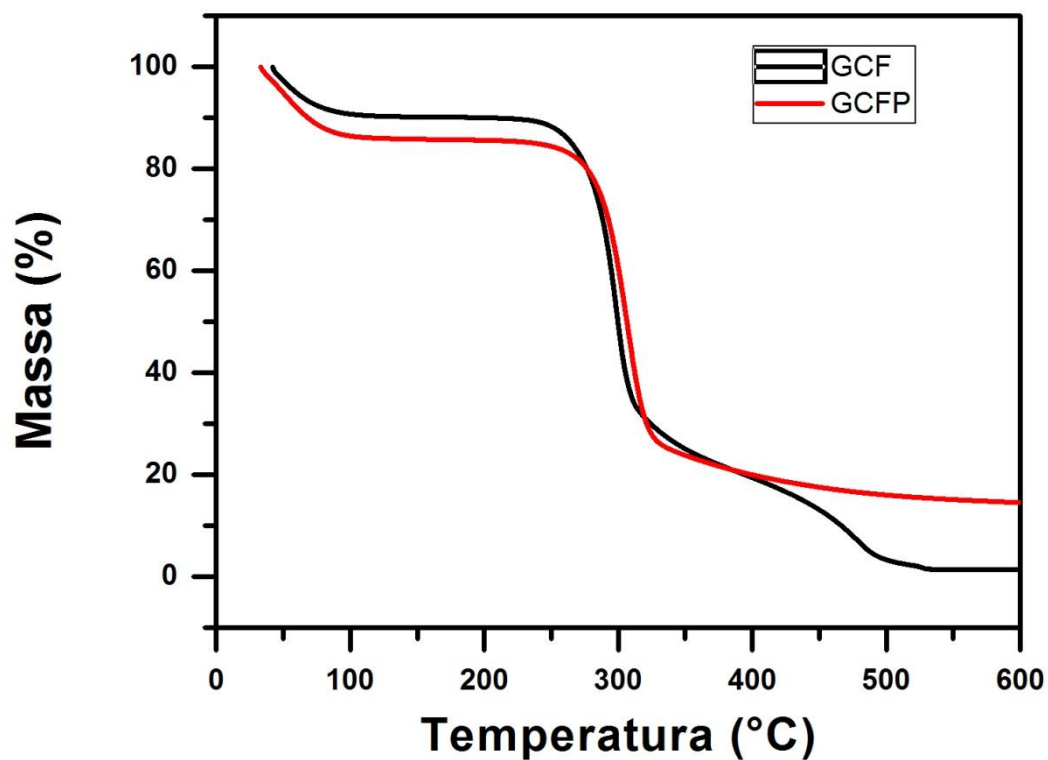
Tabela 9- Eventos térmicos obtidos a partir das curvas de TG e DTG para GCF e GL.

Amostra	Umidade (%)	T _{inicial} (°C)	Perda de massa (%)			Resíduo (%)	DTG
			200°C	320°C	500°C		
GCF	9,1	221	13,3	75	99,7	0,44	Maior pico a 296°C e pico secundário a 475°C
GL	8,0	237	8,0	71	94,2	0,5	Maior pico em 294°C e pico secundário a 504°C

Para comparar galactomanana de *Cassia fistula* e seus derivados oxidados, a GCF passou por um processo de purificação, no qual a amostra obtida a partir da metodologia 3.1.1, foi ressolubilizada posta em diálise contra água por um período de três dias, em seguida a amostra foi liofilizada. Obtendo-se assim dois materiais distintos para galactomanana de *Cassia fistula*, um bruto (GCF) e outro purificado (GCFP).

Foi observada uma diferença a partir da análise de TG (FIGURA 16) A amostra dialisada apresenta apenas dois eventos enquanto a que não passou pela diálise apresenta três eventos. Essa diferença pode ser devido a eliminação de contaminante no processo de diálise. O mesmo resultado foi obtido por Souza (2009) para amostras de galactomanana de pau-ferro.

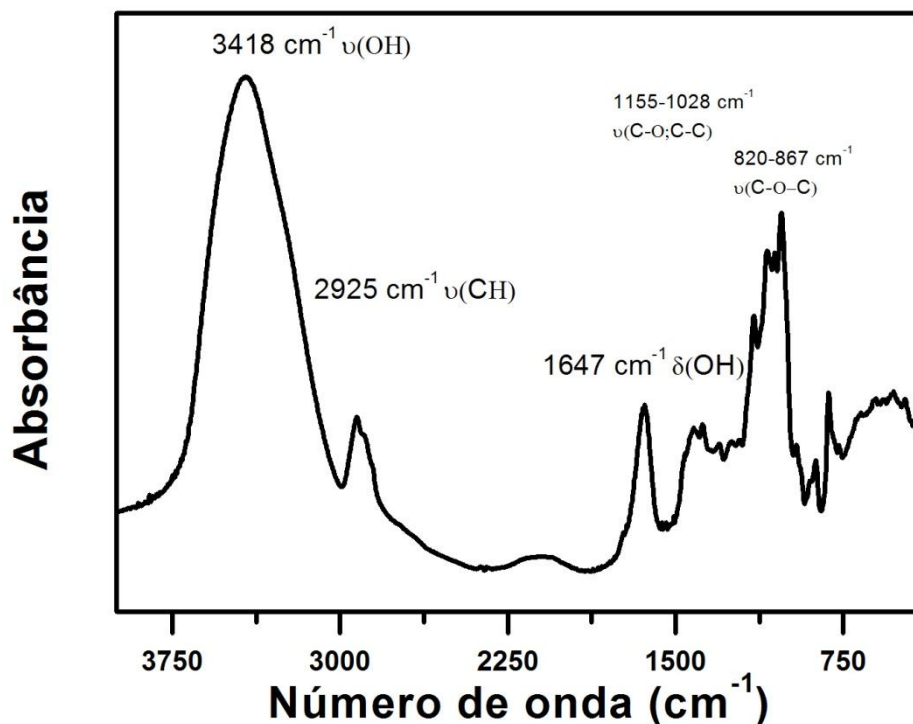
Figura 16 - Curvas termogravimétricas da GCF e GCFP (*galactomanana de Cassia fistula* purificada).



4.2.7 - Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

O espectro na região do infravermelho da galactomanana isolada de *Cassia fistula* (GCF) é mostrado na Figura 17.

Figura 17 - Espectro na região do infravermelho da GCF em pastilha de KBr

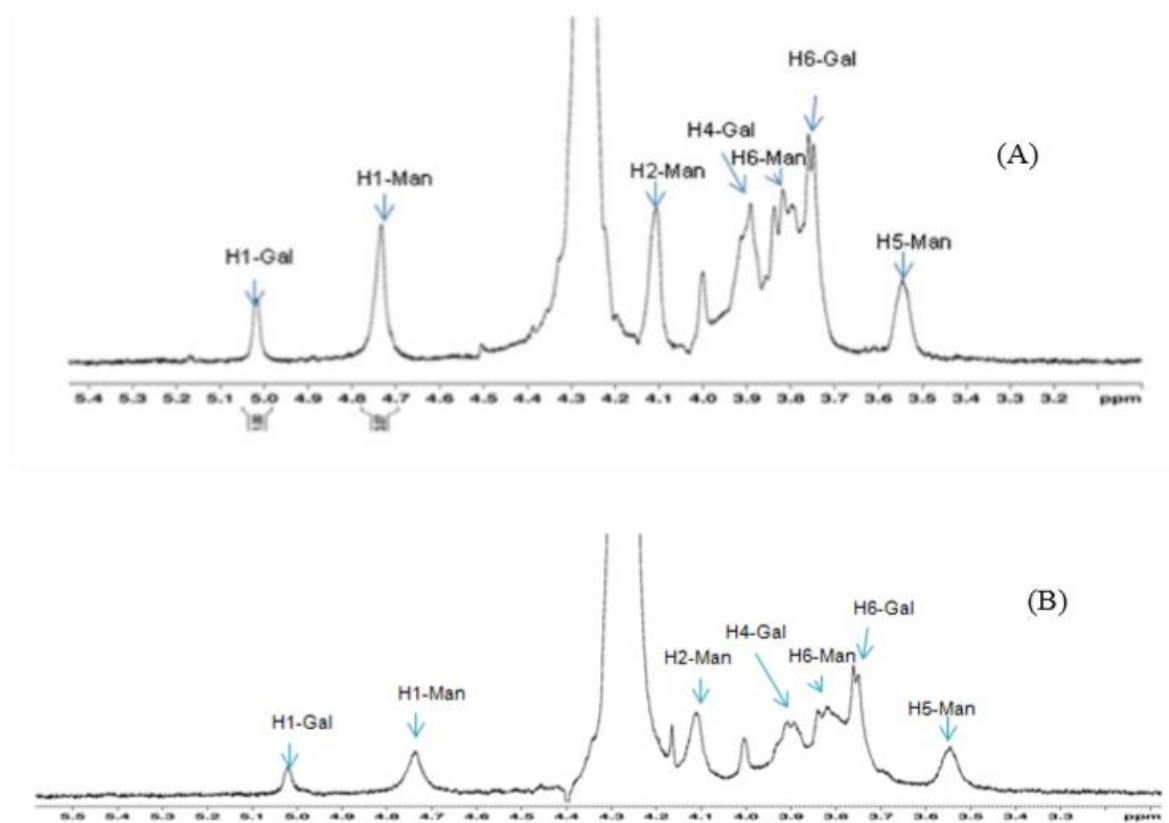


São observadas frequências em 3418 cm^{-1} características de estiramento de hidroxila ligadas diretamente ao anel $\nu(-\text{CH}-\text{OH})$ e à cadeia lateral $\nu(\text{CH}-\text{OH})$ e de ligações C-H de grupos alquila em 2925 cm^{-1} ; em 1647 cm^{-1} que pode ser atribuído às vibrações de O-H de moléculas de água ligadas à estrutura da goma. A frequência em 1150 cm^{-1} pode ser atribuída às vibrações das ligações (C – O) referente ao anel da piranose, em 1080 cm^{-1} que pode ser devida ao estiramento do álcool primário (C-O), em 1027 cm^{-1} que pode ser relacionada à torção vibracional do CH_2 e em 820 cm^{-1} e 867 cm^{-1} atribuídas a ligações glicosídicas $\alpha\text{-D-galactopirranose}$ e $\beta\text{-D-manopirranose}$. Frequências características de glicosídeos relativa aos grupos O-H, grupos C-O, ligação glicosídica C-O-C foram identificados na amostra. Pode-se concluir que as frequências de absorção para a amostra estão em concordância com as estruturas típicas de polissacarídeos (FIGUEIRO *et al.*, 2004; WANG e SOMASUNDARAN, 2007).

