

# EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS POLISSACARÍDEOS DE *Leucaena leucocephala* (Lam.) DE Wit

Ivone Garros Rosa<sup>1</sup>, Nêuton Silva Souza<sup>2</sup>, Andressa Almeida Santana<sup>3</sup>, Hermínio de Sousa Lima<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada, Departamento de Patologia da Universidade Federal do Maranhão - UFMA.

<sup>2</sup> Departamento de Química e Biologia, Centro de Educação, Ciências Exatas e Naturais, Universidade Estadual do Maranhão - UEMA.

<sup>3</sup> Faculdade Pitágoras Unidade São Luís.

<sup>4</sup> Departamento de Enfermagem, Centro de Estudos Superiores de Presidente Dutra, Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, Cidade Universitária Paulo VI, caixa postal 09, Tirirical, São Luís - Maranhão – Brasil, e-mail: herminiolima@yahoo.com.br.

## RESUMO

A *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit é uma Mimosasea, cujas sementes são ricas em polissacarídeos que sugerem a predominância de galactose e manose. Esses polissacarídeos possuem características específicas, tais como: teor de umidade 8,8%, teor de cinzas 7,51%, índice de refração variando de 1.335° a 1.338,75° e a capacidade de formar géis e soluções coloidais às quais poderão ser utilizados nos mais variados ramos da indústria de alimento, farmacêutica, têxtil, médica, cosmético, papel e mineração.

Palavras-chave: físico-química, galactomananas, *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit, polissacarídeos.

## ABSTRACT

The *Leucaena leucocephala* (Lam.) of Wit it is a Mimosasea, that whose seeds are rich polysaccharides that suggest the galactose predominance and mannose. Those polysaccharides possess specific characteristics, such as: humidity tenor 8,8%, tenor of ashes 7,51%, refraction index varying of the 1.335° the 1.338,75° and the capacity to form gels and solutions colloidal to which will be able to be used in the most varied branches of the food industry, pharmaceutical, textile, doctor, cosmetic, paper and mining.

KEY WORDS: *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit, polysaccharides, galactomannans and physical-chemistry

## INTRODUÇÃO

As gomas são hidrocolóides vegetais naturais que podem ser classificadas como polissacarídeos aniônicos, não iônicos ou como sais de polissacarídeos apresentando um caráter translúcido e amorfo frequentemente produzido por plantas superiores como proteção após uma agressão externa. (ROBBERS et al., 1997; COSTA 1994; BUCKERIDGE et al., 2000).

As gomas endospermicas são polissacarídeos que hidratam facilmente com água fria ou quente, formando dispersões coloidais, soluções altamente viscosas ou até mesmo géis (COSTA et al., 1996).

As angiospermas apresentam diferentes estratégias de adaptação aos variados tipos de ambientes, entre os quais se encontra o acúmulo de certos compostos de reservas (proteínas, ácidos nucleicos, carboidratos e lipídeos) em suas sementes. Dentre as principais substâncias armazenadas pelas plantas, muitos polímeros de carboidratos foram selecionados durante a evolução como compostos de reserva, as mananas, as xiloglucanas e as arabinogalactanas, sendo os monômeros subdivididos em mananas puras, glucomananas e galactomananas (BUCKERIDGE et al., 2000).

As galactomananas são polímeros que ocorrem principalmente nos endospermas das sementes das leguminosas, sendo elas formadas por cadeias lineares tipo  $\beta$ -1,4-D-manopiranosídeo com unidades ligantes tipo  $\alpha$ -1,6-D-galactopiranosídeo (VIEBKE et al., 1996; AZERO et al., 1997; SCHORSCH

et al., 1997; GANTER et al., 1999, GARROS-ROSA et al., 2006). Estão presentes em 13 famílias vegetais: Annonaceae, Compositae, Convolvulaceae, Ebenaceae, Mimosaceae, Caesalpinaceae, Fabaceae, Lagoniaceae, Malvaceae, Palmae, Solanaceae, Tiliaceae, Umbelliferae e possivelmente nas Cuscutaceae (SCHERBUKHIN et al., 1999). As galactomananas das diferentes espécies diferem com respeito à proporção entre os resíduos de D-manose e D-galactose na molécula, bem como os teores destes compostos nas sementes, sendo inclusive proposta a sua utilização como caráter quimiotaxonômico (SONI et al., 1985; BUCKERIDGE et al., 1987; BUCKERIDGE et al., 1995).

