

## EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS DAS SEMENTES DE JACA (*ARTOCARPUS HETEROPHYLLUS LAM.*) E DE JUCÁ (*CAESALPINIA FÉRREA MART.*)

Francisco Célio Feitosa de França<sup>a,b,\*</sup>, Denise Ramos Moreira<sup>b</sup>, Maria Elenir Nobre Pinho Ribeiro<sup>b</sup>, Arcelina Pacheco Cunha<sup>b</sup>, Nágila Maria Pontes Silva Ricardo<sup>b</sup>.

<sup>a</sup>Faculdade de Educação, Ciências e Letras do Sertão Central, Universidade Estadual do Ceará, 63.900-000, Quixadá/CE, Brasil, \*francisco.celio@uece.br, <sup>b</sup>Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, 60.451-970, Fortaleza/CE, Brasil, nise\_química@hotmail.com, elenirnp@gmail.com, arcelinapacheco@yahoo.com.br, nagilaricardo@gmail.com.

### Introdução

O consumo de medicamentos derivados de plantas é amplamente disseminado e tem aumentado significativamente nas medicinas tradicional e moderna. Segundo a OMS, mais de 80% da população mundial nos países em desenvolvimento depende primariamente dos medicamentos à base de plantas para as necessidades básicas de saúde.<sup>1</sup> O Brasil possui uma extraordinária flora, onde, diversos princípios ativos são descobertos por pesquisadores para a prevenção, tratamento e cura de doenças. Nas últimas décadas, tem havido um interesse crescente na utilização de polissacáridos de plantas regionais, em particular os bioativos, para várias novas aplicações, devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade, e algumas atividades terapêuticas específicas. A jaca (*Artocarpus heterophyllus Lam.*) e o jucá (*Caesalpinia férrea Mart.*) são frutos promissores com confirmadas propriedades terapêuticas. A jaca é utilizada na alimentação, devido algumas propriedades medicinais que possui, as mais conhecidas são: antiasmática, antidiarréica, antitussíca, cicatrizante e diurética. A *Caesalpinia férrea Martius*, é uma árvore de grande porte pertencente à família Fabaceae. Ela é encontrada no Norte e Nordeste do Brasil. As propriedades farmacológicas dos seus frutos ou cascas do caule incluem atividades antiulcerogênica,<sup>2</sup> anti-inflamatória,<sup>3</sup> analgésica,<sup>4</sup> anti-bacteriana,<sup>5</sup> anti-hipertensivas,<sup>6</sup> e quimio preventiva contra o cancer.<sup>7</sup> Tendo em vista as propriedades medicinais destes dois frutos, neste trabalho optou-se pela extração e caracterização do amido extraído das sementes de jaca e das galactomananas extraídas das sementes de jucá objetivando futuramente melhorar suas propriedades terapêuticas e medicinais por meio da reação de quaternização. Os polissacarídeos obtidos foram caracterizados estruturalmente por Infravermelho, Ressonância Magnética de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, Cromatografia de Permeação de Gel (GPC), Análise Térmica (TGA e DSC) e por Difração de Raios-X.

## **Materiais e Métodos (Metodologia)**

### ***Materiais utilizados***

Os frutos da jaqueira foram obtidos do mercado São Sebastião em Fortaleza/CE. As vagens do jucaseiro também foram obtidos do mercado São Sebastião. Bissulfito de sódio (Synth), etanol (Synth), cloreto de sódio (Vetec) e hidróxido de sódio (Vetec), foram utilizados como recebidos.

### ***Metodologia***

#### ***Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR)***

Os espectros dos polissacarídeos foram obtidos em pastilha de KBr em um espectrômetro da SHIMADZU FTIR 9300 com varredura de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

#### ***Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ )***

As atribuições dos sinais de absorção de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  foram realizadas pelas técnicas HMQC, HMBC e COSY. Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  em solução (DMSO- $d_6$ ) foram obtidos em um equipamento Bruker Avance 300, com transformada de Fourier, funcionando a 300 MHz na frequência do hidrogênio, e a 75 MHz para RMN de  $^{13}\text{C}$ .

#### ***Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)***

A massa molar média dos polissacarídeos foi estimada através de GPC utilizando um cromatógrafo da Shimadzu LC-10AD, com detectores de índice de refração (RID-6A) e ultravioleta (UV-VIS SPD-10AV). As soluções preparadas (0,4 %) foram injetadas (0,5  $\mu\text{L}$ ) com fluxo de 1,0 mL por minuto em sistema de duas colunas em série da Phenomenex, do tipo Phenogel LINEAR/MIXED 5U com 7,80 x 300 mm, sendo utilizado DMSO como fase móvel à temperatura ambiente. A curva de calibração foi construída utilizando-se padrões de pululanas (MM em intervalo de grandeza de 1130 g/mol a 2160000 g/mol).