4.2.8 - Ressonância magnética nuclear

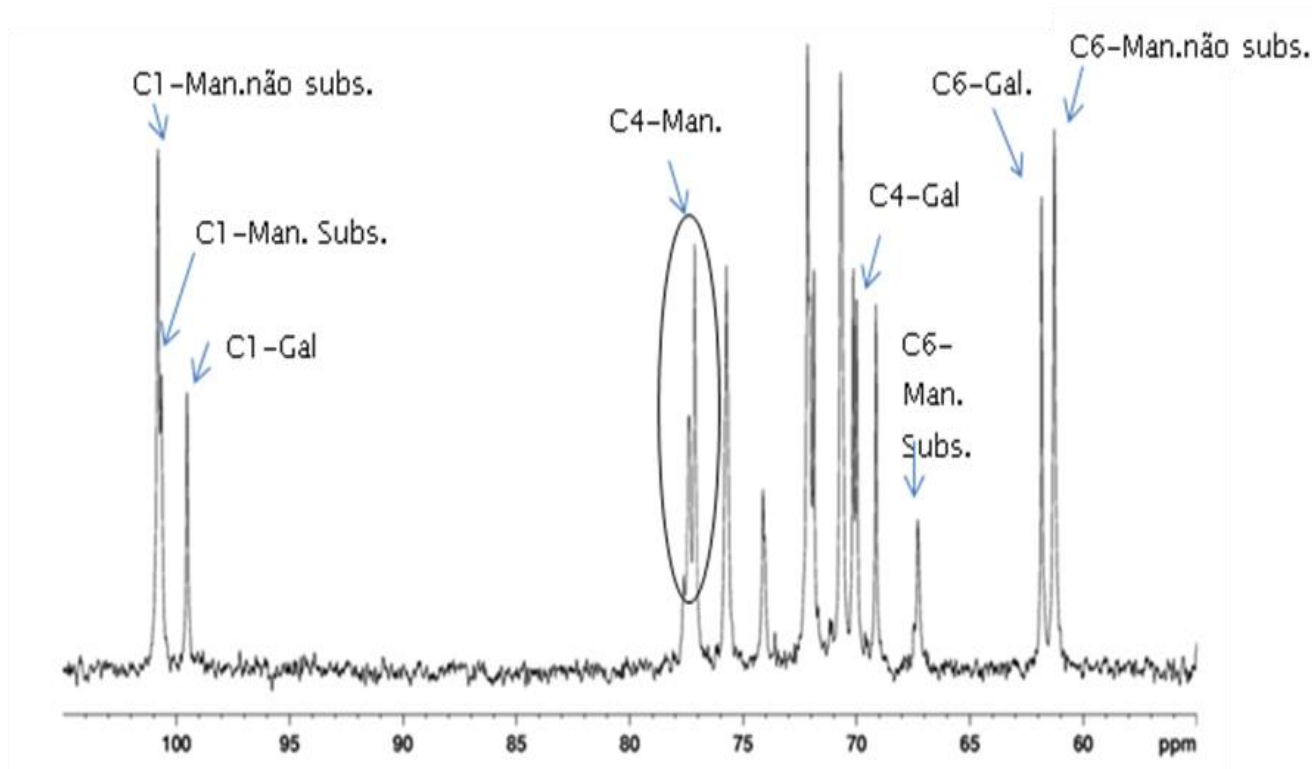
O espectro de RMN ^1H da galactomanana extraída da *Cassia fistula* (GCF) é mostrado na Figura 18 A. Os deslocamentos químicos foram atribuídos de acordo com dados da literatura para galactomananas (GRASDALEN E PAINTER 1980; SOUZA, C. F. 2009; CUNHA *et al.*, 2009; KAPOOR *et al.*, 1998) e confirmados pelas correlações no espectro ^1H , ^{13}C - HSQC. Os sinais de próton anomérico em δ 5,02 e 4,73 foram atribuídos a H-1 de α -D-galactose (G) e β -D-manose (M), respectivamente (KAPOOR *et al.*, 1998). Através da RMN os polissacarídeos podem ser melhor caracterizados quanto a distribuição das unidades de galactose e manose na estrutura do polissacarídeo. Como se trata de uma análise não destrutiva é possível determinar a razão Man/Gal de forma mais confiável. A razão Man/Gal da GCF foi igual a 3,2 obtida diretamente a partir das áreas relativas dos sinais de hidrogênios de carbonos anoméricos. Essa razão foi similar às razões observadas para a *Cassia javanica* (3,2) (ANDRADE *et al.*, 1999) e menor que o obtido para *Cassia fastuosa* que foi de 4,0 (TAVARES, 1994). Visando o potencial da galactomanana de *Cassia fistula* como substituta da galactomanana locusta bean o espectro de RMN ^1H da goma locusta comercial (Merck) (Figura 18B) foi obtido nas mesmas condições aplicadas para a galactomanana da *Cassia fistula*. A razão Man/Gal foi de 3,5 semelhante aos dados da literatura para essa galactomanana (DAAS *et al.*, 2000) e a razão obtida para a *Cassia fistula*.

Figura 18 - Espectros de RMN ^1H em D_2O a 70°C para (A) GCF e (B) GL.



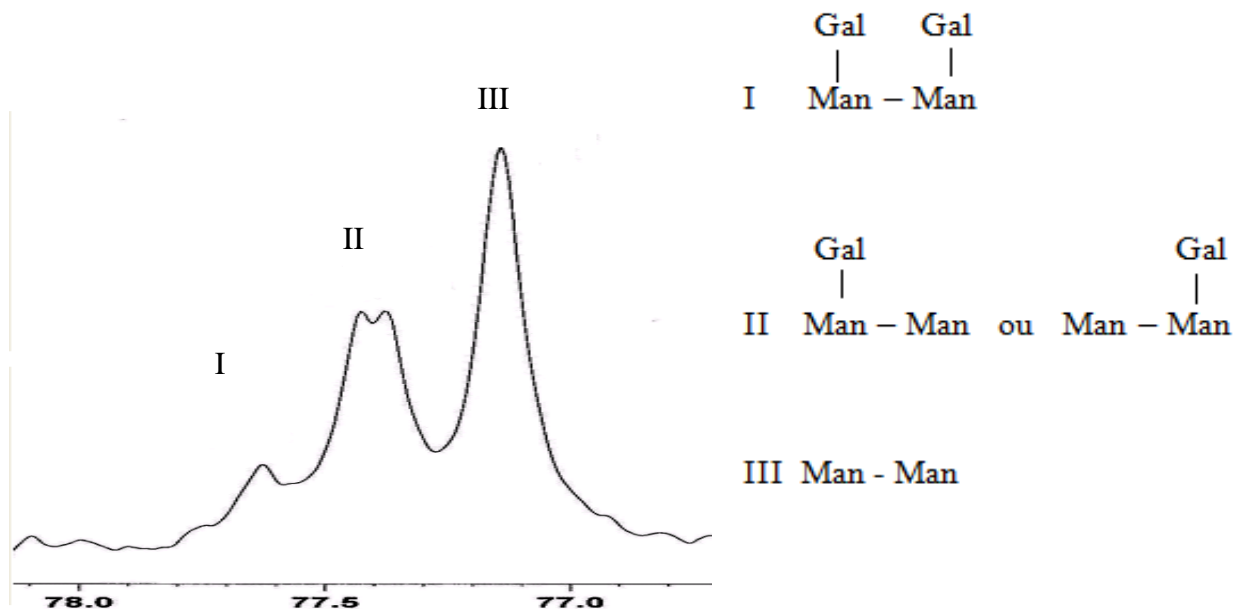
O espectro de RMN ^{13}C (FIGURA 19) apresenta os sinais com alta razão sinal/ruído permitindo a identificação dos principais sinais. Os quais estão de acordo com aqueles reportados pela literatura para galactomananas (JOSHI e KAPOOR, 2003; GRASDALEN E PAINTER 1980; SOUZA, C. F. 2009; CUNHA *et al.*, 2009). A região de anomérico (δ 90-100) mostra três sinais definidos em δ 99,53; 100,6 e 100,8 atribuídos aos carbonos anoméricos de α -D-galactose, β -D-manose substituída e não substituída, respectivamente (SOUZA *et al.*, 2010).

Figura 19 - Espectro de RMN ^{13}C em D_2O a 70°C da GCF.



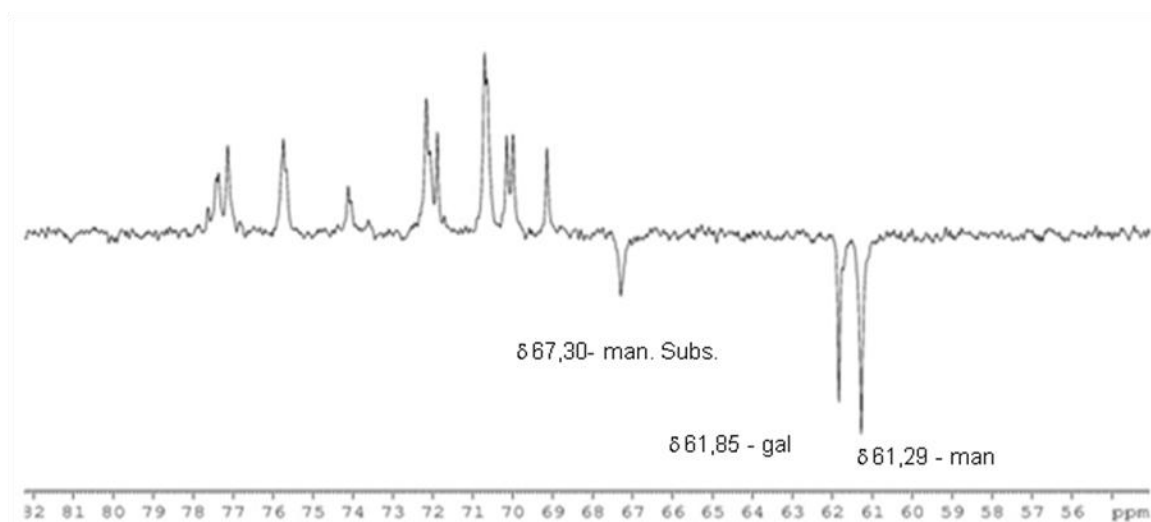
A expansão do Espectro de RMN ^{13}C mostra região de δ 76,0 a 78,0 (FIGURA 20) atribuídos a sinais de C-4 de unidades de manose O-substituída (M-4). O desdobramento de sinais nessa região foi utilizado por Dea e Morrison (1975) para sugerir o padrão de substituição das unidades de galactose. O deslocamento químico atribuído para C-4 da galactose foi δ 70,0. A Figura 20 mostra o desdobramento em três sinais, o primeiro denominado I, em δ 77,6, correspondente M-4 quando duas unidades substituídas estão adjacentes; o segundo denominado II, δ 77,4, atribuído a M-4 de representa uma sobreposição de sinais originados por díades na qual apenas uma unidade é substituída; e o terceiro pico com maior intensidade, denominado III, em δ 77,14, foi atribuído a M-4 não substituída adjacente a outras unidades do mesmo tipo. Observa-se que o sinal III apresenta maior intensidade que os demais indicando uma longa sequência de unidades de manose não ramificados.