A relação entre manose/galactose é uma das principais características bioquímicas das galactomananas, as variações dos monômeros proporcionam diferentes propriedades físico-químicas à estrutura formada (variação na densidade, solubilidade e viscosidade das soluções) (SCHERBUKHIN et al., 1999; SCHORSCH et al., 1997; GANTER et al., 1999; ANDRADE et al., 1999; AZERO et al., 2002).

A *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit (leucena), pertencente à família Mimosoideaceae, é originária da América Central e México (FREITAS et al., 2001). É muito cultivada em várias partes do mundo, tendo se tornada subspontânea em algumas regiões. No Nordeste do Brasil se apresenta como um arbusto ou árvore com folíolos numerosos, flores alvas agrupadas na extremidade dos pedúnculos das

inflorescências. Os frutos são típicos legumes marrons, planos, lineares; sementes marrons, comprimidas. (SIQUEIRA, 1992; PIRES et al., 2001).

As diversas propriedades reológicas das galactomananas determinam o seu uso como espessante, emulsificante e estabilizante de diversos sistemas, sendo utilizado na formação de gel e como componente de misturas binárias (SCHERBUKHIN et al., 1999; MIYOSHI et al., 1996; BIANCHI et al., 1997; MERCÊ et al., 2001). As galactomananas são bastante utilizadas nas mais diversas formas nas indústrias de alimento, farmacêutica, médica, cosmético, papel, têxtil e mineração (NEUKOM, 1989; BAVEJA et al., 1991; GARCIA et al., 1992; VIEBKE et al., 1996; GANTI et al., 1997; AZERO et al., 1997; PETKOWICZ et al., 1998; SCHERBUKHIN et al., 1999). Revelando a diversidade na sua aplicação, as galactomananas formam um grupo polissacarídeo de especial interesse para a ciência aplicada.

A proposta deste trabalho é obtermos os polissacarídeos de *L. leucocephala* e estudarmos as suas propriedades físico-químicas.

## MATERIAIS

### 2.1. Amostragem

#### 2.1.1. Sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit

As sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit foram coletadas em São Luís Maranhão, - Universidade Federal do Maranhão, Campus do Bacanga -

no período de março a junho de 2002 e identificadas pelo Herbário Aprisco Viana da Universidade Federal do Ceará, nº 1065.

## MÉTODOS

### 3.1 Sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit

#### 3.1.1. Determinação das características morfológicas (largura, comprimento, espessura e peso médio).

As características morfológicas das sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit foram obtidas pela média dos valores para uma amostragem de 100 sementes. Para isto utilizaram-se instrumentos como balança analítica e paquímetro.

#### 3.2. Determinação das propriedades físico-químicas.

##### 3.2.1. Teor de umidade.

Uma amostra (5 g) foi pesada e submetida à temperatura de 105 °C por 5 horas. Em seguida obtiveram-se várias pesagens até peso constante (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1977).

A relação entre o peso final e o peso inicial foi expressa em porcentagem.

##### 3.2.2. Teor de cinza.

Uma amostra equivalente a 3 g de sementes moída, foi submetida a uma temperatura de 600 °C em mufla por 1 hora, em seguida a amostra foi transferida para um dissecador até atingir a temperatura ambiente, quando se procederam as

pesagens em balança analítica, até que houvesse entre as duas pesagens sucessivas peso constante. O teor de cinzas foi calculado e expresso em porcentagem (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1977).

### 3.2.3. Índice de refração.

As análises foram realizadas em um refratômetro “Abbe de Projeção – modelo WY1A”, utilizando soluções de polissacarídeos de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit nas concentrações de 1 e 5 % à temperatura de 26 °C, as quais foram observadas as seguintes características: caráter da solução e índice de refração.

### 3.3. Obtenção dos polissacarídeos.

#### 3.3.1. Isolamento dos endospermas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit

Uma amostra definida por 100 g de sementes (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) foi submetida à temperatura de 100 °C, em 500mL de água destilada, por 20 minutos. Após esse tempo as sementes permaneceram em repouso em água destilada a 25 °C por 24 horas, só então os endospermas dessas sementes foram obtidos e acondicionados sob refrigeração para posterior utilização (SILVA, 2002).