#### ***Análise Térmica (TGA e DSC)***

Medidas de DSC e TGA foram realizadas em equipamentos da SHIMAZU (DSC-50 e TGA-50) em atmosfera de nitrogênio (fluxo: 50mL/min) a uma razão de aquecimento de 10  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  na faixa de temperatura de 25-500  $^{\circ}\text{C}$  para o DSC e 25-1000  $^{\circ}\text{C}$  para o TGA.

#### ***Difração de Raios-X***

A DRX dos polissacarídeos foi obtida em um difratômetro de raios-x da marca Philips MDR Pro com uma fonte geradora de 40 kV e 20 mA usando tubo de cobre como alvo. As amostras foram

pulverizadas e depositadas na superfície de um suporte contendo graxa de silicone como fixador, em seguida o suporte foi introduzido no equipamento para a efetuação das medidas.

### ***Isolamento e purificação do amido das sementes de jaca***

O amido foi extraído utilizando o método descrito por Bobbio e colaboradores (1978)<sup>8</sup> com algumas modificações. A humidade final do amido após secagem em estufa foi de 6,8% e o rendimento da extração foi de 14,6-15,6% em relação as sementes frescas.

### ***Determinação por centrifugação do teor de amilopectina e amilose do amido da semente de jaca***

A determinação do teor de amilopectina/amilose no amido foi realizada de acordo com o método descrito por Krishnaswamy e Sreenivasan (1948).<sup>9</sup> Com base neste procedimento, verificou-se que o teor de amilopectina/amilose foi de 83/17 no amido da semente de jaca utilizado.

### ***Isolamento e purificação das galactomananas das sementes de jucatá***

As galactomananas foram isoladas e purificadas utilizando o método descrito por Souza e colaboradores (2010).<sup>10</sup> O rendimento da extração foi de 70% e o rendimento após a purificação foi de 31%

## **Resultados e Discussão**

### ***Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR)***

O FTIR confirmou a presença de polissacarídeos e traços de proteínas nas amostras do amido da jaca. A banda correspondente ao estiramento C-H aparece a  $2932\text{ cm}^{-1}$ . O estiramento das ligações -OH, apareceu em  $3400\text{ cm}^{-1}$ . A  $1078\text{ cm}^{-1}$ , foi possível observar a banda atribuída às deformações C-OH e  $\text{CH}_2$ . Bandas de sacarídeos típicas na faixa entre  $1157\text{ cm}^{-1}$  e  $921\text{ cm}^{-1}$ , resultando das vibrações C-C, estiramento C-O e das deformações das ligações C-H também estão presentes.<sup>11</sup> As bandas de amida I são ligeiramente deslocadas, de  $1650\text{ cm}^{-1}$  a  $1642\text{ cm}^{-1}$ . No FTIR do polissacarídeo das sementes de jucatá observou-se as bandas de  $3423$  e  $2921\text{ cm}^{-1}$  referentes ao estiramento vibracional O-H e C-H respectivamente. Em  $1640\text{ cm}^{-1}$  observa-se o estiramento assimétrico correspondente a ligação C-O.<sup>12</sup> A banda em torno de  $1151$  a  $1129\text{ cm}^{-1}$  são de grupo C-O do anel piranosídico,<sup>13</sup> observou que a região entre  $1198$  a  $983\text{ cm}^{-1}$  está relacionada ao estiramento vibracional de C-O em ligações do tipo C-O-H. Foi observado, também bandas em  $872$  e  $815\text{ cm}^{-1}$  que estão relacionadas a ligações anoméricas dos grupos  $\beta$ -D-manopiranoses e  $\alpha$ -D-galactopiranoses, respectivamente, o que indica que o polissacarídeo é uma galactomanana. Essas duas bandas espectrais comprovam a coexistência de  $\alpha$  e  $\beta$  ligações glicosídicas no polissacarídeo.<sup>14</sup>