Figura 20 - Espectro de RMN ^{13}C em D_2O a 70°C da região C-4 da manose da GCF.



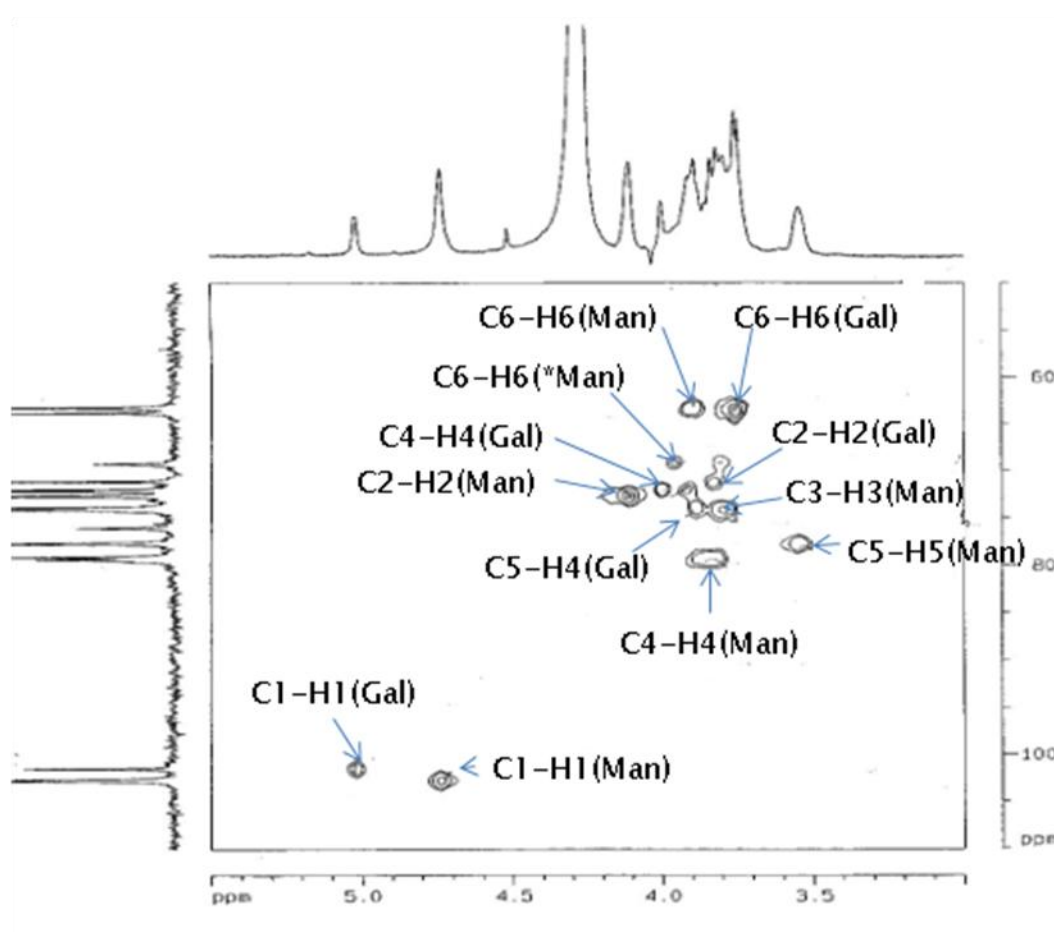
O espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° (FIGURA 21) mostrou três sinais relativos a carbonos metilênicos (amplitudes opostas a CH). Os sinais em δ 61,85 e 61,29 são atribuídos a C-6 não substituídos de galactose e manose, respectivamente. Já o sinal δ 67,65 é referente ao C-6 da manose não substituída (JOSHI e KAPOOR, 2003).

Figura 21 - Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° em D_2O a 70°C da GCF.



A partir das informações do DEPT e com o auxílio do ^1H , ^{13}C -HSQC (FIGURA 22) os seguintes deslocamentos químicos (δ) de hidrogênios foram identificados: na posição 6 (H-6) da manose (δ 3,91), manose substituída (δ 4,00) e galactose (δ 3,76); e na posição H-4 da manose (δ 3,84), esse valor também foi encontrado por Cunha *et al.* (2009) para galactomanana de *Dimorphandra mollis*.

Figura 22 - Espectro HETERONUCLEAR ^1H , ^{13}C -HSQC em D_2O a 70°C da GCF.



Os dados obtidos pelo espectro do $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HSQC estão resumidos na Tabela 10.

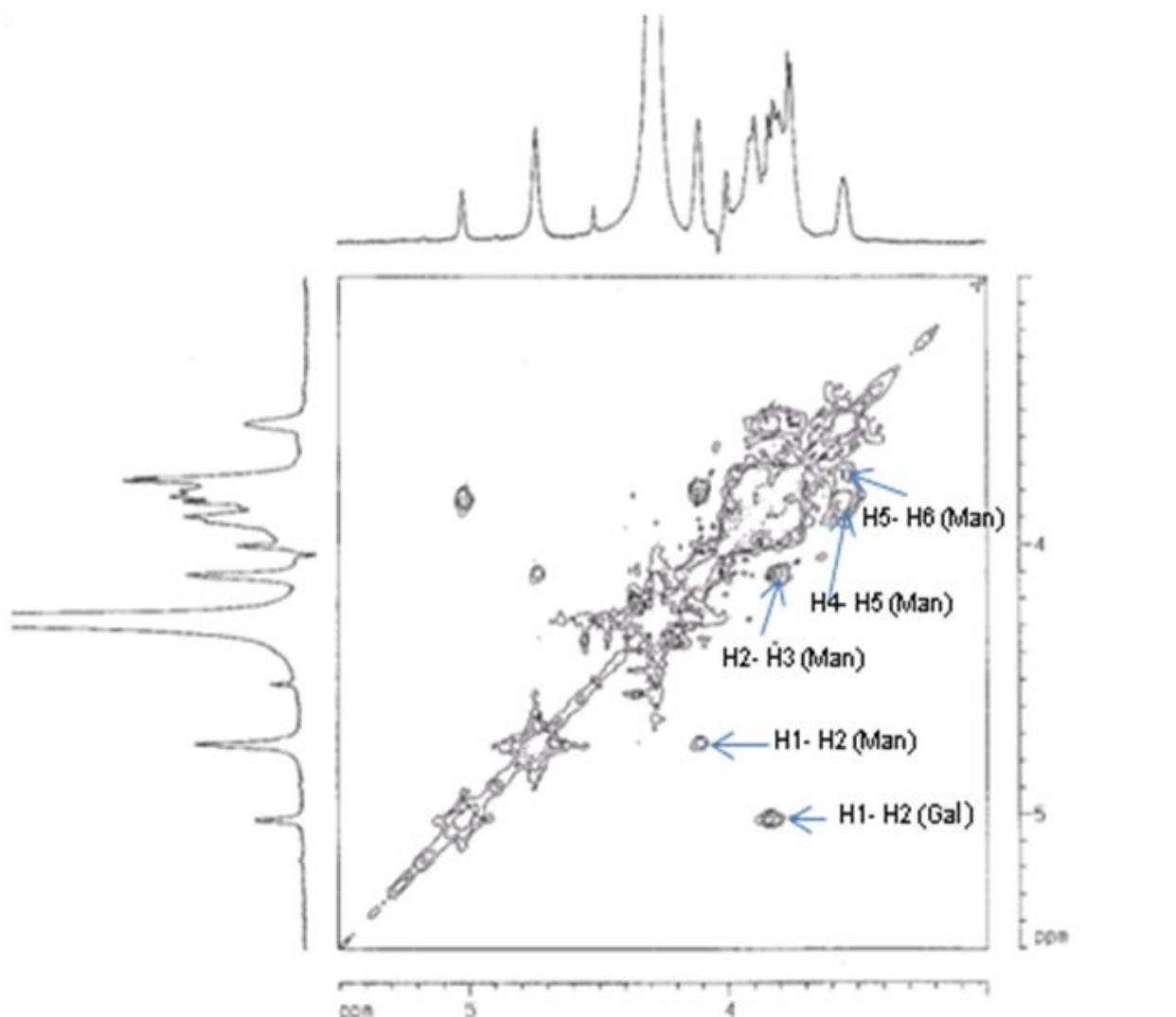
Tabela 10- Correlações entre carbono e hidrogênio a uma ligação ($^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HSQC).

$^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HSQC	
C (δ em ppm)	H (δ em ppm)
101,52	5,02
102,81	4,73
72,64	4,11
73,91	3,89
79,20	3,84
71,98	3,92
74,03	3,80
77,68	3,55
71,20	3,83
69,10	3,81
69,20	3,96/4,00
63,50	3,75
61,10	3,90

As correlações ^1H - ^1H foram obtidas do espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (FIGURA 23). Aplicando as atribuições da literatura (JOSHI e KAPOOR, 2003) para os hidrogênios de carbonos anoméricos e o espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY os deslocamentos

químicos do H-2 da galactose (δ 3,83) e H-2 da manose (δ 4,10); e ainda o H-3 da manose (δ 3,79). Os deslocamentos do hidrogênio no HSQC foram assumidos na análise do COSY, verificando se há uma correspondência entre os hidrogênios vizinhos, confirmando, assim, a estrutura da galactomanana. O deslocamento de H-5 da galactose foi atribuído com base nos dados de Cunha *et al.* (2009).

Figura 23 - Espectro HOMONUCLEAR $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY em D_2O a 70°C da GCF.



Os dados obtidos nos espectros do ^1H , ^1H -COSY estão resumidos da Tabela 11.

Tabela 11- Correlações entre hidrogênios adjacentes obtidos do espectro ^1H , ^1H -COSY

^1H , ^1H -COSY	
H(δ em ppm)	H(δ em ppm)
5,02	3,83
4,73	4,1
4,1	3,79
3,84	3,55
3,55	3,74

As análises de ^{13}C , ^1H , DEPT 135° e as análises bidimensionais comprovaram a estrutura da GCF em relação às atribuições adotadas e os valores obtidos. A Tabela 12 apresenta as atribuições dos sinais encontrados para GCF com o auxílio dos espectros de ^1H ; ^{13}C ; ^1H , ^1H COSY e ^1H , ^{13}C HSQC.

Tabela 12- Atribuições dos sinais de RMN ^{13}C e ^1H da galactomanana de *Cassia fistula*.