#### 3.3.2. Extração dos polissacarídeos de *Leucaena leucocephala*.

Os endospermas (14 g) de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit foram submetidos à extração exaustiva com água destilada à temperatura de 25 °C por 20 minutos, em seguida o material obtido foi

filtrado e precipitado com etanol à 95 % na proporção de 1:2 (v/v), obtendo-se um precipitado (polissacarídeos), que foi centrifugado, desidratado com etanol PA e/ou acetona PA (SCHERBUKHIN et al., 1999).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit apresentaram características morfológicas distintas de sua espécie, fato constatado pela pequena variação em seu tamanho e peso. As medidas médias observadas para 100 sementes foram: comprimento 8,82 mm; largura 5,50 mm; peso 55,50 mg.

O teor de umidade quando analisado nas sementes resultou em 8,8 %, onde se constatou uma menor variação da umidade se comparada a outras espécies como a *Adenanthera pavonina* 10,78 % (TAVARES, 1998); *Parkinsonia aculeata* 10,1 % (GARROS-ROSA, 2000; GARROS-ROSA et al., 2006); *Caesalpinia pulcherrima* 9,03 % (BRAGA, 2001). Possivelmente esta baixa concentração de água seja graças às características morfológicas em sua testa, que é revestida por uma cutícula impermeável impedindo a entrada de líquidos e proporcionando uma maior adaptação a ambientes pobres em água, graças a sua adaptabilidade, a *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit é bastante empregada na cultura bovina como alimentação alternativa em períodos de estiagem (SIQUEIRA, 1992).

A caracterização da matéria inorgânica (teor de cinza) presente nas sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.)

de Wit representa 7,51 % do peso da semente madura.

Mercê et al. (2001) ao estudarem a habilidade da galactomanana de *Leucaena leucocephala* em se complexar com íons metálicos ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ) observou que, a presença da matéria inorgânica nas sementes é resultado dos íons inseridos nas estruturas glicídicas presente nas sementes, formando complexos responsáveis pelas diversas propriedades reológicas dos polissacarídeos (COSTA et al., 1996). Esta capacidade das galactomananas e arabinogalactanas de formarem quelatos com íons metálicos é de grande interesse para as indústrias de alimentos, as quais visam o enriquecimento dos alimentos com íons essenciais à dieta alimentar. Vários monossacarídeos, incluindo galactose e manose formam complexos com íons de ferro (III), que em solução apresentam-se como mononucleares (1:1) ou dinucleares (1:2) na presença de pH elevado (MERCÊ et al., 2001).

O endosperma gomoso essencialmente polissacarídeo 37,4 mg/g representa (17 %) do peso total da semente, o que se aproxima dos dados encontrados por Anderson (1949), quando estudou quatro espécies de *Leucaena* sp. Este autor observou que elas apresentavam a quantidade de endosperma correspondente à cerca de 15 % das sementes. Com relação à estrutura fina sabe-se que os polissacarídeos de *Leucaena leucocephala* sugerem ser galactomananas (polímeros de cadeia principal constituída de manose com ramificações de galactose), a literatura apresenta para a *Leucaena leucocephala* uma razão manose/galactose de 1:5, com um rendimento de 10,4 % de polissacarídeos extraídos (BUCKERIDGE

et al., 2000; SCHERBUKHIN et al., 1999). Unrau (1961), estudando a estrutura da galactomanana de *Leucaena glauca*, observou uma proporção de aproximadamente 1,3:1 entre os resíduos de D-manose e D-galactose. Uma proporção de 1,6:1 foi encontrada por McCleary (1979) num estudo sobre a estrutura molecular e propriedades de interação da galactomanana de *Leucaena leucocephala* com outro polissacarídeo (xantano) (BUCKERIDGE et al., 1987).

Uma das propriedades das galactomananas é que em contato com a água formam soluções altamente viscosas, e as propriedades do polímero em solução, são controladas pelas características moleculares tais como peso molecular e estrutura química (ANDRADE et al., 1996). Soluções de carboidratos de *L. leucocephala* em água destilada a temperatura ambiente foram analisadas - em um refratômetro ABBE de Projeção, modelo WY1A - utilizando soluções de 1 e 5 % . Na solução a 1% foi observado um caráter colóide e na solução a 5 % constatou-se a formação de gel, os quais apresentaram índices iguais a 1.335 ° e 1.338,75 ° respectivamente. Muito embora se comparado os resultados de índice de refração da *L. leucocephala* com o trabalho de (SIQUEIRA, 2005) a qual analisou polissacarídeos de *Parkinsonia aculeata*, nas concentrações de 1 e 5 %, ambos os trabalhos apresentaram resultados semelhantes para características morfológicas e índice de refração.