### ***Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ )***

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  do amido mostrou sinais em 5,23 ppm ( $\text{H}_1\text{-}\alpha\text{-1,4}$ ), 5,12 ppm ( $\text{H}_1\text{-}\alpha\text{-1,6}$ ), 4,37 ppm ( $\text{C}_2\text{-OH}$ ,  $\text{C}_3\text{-OH}$  e  $\text{C}_6\text{-OH}$ ), 3,61-3,69 ppm ( $\text{H}_3$ ,  $\text{H}_5$ , e  $\text{H}_6$ ), 3,33-3,37 ppm ( $\text{H}_2$  e  $\text{H}_4$ ), 3,19 ppm (HDO) e 2,50 ppm (DMSO). O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do amido em DMSO mostrou sinais localizados a 100,56 ppm ( $\text{C}_1\text{-O}$  anomérico). O sinal em 40,31 ppm foi observado para o solvente DMSO. As ressonâncias para os carbonos  $\text{C}_2$  ao  $\text{C}_5$  foram:  $\text{C}_4$  a 79,42 ppm,  $\text{C}_3$  a 73,76 ppm,  $\text{C}_2$  a 72,60 ppm e  $\text{C}_5$  a 72,16 ppm. O sinal em 61,16 ppm foi atribuída ao  $\text{C}_6$  da D-glucose ligada 1,6. A falta de sinais entre 80 e 88 ppm sugere que todos os resíduos de açúcares no polissacarídeo estão na forma de piranose. O Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da galactomanana mostrou sinais (4,74 e 5,16 ppm) correspondentes aos prótons anoméricos de  $\beta\text{-D}$ -manose e  $\alpha\text{-D}$ -galactose, respectivamente. A região anomérica de RMN  $^{13}\text{C}$  (102,80-101,50 ppm), foi atribuído a  $\alpha\text{-D}$ -galactopiranosil, 101,50 ppm,  $\beta\text{-D}$ -manopiranosilo, 102,80 ppm e  $\beta\text{-D}$ -manopiranosilo ramificado em O-6 em 102,6 ppm.<sup>10</sup> Outros deslocamentos químicos de carbono ( $\text{C}_1$  a  $\text{C}_6$ ) e hidrogênio ( $\text{H}_1$  a  $\text{H}_6$ ) dos polissacarídeos das sementes de jucá são resumidos como segue: ( $\text{H}_1 = 5,16$ ,  $\text{H}_2 = 3,82$ ,  $\text{H}_3 = 3,89$ ,  $\text{H}_4 = 3,98$ ,  $\text{H}_5 = 4,07$ ) e sinais de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{C}_1 = 101,50$ ,  $\text{C}_2 = 69,73$ ,  $\text{C}_3 = 70,22$ ,  $\text{C}_4 = 70,20$ ,  $\text{C}_5 = 72,24$ ,  $\text{C}_6 = 62,12$ ).

### ***Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)***

Os valores das massas molares ( $M_w$ ) e ( $M_n$ ) para o polissacarídeo das sementes de jaca foram  $4,5 \times 10^5$  e  $6,1 \times 10^5$  g/mol, respectivamente. E a polidispersividade ( $M_w/M_n$ ) para o mesmo foi de 1,20. Enquanto que os valores de ( $M_w$ ) e ( $M_n$ ) para o polissacarídeo das sementes de jucá, ( $3,61 \times 10^5$  e  $1,57 \times 10^5$  g/mol respectivamente), foram próximos dos encontrados na literatura.<sup>15</sup> A polidispersividade ( $M_w/M_n$ ) deste polissacarídeo foi 2,29.

### ***Análise Térmica (TG e DSC)***

O amido das sementes de jaca se decompôs em duas etapas: a primeira etapa a 39,5 °C referente a perda de água e a outra em 299,5 °C referente a decomposição propriamente dita. Na primeira etapa houve 12,12% de perda de massa enquanto que na segunda houve 87,78% de perda de massa, sendo o resíduo final de 0,10%. A galactomanana obtida das sementes do jucá se decompôs em três estágios: o primeiro em 52 °C referente a perda de água e os outros dois referentes a decomposição do material propriamente dito em 312 °C e 585 °C respectivamente. A perda de massa no primeiro evento foi de 16,02% enquanto que no segundo e terceiro evento foi de 69,23% e 14,74% respectivamente. O resíduo final foi de 0,01%. No DSC para o amido observou-se um pico

endotérmico largo em 81,6 °C referente a perda de água e ruptura das ligações de hidrogênio intramoleculares e um outro em 306,6 °C referente a decomposição do material propriamente dita. As energias envolvidas nos dois processos foram: -233,66 J/g e -172,25 J/g, respectivamente. Na curva DSC para a galactomanana, observou-se um pico endotérmico em 154°C, relativo à perda de água intramolecular, e outro exotérmico, em 306°C, correspondente à decomposição da cadeia polimérica.