Tipos de Unidades	Deslocamento Químico (ppm)					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
α -D-galactopiranosil	99,53	69,14	70,16*	70,00	71,89	61,85
α -D-manopiranosil não ramificada em C6	100,80	70,7	72,16	77,13	75,7	61,29
α -D-manopiranosil ramificada em C6	100,60	70,72**	69,09**	77,62	74,12**	67,30

Tipos de Unidades	Deslocamento Químico (ppm)					
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6
α -D-galactopiranosil	5,02	3,83	3,91**	3,91	3,89**	3,75
α -D-manopiranosil não ramificada em C6	4,73	4,10	3,79	3,84	3,55	3,91
α -D-manopiranosil ramificada em C6	--	--	--	3,82**	3,74**	4,00

^aBaseada nas correlações obtidas nos espectros ^1H , ^{13}C -HSQC e COSY

* Souza 2009; ** Cunha *et al.*, 2009;

4.3 - Modificação química

4.3.1 - Determinação do grau de oxidação

As porcentagens de unidades glicosídicas oxidadas correspondem a diferença entre a quantidade molar de periodato adicionada e sua concentração final. Para as reações observou-se um consumo de praticamente todo o periodato de sódio (TABELA 13), confirmando que houve a oxidação. Resultado similar foi obtido com a oxidação da goma do cajueiro e do alginato de sódio (GOMEZ *et al.*, 2007; NETO, 2008).

Tabela 13- Reação de oxidação com NaIO_4 a 25 °C.

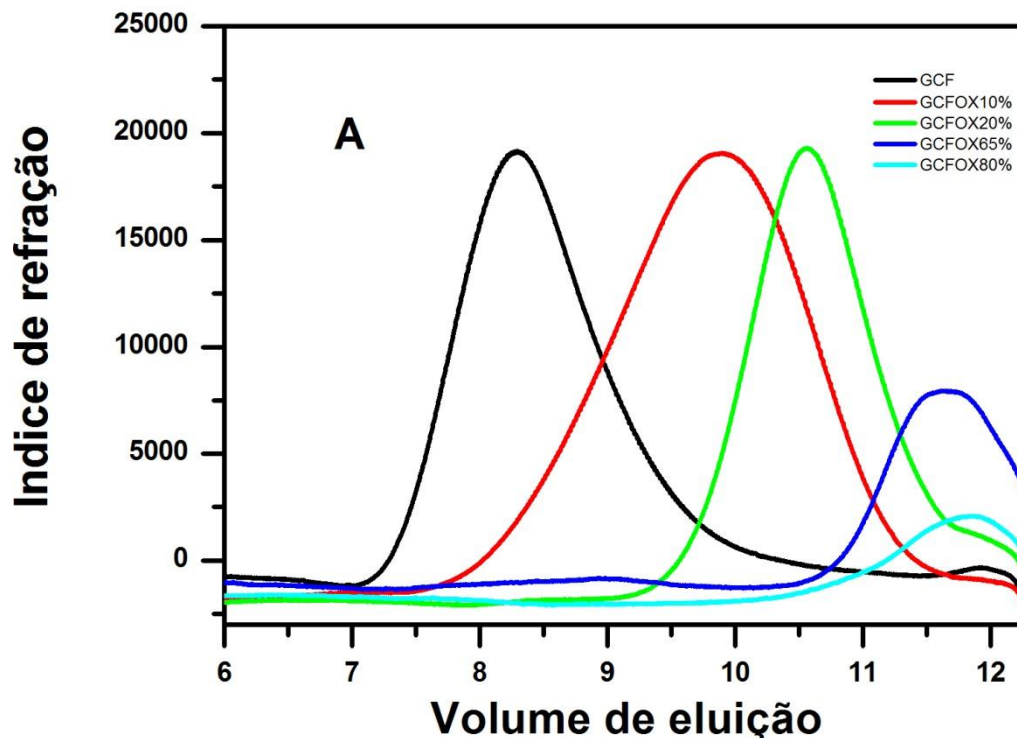
Grau de oxidação (%) ^(a)	Massa de IO_4^- (mol)		Grau de oxidação real (%) ^{(d)*}	Rendimento da GCF Oxidada (%) em massa
	Adicionado ^(b)	Consumido ^(c)		
80	$4,2 \times 10^{-3}$	$4,1 \times 10^{-3}$	78,4	77
65	$3,6 \times 10^{-3}$	$3,6 \times 10^{-3}$	64,3	80
50	$2,8 \times 10^{-3}$	$2,7 \times 10^{-3}$	49,5	98
20	$1,2 \times 10^{-3}$	$1,2 \times 10^{-3}$	19,9	81
10	$6,2 \times 10^{-4}$	$6,1 \times 10^{-4}$	9,9	73

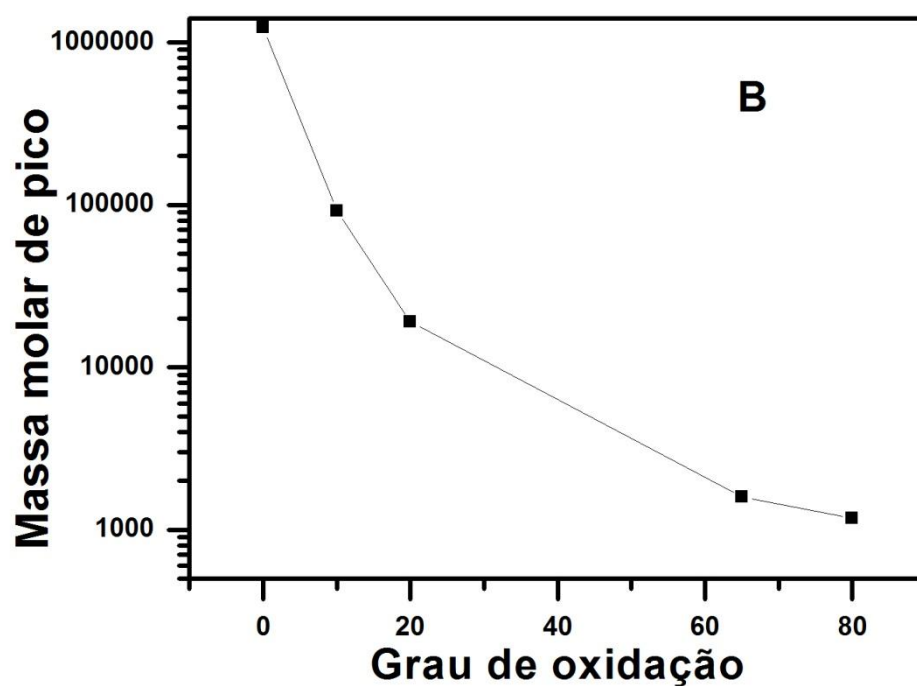
$$*d = \left(\frac{c}{b}\right) x(a)(100)$$

4.3.2 - Distribuição da massa molar

Ao analisar o cromatograma (Figura 24A), pode-se observar que as galactomananas modificadas apresentam um deslocamento para regiões de maiores tempos de retenção, indicando valores de massa molares menores. Os cromatogramas apresentam apenas um pico principal. Observa-se que a massa molar de pico (M_{pk}) e (M_w) diminui com o aumento do grau de oxidação (Figura 24B), o que pode ser justificado pela degradação do polissacarídeo durante a reação de oxidação. Resultados semelhantes foram observados para derivados oxidados da goma do cajueiro e do alginato de sódio (GOMEZ *et al.*, 2007; NETO, 2008).

Figura 24 - Perfil de eluição por cromatografia de permeação em gel (GPC) da amostra de GCF e seus derivados oxidados (A) e grau de oxidação versus massa molar de pico (B).





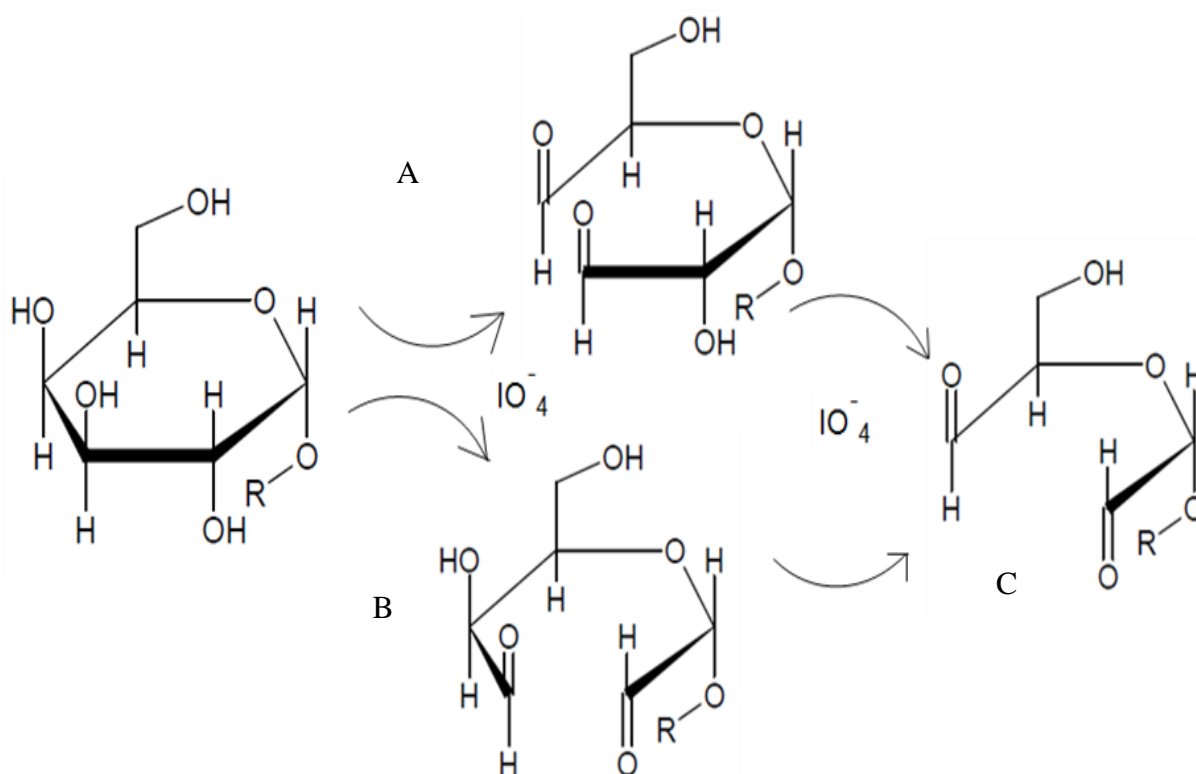
Os valores de M_w e M_{pk} para a GCF e GCFO estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14- Distribuição da massa molar da GCF e seus derivados oxidados.