Diferenças nos resultados observados para amostras de uma mesma espécie por diferentes autores têm sido atribuídas a variações genéticas ou ambientais para as proporções entre os monossacarídeos e

variações metodológicas ou de grau de maturação com relação aos teores do polímero nas sementes (BUCKERIDGE et al., 1987).

## CONCLUSÃO

Os polissacarídeos de *Leucaena leucocephala* apresentaram características bem próximas às encontradas por outros autores, porém vale ressaltar que por se tratar de uma planta adaptada a regiões áridas torna-se de grande valor para nossa região – nordeste brasileiro – como uma fonte alternativa de matéria-prima para a indústria de alimento, farmacêutica, têxtil, médica, cosmético, papel e mineração.

## AGRADECIMENTOS

A FAPEMA (Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Tecnológico do Estado do Maranhão); CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e aos laboratórios – NIBA (Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada), LaboHidro (Laboratório de Hidrologia), LPQA (Laboratório de Pesquisa em Química Analítica) da Universidade Federal do Maranhão pelo apoio técnico-científico.

## REFERÊNCIAS

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. 181-185, 1999.

ANDRADE, C. T.; CAVALCANTE, T. A.; MONTE, A. D. M. O. A.; FREITAS, L. C. Mercado de hidrocolóides no Brasil. *Revista de Química Industrial*, n.64, p.14-18, 1996.

ANDERSON, F. Endosperm mucilage of legume occurrence and composition. **Ind. & Eng. Chem.** v. 41, p. 2887-2890, 1949, citado por (BUCKERIDGE, et al., 1987).

AZERO, E. G.; ANDRADE, C. T. Testing procedures for galactomannan purification. **Polymer Testing**. v. 21, p. 551-556, 2002.

AZERO, E. G.; LOPES, L. L.; ANDRADE, C. T. Extraction and solution properties of the galactomannan from the seeds do *Cassia javanica* L. **Polymer Bulletin**. v. 39, p. 621-625, 1997.

BAVEJA, S. K.; RANGA RAO, K. V.; ARORA, J. Chemical investigations of some galactomannan gums as matrix tablets for sustained drug delivery. *Indian Journal of Chemistry*, v. 308, p. 133-137, February, 1991.

BIANCHI, E.; MARSANO, E.; TACCHINO, A. Thermoreversible gels of chitin. *Carbohydrate Polymers*, v. 32, p. 23-26, 1997.

BRAGA, R. S. *Goma endospermica de Caesalpinia pulcherrima utilização como matriz de afinidade no isolamento de lectinas galactose ligante*. 2001. 89 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

- BUCKERIDGE, M. S.; DIETRICH, S. M. C.; LIMA, D. U. Galactomannans as the reserve carbohydrate in legume seeds. *Carbohydrate Reserves in Plants – Synthesis and Regulation*, v. 26, p. 283-315, 2000.
- BUCKERIDGE, M. S.; DIETRICH, S. M. C.; MALUF, A. M. Galactomanano de sementes de diferentes populações de *Leucaena leucocephala*. *Revista Brasileira Botânica*, v. 10, p. 25-27, 1987.
- BUCKERIDGE, M. S.; PANEGASSI, V. R.; ROCHA, D. C.; DIETRICH, M. C. Seed galactomannan and evolution of the *Leguminosae*. *Phytochemistry*, v. 38, n. 4, p. 871-875, 1995.
- BUCKERIDGE, S., M.; TINÉ, M. A. S.; SANTOS, H. P.; LIMA, D. U. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes, estrutura, metabolismo, função e aspectos ecológicos. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 12, p. 137-162, jul., 2000.
- COSTA, A. F.; **Farmacognosia**. 4. ed. Lisboa (Portugal): Fundação Calouste Gulbenkian, v. II, 1994.
- COSTA, S. M. O.; RODRIGUES, J. F.; PAULA, R. C. M. Monitorização do processo de purificação de gomas naturais: Gomas do cajueiro. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p. 49-55, abr / jun, 1996.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA**. 3 ed. São Paulo: Organização Andrei. 1977. p. 914-916.
- FREITAS, L. H. C.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; PAIM, N. R. Variabilidade intra e intergenotípica em uma população de híbridos entre *Leucaena leucocephala* e *L. diversifolia*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 36, p. 1069-1076, ago., 2001.
- GANTER, J. L. M. S.; REICHER, F. Water-soluble galactomannans from seeds of *Mimosaceae* spp. *Bioresource Technology*, v. 68, p. 55-62, 1999.
- GANTI, N.; MADAR, Z.; ASERIN, A.; STERNHEIM, B. Fenugreek galactomannans as food emulsifiers. *Academic Press Limited*, v. 30, p. 305-311, 1997.
- GARCIA, R. B.; LOPES, L.; ANDRADE, C. T. Network formation from agarose-guar gum solutions. *Fresenius' Journal Analytical Chemistry*, v. 344, p. 510-513, 1992.
- GARROS-ROSA, I. *Galactomananas de Parkinsonia aculeate. Caracterização estrutural e aplicação no isolamento de lectinas ligantes de galactose*. 2000. 117 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-Ceará.
- GARROS-ROSA, I., REICHER, F., PETKOWICZ, C. L. O., SIERAKOWISK, M. R., MOREIRA, R. A. Characterization of the galactomannans from *Parkinsonia Aculeata* seeds and their application on affinity chromatography. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 16, n° 2, p. 99-103, 2006.