### ***Difração de Raios-X***

A DRX permite distinguir três tipos de cristalinidade dos grãos de amido, que dependem da sua forma e as estruturas cristalinas são chamadas do tipo A, B e C.<sup>16,17</sup> A observação dos picos apresentados pelos difratogramas permite definir o perfil de cristalinidade das amostras do amido da jaca como pertencente ao tipo A. Os amidos com cristalinidade do tipo A exibem cadeias de comprimento curto a médio que são mais densas e, portanto, têm menos espaço para moléculas de água. Os picos de difração principais foram: 15,14; 17,14; 18,03 e 23,09° (2 $\theta$ ).<sup>17, 18</sup>

### **Conclusão**

As análises de FTIR, DRX e RMN indicaram que os polissacarídeos presentes nas sementes da jaca e de jucá foram: o amido e a galactomanana, respectivamente. Os grânulos do amido da jaca exibiram uma estrutura cristalina típica do tipo A de acordo com seus picos difração. Além disso, o amido da jaca apresentou médio teor de amilose e se decompôs em duas etapas, já a galactomanana do jucá se decompôs em três estágios.

### **Referências Bibliográficas**

1. CANTER, P. H.; THOMAS, H.; ERNST, E. Bringing medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology. **Trends in Biotechnology**, v. 23, n. 4, p. 180-185, 2005.
2. GALLÃO, M. I. et al. Morphological, chemical and rheological properties of the main seed polysaccharide from *Caesalpinia ferrea* Mart. **Industrial crops and products**, v. 47, p. 58-62, 2013.
3. DIAS, A. M. A. et al. Wound dressings loaded with an anti-inflammatory jucá (*Libidibia ferrea*) extract using supercritical carbon dioxide technology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 74, p. 34-45, 2013.
4. LIMA, S. M. A. et al. Anti-inflammatory and analgesic potential of *Caesalpinia ferrea*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 1, p. 169-175, 2012.
5. SAMPAIO, F. C. et al. In vitro antimicrobial activity of *Caesalpinia ferrea* Martius fruits against oral pathogens. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 124, n. 2, p. 289-294, 2009.

6. MENEZES, I. A. C. et al. Cardiovascular effects of the aqueous extract from *Caesalpinia ferrea*: involvement of ATP-sensitive potassium channels. **Vascular pharmacology**, v. 47, n. 1, p. 41-47, 2007.
7. SOUSA, C. C. et al. Comparison of methods to isolate DNA from *Caesalpinia ferrea*. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 2, p. 4486-4493, 2014.
8. BOBBIO, F. O. et al. Isolation and characterization of physicochemical properties of starch of jackfruit seeds (*Artocarpus-heterophyllus*). **Cereal Chemistry**, 1978.
9. KRISHNASWAMY, K. G.; SREENIVASAN, A. Separation and determination of the amylose and amylopectin fractions of starch. **Journal of Biological Chemistry**, v. 176, n. 3, p. 1253-1261, 1948.
10. SOUZA, C. F. et al. *Caesalpinia ferrea* var. *ferrea* seeds as a new source of partially substituted galactomannan. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 3, p. 641-647, 2010.
11. LIU, H. et al. Glycerol/starch/Na<sup>+</sup>-montmorillonite nanocomposites: a XRD, FTIR, DSC and <sup>1</sup>H NMR study. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 4, p. 1591-1597, 2011.
12. JI, A. et al. Isolation and characterization of sulfated polysaccharide from the *Sargassum pallidum* (Turn.) C. Ag. and its sedative/hypnotic activity. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 21, p. 5240-5246, 2011.
13. CERQUEIRA, M. A. et al. Extraction, purification and characterization of galactomannans from non-traditional sources. **Carbohydrate polymers**, v. 75, n. 3, p. 408-414, 2009.
14. ALBUQUERQUE, P. B. S. et al. Characterization and rheological study of the galactomannan extracted from seeds of *Cassia grandis*. **Carbohydrate polymers**, v. 104, p. 127-134, 2014.
15. ANDRADE, C. T. et al. Rheological properties of mixtures of  $\kappa$ -carrageenan from *Hypnea musciformis* and galactomannan from *Cassia javanica*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 27, n. 5, p. 349-353, 2000.
16. CEREDA, M. P. *Propriedades gerais do amido* (1st ed.). São Paulo: Fundação Cargill, 2001.
17. ZOBEL, H. F. X-ray analysis of starch granules. **Methods in carbohydrate chemistry**, v. 4, p. 109-113, 1964.
18. TULYATHAN, V. et al. Some physicochemical properties of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam) seed flour and starch. **Science Asia**, v. 28, n. 1, p. 37-41, 2002.