Amostra	M_w	M_{pk}
GCF	$2,3 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$
GCFOX10%	$6,4 \times 10^4$	$2,6 \times 10^4$
GCFOX20%	$3,6 \times 10^4$	$1,9 \times 10^4$
GCFOX65%	$3,5 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$
GCFOX80%	$3,3 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$

Observa-se uma diminuição da massa molar na ordem de 10^2 da GCF para os graus de oxidação 10 e 20%. Essa redução elevada indica uma possível hidrólise devido a formação de ácido fórmico durante a reação. O ácido fórmico pode ser formado quando ocorre dupla oxidação em uma unidade glicosídica, como mostrado na Figura 25.

Figura 25 - Possíveis reações em unidades glicosídicas ligadas (1→6): (A) reação em C-3 e C-4; (B) Reação em C-3 e C-2; (C) Dupla oxidação. [Baseado em MAIA *et al.* 2011].

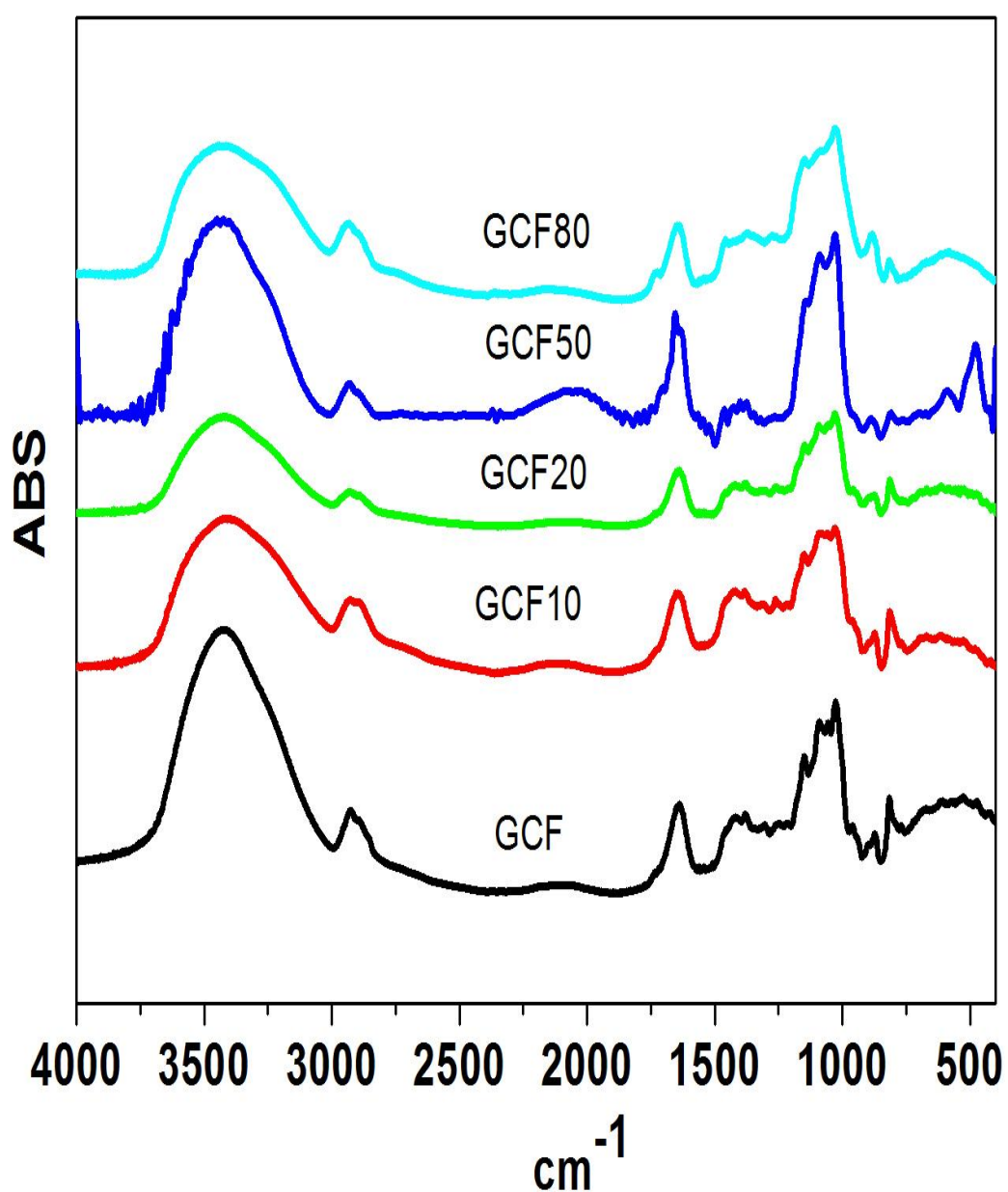


Para ocorrer dupla oxidação as unidades glicosídicas devem apresentar as hidroxilas em C-2, C-3 e C-4 livres. Nas galactomananas apenas as unidades de galactose apresentam todos esses carbonos livres, o que sugere a ocorrência de dupla ligação apenas nessas unidades. Com o aumento do grau de oxidação observa-se uma variação em menor escala quando se compara apenas os derivados. A formação de hemiacetais intra-residuais pode contribuir para estabilização da estrutura do polissacarídeo. (MICHEL, 1999; MAIA, 2011; KRISTIANSE, POTTHAST e CHRISTENSEN, 2010).

4.3.3 - Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros na região do infravermelho da galactomanana isolada de *Cassia fistula* (GCF) e seus derivados oxidados (GCFOX10%; GCFOX20%; GCFOX50%; GCFOX80%) são mostrados na Figura 26.

Figura 26 - Espectro na região do infravermelho da GCF e seus derivados oxidados (GCFOX10%; GCFOX20%; GCF50% e GCFOX80%) em pastilha de KBr.



Como é possível observar os espectros da GCF e seus derivados oxidados são bem parecidos. As principais bandas continuam presentes em todos os derivados oxidados, porém é difícil ver qualquer sinal referente a grupos aldeídos na amostra de GCFOX10%. Já nos espectros das amostras de GCFOX20%; GCFOX50% e GCFOX80% aparecem um pequeno ombro na região aproximada de 1700 cm^{-1} esse sinal faz referência ao estiramento do carbonil correspondente ao um grupo aldeído. Confirmando assim a oxidação das amostras. A baixa intensidade dos sinais em 1700 cm^{-1} pode ser atribuídos a formação de hemiacetais (BOUHADIR *et al.*, 1999)

4.3.4 - Análises reológicas

Todas as curvas da GCF oxidada apresentam comportamento não-newtoniano. A reação de oxidação degrada a galactomanana diminuindo sua massa molar, além de retirar os grupos hidrofílicos (OH), ocasionando uma baixa solubilidade em água e conseqüentemente diminuição de sua viscosidade, como pode ser observada na Figura 27.

Figura 27 - Análise reológica da GCF e seus derivados oxidados com concentração de 1% a 25°C .

A

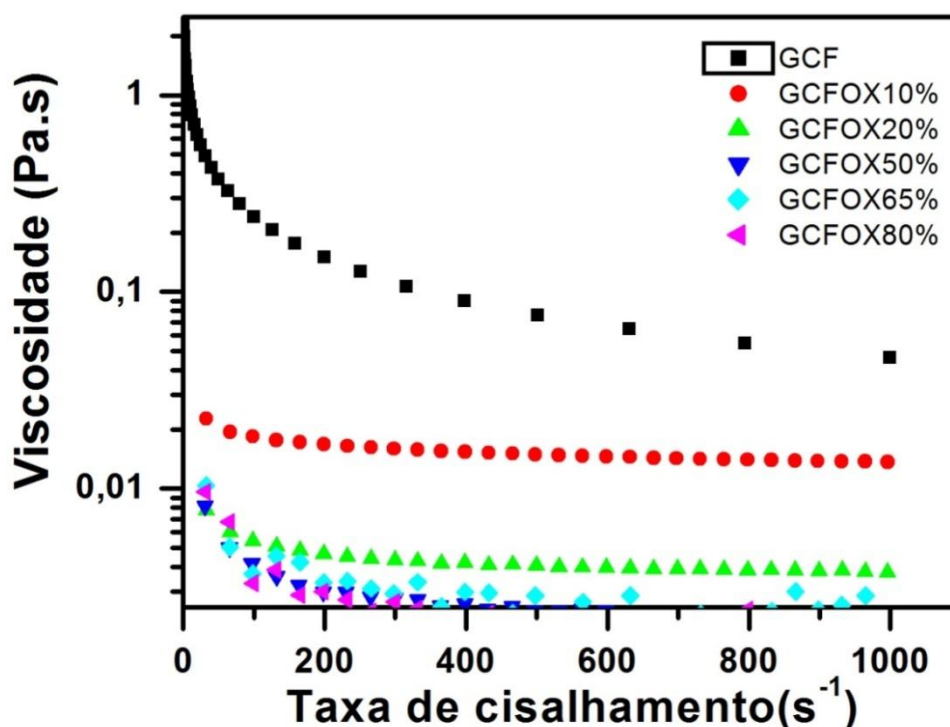


Tabela 15 apresenta os valores de viscosidade aparente a uma taxa de cisalhamento de 596 s^{-1} (região Newtoniana).