- McCLEARY, B. V. Enzymatic hydrolysis, phase structure and gelling interaction of legume and D-galactose – D-mannans. *Carbohydrate Research*, v. 71. p. 205–230, 1979.
- MERCÊ, A. L. R.; FERNANDES, E.; MANGRICH, A. S.; SIERAKOWSKI, M. R.; AZPOGANICZ, B. Fe (III) – Galactomannan solid and aqueous complexes potentiometric, EPR spectroscopy and thermal data. **Journal Braz. Soc.**, v. 12, n. 6, p. 791-798, 2001.
- MIYOSHI, E.; TAKAYA, T.; NISHINARI, K. Rheological and thermal studies of gel-sol transition in gellan gum aqueous solutions. *Carbohydrate Polymers*, v. 30, p. 109-119, 1996.
- NEUKOM, H. Galactomannans: Properties and applications. *Academic Press Limited*, v. 22, n. 2, p. 41-45, 1989.
- PETKOWICS, C. L. O.; SIERAKOWSKI, M. R.; GANTER, J. L. M. S.; REICHER, F. Galactomannans and arabinans from seeds of *Caesalpinaceae*. *Phytochemistry*, v. 49, n. 3, p. 732-743, 1998.
- PIRES, N. M.; PRATES, H. T.; PEREIRA-FILHO, I. A.; OLIVEIRA-JR, R. S.; FARIA, T. C. L. *Scientia Agricola*, v. 58, n. 1, p. 61-65, 2001.
- ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e farmacobiocologia**. 1. ed. São Paulo: Premier, 1997.
- SCHERBUKHIN, V. D.; ANULOV, O. V. Legume seed galactomannans (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, v. 35, n. 3, 1999.
- SCHORSCH, C.; GARNIER, C.; DOUBLIER, J. L. Viscoelastic properties of xanthan/galactomannan mixtures: comparison of guar gum with locust bean gum. *Carbohydrate Polymers*, v. 34, p.165-175, 1997.
- SILVA, A. M. *Cromatografia de afinidade: O estudo da especificidade dos polissacarídeos de sementes de Caesalpinia pulcherrima e Hymenaea courbaril frente as lectinas específicas*. 2002. 76p. Monografia - Universidade Federal do Maranhão, São Luis, 2002.
- SIQUEIRA, J. C. *A flora do Campus PUC-RJ*. 1. ed. Rio de Janeiro: Expressão e Cultura, 1992.
- SIQUEIRA, N. M. Monografia de graduação. 2005. Monografia apresentada a Curso de Farmácia-Bioquímica da Universidade Federal do Maranhão, São Luis, 68p.
- SONI, S. K.; BOSE, S. Seed galactomannans & Their structures. *Journal of Scientific and Industrial Research*, v. 44, p. 544-547, 1985.
- TAVARES, R. O. *Galactomannans de Adenanthera pavonina L.: Aplicação para o isolamento de lectinas galactose-específicas*. 1998. 92 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1998.



UNRAU, A. M. The constitution of a galactomannan from the seed of *Leucaena galuca*. *Journal of Organic Chemistry*, v. 26, p. 3097-3101, 1961

VIEBKE, C.; PICULELL, L. Adsorption of galactomannans onto agarose. *Carbohydrate Polymers*, v. 29, n.1, p. 1-15, 1996.