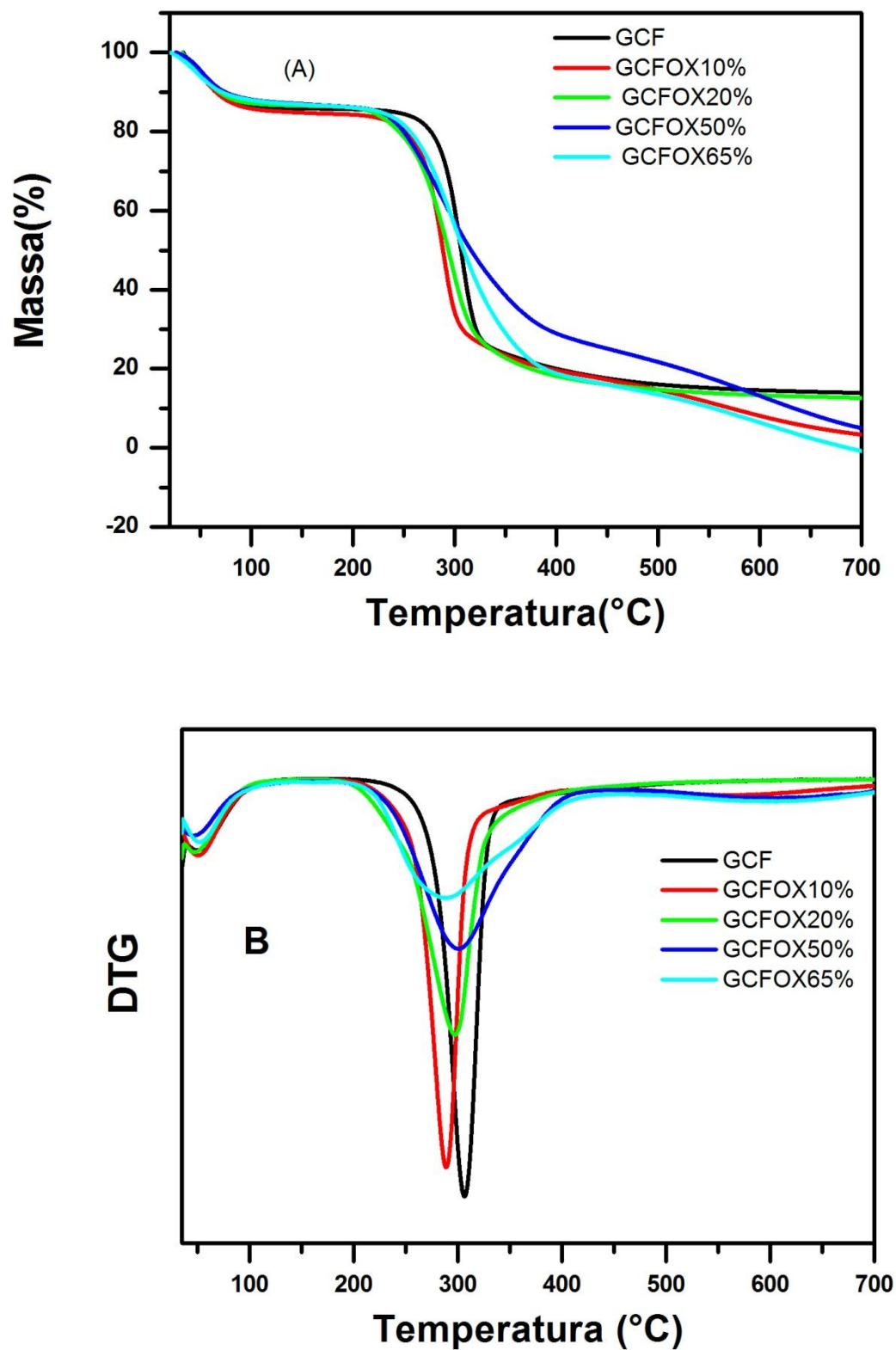
Tabela 15- Viscosidade aparente para a GCF e seus derivados oxidados em taxa de cisalhamento 596 s^{-1} .

Amostras	Viscosidade (mPa.s)
GCF	60,0
GCFOX10	14,0
GCFOX20	4,0
GCFOX 50	2,4
GCFOX 65	2,0
GCFOX80	1,7

4.3.5 - Análise térmica da GCF oxidada

As curvas termogravimétricas de TGA e DTG para GCF e seus derivados oxidados estão mostrados na Figura 28 em atmosfera de ar sintético.

Figura 28 - Curvas termogravimétricas (A) e DTG (B) das amostras de GCF e seus derivados oxidados obtidos em atmosfera de ar sintético de 25 a 700°C.



Os eventos térmicos mostrados pela análise termogravimétrica estão resumidos na Tabela 16. O primeiro evento refere-se à perda de água e a partir dele podemos calcular o teor de umidade das amostras, percebe-se que a oxidação interfere no teor de umidade, fazendo que esta aumente.

Tabela 16- Análise térmica da GCFP (sem modificação purificada em diálise) e seus derivados oxidados.

Amostras	Umidade (%)	T _{inicial} (°C)	Perda de massa (%)			Resíduo 600 (°C)	DTG		
			200 (°C)	320 (°C)	500 (°C)		Tm(I) (°C)	Tm(II) (°C)	Tm(III) (°C)
*GCFP	12	231	14,4	69,2	84	14,5	49,5	306	---
GCFOX10	15	213	15,8	72,8	85,2	8,11	53,5	289	569
GCFOX20	13	194	14,0	71,0	85,3	13,3	49,1	298	---
GCFOX50	13	221	14,0	51,5	78,3	13,5	49,2	301	626
GCFOX65	13	221	15,0	51,0	78,0	6,4	53,7	289	610

(*) GCF obtida a partir do processo 3.1, resolubilidade e dialisada contra água por 3 dias em seguida liofilizada.

4.3.6 - Ressonância magnética nuclear

Os espectros de RMN ¹H para a amostra não modificada e seus derivados oxidados são apresentados nas Figuras 29 e 30.

Figura 29- Espectros de RMN ^1H da (A) GCF e seus derivados oxidados (B) 10% e (C) 20%.

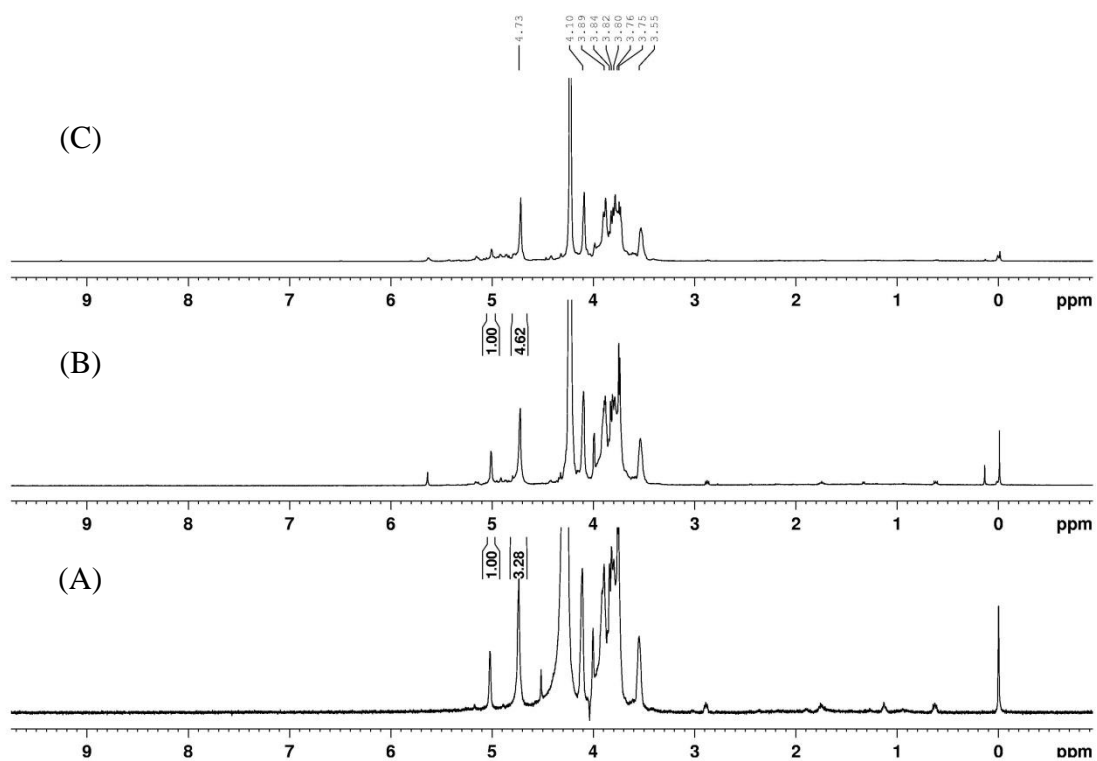
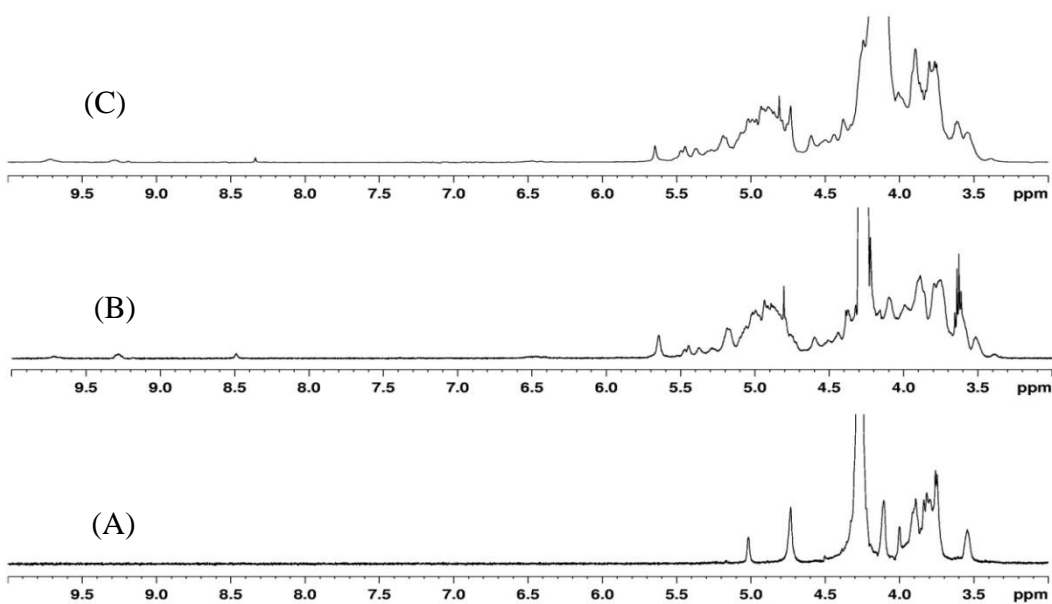


Figura 30- Espectros de RMN ^1H da (A) GCF e seus derivados oxidados (B) 50% e (C) 80%.

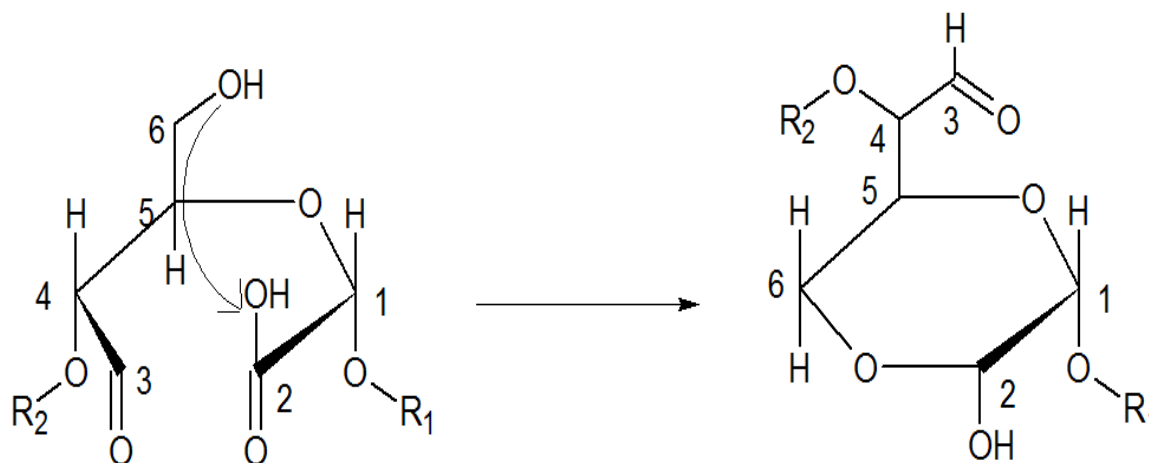


Os espectros de RMN ^1H mostraram que para as amostras até 20% (FIGURA 29) aparecem poucos novos sinais na região de anomérico, quando comparados com as amostras com grau de oxidação de 50 a 80% (FIGURA 30). A razão Man/Gal aumenta de 3,2 da amostra de GCF original para 3,3 e 4,6 nas amostras oxidadas 10 e 20%, respectivamente. Esse aumento indica que a oxidação ocorre preferencialmente nas unidades de galactose, as quais estão nas cadeias laterais.

Espectros semelhantes foram obtidos para dextrana oxidada mesmo com grau de oxidação de 15% (MAIA *et al.*, 2005). Gomez *et al.* (2007) reportaram que sinais entre δ 5,4 e 5,15 aparecem para o alginato oxidado com periodato e que esses sinais podem ser atribuídos a prótons de hemiacetais formados por aldeídos e hidroxilas vicinais.

A Figura 31 apresenta o esquema da formação de hemiacetais intra-residuais.

Figura 31- Formação do hemiacetalintra-residual.

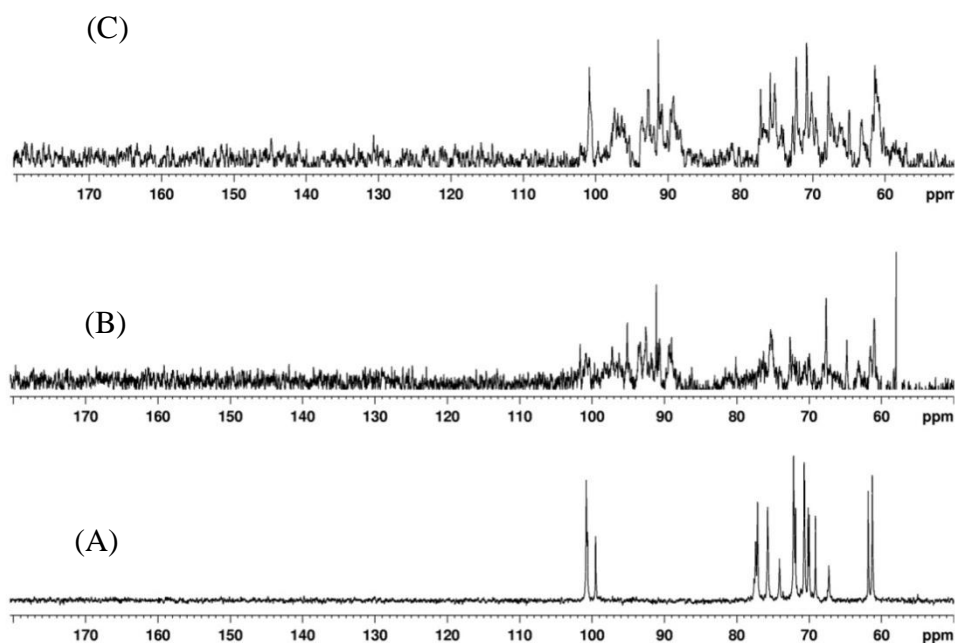


ADAPTADA DE BRUNELL, 1993.

Um sinal de baixa intensidade é observado para os derivados acima de 20% em δ 9,3 relativo ao próton de aldeído (MAIA *et al.*, 2005). Os sinais em δ 3,9 e 3,8 relativos a H-6 não substituído ainda aparecem para os derivados oxidados.

Os espectros de ^{13}C (FIGURA 32) também apresentam um grande número de sinais na região de anomérico de δ 100 a 90. Diante do grande número de sinais não foi possível distinguir aquele relativo ao próton anomérico da galactose. Para os derivados observa-se ainda um sinal em torno de δ 100,9 que pode ser atribuído a manose não-modificada. No entanto, para confirmar os dados serão realizados experimentos de RMN bidimensionais para os modificados.

Figura 32- Espectros de RMN ^{13}C da GCF e seus derivados oxidados: (A) GCF; (B) 50% e (C) 80%.



5 - CONCLUSÃO

Galactomanana pode ser obtida através da semente de *Cassia fistula*. O rendimento é comparável com aqueles reportados para galactomananas obtidas de outras sementes brasileiras. A galactomanana apresenta massa molar e viscosidade intrínseca $[\eta]$ de $2,3 \times 10^6$ g/mol e 9,73 dL/g, respectivamente. As análises dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C confirmam a estrutura básica de galactomanana com padrão de substituição coerente com a razão Man/Gal 3,2, valor bem próximo a razão Man/Gal encontrada para galactomanana da GL que foi de 3,5. A análise de espectroscopia da região do infravermelho mostrou bandas características de galactomanana corroborando assim com as análises de RMN. A viscosidade aparente da GCF tem um aumento considerável com o acréscimo da concentração do polissacarídeo na dispersão em água. A partir dos resultados das análises reológicas realizadas, concluiu-se que o galactomanana de *Cassia fistula* apresenta comportamento não-newtoniano com características pseudoplásticas, pois retorna as suas propriedades iniciais após ter sofrido uma taxa de deformação. Derivados oxidados com graus de oxidação de 10 a 80% foram obtidos por reação com periodato de sódio. As oxidações foram confirmadas através das análises de RMN ^1H e ^{13}C . A massa molar e viscosidade aparente diminuem com o aumento do grau de oxidação, indicando que a GCF foi degradada durante a reação.

A galactomanana de *Cassia fistula* (GCF) apresenta diversas propriedades físico-químicas semelhantes a galactomana da *Cerotonia siliqua* (locusta bean). Mostrando que a GCF pode ser uma nova fonte alternativa de galactomanana, podendo até ser parcialmente substituta da GL. Outro fator importante que favorece a aplicação industrial desse polissacarídeo como potencial fonte de galactomanana, é não necessitar de importação favorecendo assim o custo-benefício de produção. O que pode atrair o interesse das indústrias na produção e comercialização deste produto promovendo a geração de renda.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, R. F.; MOREIRA, R. A.; MONTEIRO, A. C. O. XXXV Reunião Anual da SBBq, Águas de Lindóia, **2006**.

ALICE WEB. Disponível em <<http://www.aliceweb.desenvolvimento.gov.br>>. Acesso em: 25 de fev. de **2012**.

ANDRADE, C. T.; AZERO, E. G.; LUCIANO, L.; GONÇALVES, M. P. Solution properties of the galactomannans Extracted from the seeds of *Caesalpinia pulcherrima* and *Cassia javanica*: comparison with locust bean gum. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 26, p. 181, **1999**.

AZERO, E. G.; ANDRADE, C. T. Testing procedures for galactomannan purification. *Polymer Testing*, v. 21, p. 551, **2002**.

BLUMENKRANTZ, N.; ASBOE-HANSEN, G. New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry*, v. 54, p. 484, **1973**.

BOSCH, C. H. *Cassia fistula* L. Record from Protabase. Schmelzer, G.H. & Gurib Fakim, A. (Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands. 2007. <<http://database.prota.org/search.htm>>. Acesso em: 24 Jun. de **2011**.

BOURBON, A.I.; PINHEIRO, A.C.; RIBEIRO, C.; MIRANDA, C.; MAIA, J.M.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. Characterization of galactomannan extensional rheology: comparison with guar gum and locust bean gum. *Food Hydrocolloids*, v. 24, p. 184-192, **2010**.

BOUHADIR, K.H, HAUSMAN, D.S.; MOONEY, D.J. Synthesis of cross-linked poly (aldehyde guluronate) hydrogels. *Polymer*, v. 40, p. 3575, **1999**.

BRUNEEL, D.; SCHACHT, E. Chemical modification of pululan .1.periodate oxidation. *Polymer*, v. 34, p. 2628, **1993**.

BUKERIDGE, M.S.; PANEGASSI, V. R.; ROCHA, D.C.; DIETRICH, S. M. C. Seed galactomannan in the classification and evolution of the leguminosae. *Phytochemistry*, v. 38, p. 871, **1995**.

CANEVAROLO, S. V. *Técnicas de Caracterização de Polímeros*. Editora Artliber. 1º edição. **2004**.

CATALOGUE OF LIFE. Disponível em: < <http://www.catalogueoflife.org/details/species/id/615198> >. Acesso em: 22 jun de **2011**.

CLOSS, C.B.; CONDE-PETIT, B.; ROBERTS, I. D.; TOLSTOGUZOV, V. B.; ESCHER, F. Phase separation and rheology of aqueous starch/galactomannan systems. *Carbohydrate Polymers*, v. 39, p. 67, **1999**.

CORRÊA, M. P. Dicionário de plantas úteis do Brasil e exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: MA/IBDF, v.1, p. 747, **1984**.

CUNHA, P. L. R.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA J. P. A. Purification of guar gum for biological applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 41, p. 324, **2007**.

CUNHA, P. L. R.; VIEIRA, I. G. P.; ARRAIAGA, A. M. C.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA J. P. A. Isolation and characterization of galactomannan from *Dimorphandra gardneriana* Tul. seeds as a potential guar gum substitute. *Food Hydrocolloids*, v. 23, p. 880, **2009**.

DAAS, P. J. H., SCHOLS, H. A., & de JONGH, H. H. J. On the galactosyl distribution of commercial galactomannans. *Carbohydrate Research*, v. 329, p.609, **2000**.

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

DAKIA, P. A.; WATHELET, B.; PAQUOT, M. Isolation and chemical evaluation of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seed germ. *Food Chemistry*, v. 102, p. 1368, **2007**.

DEA, I. C. M.; MORRISON A. Chemistry and interactions of seed galactomannans. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, v. 31, p. 241, **1975**.

DEBON, S.; TESTER, R. In vitro binding of calcium, iron and zinc by non-starch polysaccharides. *Food Chemistry*, v. 73, p. 401, **2001**.

ELIAS, H.-G. An introduction to polymer science. Weinheim, Germany: VCH. p. 201, **1997**.

FERNANDES, C. A. D.; NAKASHIMA, T.; SERRA, G. E. Novas Contribuições ao Estudo da Galactomanana Bruta extraída de Sementes de *Senna spectabilis* DC. *Acta. Farmaceutica. Bonaerense*, v. 23, p. 353, **2004**.

FIGUEIRO, S. D.; GOES, J. C.; MOREIRA, R. A.; SOMBRA, A. S. B. On the physicochemical and dielectric properties of glutaraldehyde cross linked galactomannan-collagen films. *Carbohydrate Polymers*, v. 56, p. 313, **2004**.

FRANCISCO CLAMONTE. Disponível em: < <http://obotanicoaprendiznaterradose>

spnatos.blogs pot.com.br/2009/11/alfarrobeira-ceratonia-siliqua.html> acesso em: 25 nov. de **2012**.

GAINSFORD, S. E., HARDING, S. E., MITCHELLI, J. R., E BRADLEY, T. D. A comparison between the hot and cold water soluble fractions of two *locust bean* gum samples. *Carbohydrate Polymers*, v. 6, p. 423, **1986**.

GRASDALEN, H.; PAINTER, T. NMR studies of the composition and sequence in legume-seed galactomannans. *Carbohydrate Research*, v.81, p. 59-66, **1980**.

GOMEZ, C. G.; RINAUDO, M.; VILLAR, M. A. Oxidation of sodium alginate and characterization of the oxidized derivatives. *Carbohydrate Polymers*, v. 67, p. 296, **2007**.

GUO, B.; ELGSAETER, A.; STOKKE, B. T. Gelation kinetics of scleraldehyde chitosan co-gels. *Polymer Gels and Networks*. v. 6, p.113, **1998**.

HERBÁRIO FLORESTAL. Disponível em:< http://w3.ufsm.br/herbarioflorestal/especie_detalhes.php?nome_filtrado=cassia_imperial_cassia-fistula_chuva_de_ouro > acesso em: 16 jun. de **2011**.

JOSHI, H.; KAPOOR, V. P. *Cassia grandis* Linn.f. seed galactomannan: structural and crystallographical studies. *Carbohydrate Research*, v. 338, p. 1907, **2003**.

JUAZEIRO - Base de dados de árvores ornamentais. Disponível em:<<http://juazeiro.cnip.org> > Acesso em: 13 mar. **2010**.

KAPOOR, V. P.; MILAS, M.; TARAVEL, F. R.; & RINAUDO, M. Rheological properties of a seed galactomannan from *Cassia nodosa* buch-hem. *Carbohydrate Polymer*, v. 25, p. 79-84, **1994**.

KAPOOR, V. P.; MILAS, M.; TARAVEL, F. R.; & RINAUDO, M. Rheological properties of a seed galactomannan from *Cassia simealamk*. *Food Hydrocolloids*, v. 10, p. 167-172, **1996**.

KAPOOR, V. P.; TARAVEL, F. R.; JOSELEAU, J. P.; MILAS, M.; CHANZY, H.; & RINAUDO, M. *Cassia epectabilis* DC seed galactomannan: structural, crystallographical and rheological studies. *Carbohydrate Research*, v. 306, p. 231, **1998**.

KAPOOR, V. P.; PANDEY, K.; KHANNA, M.; DWIVEDI, A. K.; SINGH, S. In Pharmaceutical Application of Galactomannan from the Seeds of *Cassia javanica* Linn; Soni, P. L.; Kumar, V., Eds. *Trends in Carbohydrate Chemistry*, v. 5, p. 61, **1999**.

KHOUNVILAYA, K.; SITTIKIYOTHINB, W. Viscoelastic Properties of Galactomannan Solutions. *Advanced Materials Research*, v. 93, p. 599, **2010**.

KRISTIANSEN, K. A.; POTTHAST, A.; CHRISTENSEN, E. B. Periodate oxidation of polysaccharides for modification of chemical and physical properties. *Carbohydrate Research*, v. 345, p. 1264, **2010**.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. Principios de bioquímica. 4a.ed. São Paulo: Sarvier, p. 1202, **2006**.

LUCYSZYN, N.; QUORIN, M.; KOEHLER, H. S.; REICHER, F.; SIERAKOWSKI, M. R. Agar/galactomannanblends for strawberry (*Fragaria x ananassa* Duchesne) cv. Pelican micropropagation *Science Horticulturae*, v. 4, p. 358, **2006**.

LUCYSZYN, N.; REICHER, F.; SIERAKOWSKI, M.-R. Carbohydrate Research at the UFPR. *Metals Materials And Processes*, Índia, v. 17, p. 173, **2005**.

MAIA, J.; CARVALHO R. A.; COELHO J. F.J.; SIMÕES P. N.; GIL M. H. Insight on the periodate oxidation of dextran and its structural vicissitudes. *Polymer*, v. 52, p. 258, **2011**.

MAIA, J.; FERREIRA, L.; CARVALHO, R.; RAMOS, A. M.; GIL, M. H. Synthesis and characterization of new injectable and degradable dextran-based hydrogels. *Polymer*, v. 46, p. 9604. **2005**.

MANJOOSHA, C.; KAPOOR, P. Structure of a galactomannan from the seeds of *Cassia angustifolia Vahl*. *Carbohydrate Research*, v. 332, p. 493, **2001**.

MATUDA, T. G.; NETTO, F. M. Caracterização química parcial do jatobá-do serrado (*Hymenaeastigonocarpa Mart.*) *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, p. 353, **2005**.

MESQUITA, J. C.; SANTANA, A. A.; REIS, M. C.; LIMA, H. S.; SILVA, A. M.; REIS, T. M.; SOARES, G. M.; MUNIZ, W. F.; GARROS-ROSA, I. *VI Reunião Regional Nordeste SSBq*, Fortaleza, **2002**.

MICHEL, R. C. Processos de dissolução, agregação e degradação em polímeros hidrossolúveis – Acompanhamento por Difractometria Diferencial e por Espalhamento de Luz. Rio de Janeiro, Tese de Doutorado em Ciências – UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO **1999**.

MONTEIRO, A. S. A. Síntese e Caracterização de Géis de Galactomanana de Fava Danta (*Dimorphandra gardneriana*) para Aplicação Biológica. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Ceará, **2009**.

NETO, E. M. desenvolvimento de Novos Materias à base de Goma do Cajueiro (*Anacardium occidentale*): Derivados e Microesferas com Gelatina. Dissertação (Mestrado em química) - Universidade Federal do Ceará. **2008**.

NISHI, K. K.; JAYAKRISHNAN, A. Self-gelling primaquine-gumarabic conjugate: an injectable controlled delivery system for primaquine. *Biomacromolecules*, v. 8, p. 84, **2007**.

ONO, L.; WOLLINGER, W.; ROCCO, I. M.; COIMBRA, T. L. M.; GORIN, P. A. J.; PEPPAS, N.A.; KHARE, A. R. Preparation, Structure and Diffusional Behavior of Hydrogels in Controlled Release. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 11, p.1, **1993**.

PERLIN, A. S.; CASU, B. The polysaccharide, ed. Aspinall G. O., Academic Press/ 131, **1982**.

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

ROBINSON, G.; ROSS-MURPHYS. B.; MORRIS, E. R. Viscosity-molecular weight relationships, intrinsic chain flexibility, and dynamic solution properties of guar galactomannan. *Carbohydrate Research*, v.107 p.17, **1982**.

SANTOS, E. Nossas Madeiras. Belo Horizonte: Itatiaia. *Coleção Vis Mea in Labore*.v.7, p. 313, **1987**.

SEAMAN, J. In: Handbook of Water-Soluble Gums and Resins, R. Davidson, ed., McGraw-Hill Book Company, **1980**.

SIERAKOWSKI, M. R.; FREITAS, R. A.; FUJIMOTO, J.; PETRI, D. F. S. Adsorption behavior of oxidized galactomannans onto amino-terminated surfaces and their interaction with bovine serum albumin. *Carbohydrate Polymers*, v. 49, p. 167, **2002**.

SIERAKOWSKI, M. R.; MILAS, M.; DESBRIÈRES, J.; RINAUDO, M. Specific modifications of galactomannans. *Carbohydrate Polymers*, v. 42, p. 51, **2000**.

SOLKOLSKY – PAPKOV, M.; DOMB, A. J.; GOLENSER, J. Impact of Aldehyde content on amphotericin B-dextran imine conjugate toxicity. *Biomacromolecules*, v. 7, p. 1529, **2006**.

SOUZA, C. F. Galactomannans de sementes de *Caesalpinia férrea* var. *férrea*: Estrutura, Modificação Química e Caracterização de Propriedades. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Paraná, **2009**.

SOUZA, C. F.; LUCYSZYN, F.; FERRAZ, A.; SIERAKOWSKI, M. R. *Caesalpinia ferrea* var. *ferrea* seeds as a new source of partially substituted galactomannan. *Carbohydrate Polymer*, v. 82, p. 641, **2010**.

SRIVASTAVA, M.; KAPOOR, V. P. Seeds galactomannans: an overview. *Chemistry and Biodiversity*, v. 2, p. 295, **2005**.

SUGUI, J. A. Aplicação de galactomanana de *Mimosa scabrella* (Bracatinga): Interação com surfactantes e proteína. (Dissertação de Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, **1994**.

SUMATHI, S.; ALOK, R. R. Release behavior of drugs from Tamarind Seed Polysaccharide tablets. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. v. 5, p.12, **2002**.

TAVARES, G. A. Estrutura e propriedades Físico-Químicas da Galactomanana de Sementes de *Cassia fastuosa*, Willd (Cássia). Dissertação de Mestrado em Bioquímica, Universidade Federal do Paraná **1994**.

TOMAZONI, J. C.; MANTOVANI, L. E.; BITTENCOUR, A. V. L.; FILHO, E. F. R. Utilização de medidas de turbidez na quantificação da movimentação de sólidos por veiculação híbrida nas bacias dos rios anta, brinco, coxilha rica e jirau Sudeste do Estado do Paraná. *Boletim Paranaense de Geociências*, n. 57, p. 49, **2005**.

VARMA, A. J.; KOKANE, S. P.; PATHAKB, G.; PRADHAD, S. D. Thermal behavior of galactomannan guar gum and its periodate oxidation products. *Carbohydrate Polymers*, v. 32, p. 111, **1997**.

VEERLAERT, S.; DE WIT.; GOTLIEB, K. F., VERHÉ, R. The gelation of dialdehyde starch. *Carbohydrate Polymers*, v. 32, p.131, **1997**.

WANG, J.; SOMASUNDARAN, P. Study of galactomannose interaction with solids using AFM, IR and allied techniques. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 309, p. 373, **2007**.

WHISTLER, R. L. Solubility Of Polyssaccharides And Their Behaviour In Solution. In: Carbohydrates In Solution. *Acs Advances In Chemistry Series*, v.117, p. 242, **1973**.

WHISTLER, R. L.; MILLER, J. N. Industrial Gums: Polysaccharides and their derivatives. New York: *Academic Press*, p. 53, **1993**.

YU, H.; XIAO, C. Synthesis and properties of novel hydrogels from oxidized konjac glucomannan crosslinked for in vitro drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, v. 72, p. 479, **2008**.