

Métodos de Isolamento de Gomas Naturais: Comparação Através da Goma do Cajueiro (*Anacardium occidentale* L.)

Judith Feitosa Rodrigues*, Regina Célia M. de Paula, Sônia M. O. Costa

Resumo: Dois métodos de isolamento de gomas foram comparados, o Rinaudo-Milas e o Anderson. A goma do cajueiro do Nordeste (*Anacardium occidentale* L.) foi utilizada como substância-teste. O método Rinaudo-Milas foi efetuado através de trituração, dissolução em H₂O com ajuste de pH e à temperatura ambiente, filtração e precipitação com EtOH. O método Anderson foi desenvolvido através de: trituração, dissolução em H₂O fria, filtrações, diálise e liofilização. As amostras isoladas foram analisadas em seus teores de umidade, cinzas, proteína e açúcares presentes. O teor de ácidos glicurônicos na forma ácida e salina e a viscosidade intrínseca também foram determinados. O método Rinaudo-Milas foi considerado o melhor devido a maior rapidez do processo, maior rendimento, menor possibilidade de contaminação e maior homogeneidade do material isolado. Brancura do sólido, solubilidade em H₂O e transparência da solução foram características observadas nas gomas isoladas pelos dois métodos.

Palavras-Chave: Método de isolamento, goma, polissacarídeo, cajueiro, *Anacardium occidentale* L.

INTRODUÇÃO

Gomas: Propriedades gerais

Gomas podem ser definidas genericamente como substâncias poliméricas que, em solvente ou agente de inchamento apropriado e mesmo a baixas concentrações, são capazes de formar dispersões ou soluções altamente viscosas ou até mesmo géis. Com esta definição, o termo aplica-se a uma vasta variedade de substâncias, incluindo hidrocarbonetos de alto peso molecular, borrachas, proteínas, polissacarídeos e seus derivados, além de alguns polímeros sintéticos.[1].

Industrialmente, no entanto, o termo goma, é mais específico, e está associado a polissacarídeos e seus derivados. O solvente ou agente de inchamento é, neste caso, a água.

As gomas industriais podem ser classificadas em naturais e modificadas. As naturais podem ser obtidas de exsudatos de árvore, de sementes, de algas ou por fermentação microbológica. As modificações são as derivadas de polissacarídeos insolúveis, como por exemplo, a celulose. A tabela 1 apresenta exemplos de gomas industriais classificadas pela fonte.

Gomas são substâncias incolores, inodoras, insípidas e não tóxicas [1]. Elas são, essencialmente, não calóricas, exceto o amido e seus derivados. A maioria delas, apesar de sofrer hidrólise ácida e enzimática, passa pelo trato gastro-intestinal com pouca ou nenhuma modificação [2].

A hidrólise ácida necessita de uma acidez maior do que a do suco gástrico e/ou de um tempo de permanência maior no estômago. A hidrólise enzimática, quando ocorre, é em pequena extensão, pois não existem enzimas no trato gastro-intestinal capazes de hidrolisar a maioria dos polissacarídeos [2]. ▶

Judith Feitosa Rodrigues*, Regina Célia M. de Paula, Sônia M.O. Costa. – Dept^o de Química e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, UFC, Campus do Pici, CP, 12.200, CEP 60.021-000 – Fortaleza-Ceará (mandar correspondência para*).

TABELA 1

CLASSIFICAÇÃO DAS GOMAS INDUSTRIAIS QUANTO A FONTE [1]	
Gomas naturais	Gomas modificadas
Exsudato de Plantas	Carboximetilcelulose
Goma arábica	Hidroximetilcelulose
Goma caraia	Hidroxietilcelulose
Goma tragacanto	Carboximetilamido
Goma do cajueiro	Acetato de amido
Extraídas de Algas	Hidroxetilamido
Ágar	Hidroxipropilamido
Alginato	Carboximetilguar
Carragenana	Alginato de propileno glicol
Extraídas de Sementes	
Goma guar	
Goma do marmeleiro	
Fermentação microbiológica	
Dextrama	
Xantana	

Essas propriedades, aliadas a outras mais específicas, conferem às gomas inúmeras aplicações tecnológicas. As principais indústrias consumidoras de gomas hidrossolúveis são: a de detergentes, a têxtil, a de adesivos, a de papel, a de tintas, além da alimentícia, farmacêutica e de cosméticos [3]. Nestas indústrias elas são usadas como agentes espessantes, gelificantes, emulsificantes, floculantes, clarificantes, encapsuladores e controladores de caloria. São empregadas, também, como adesivo, inibidor de cristalização, protetor coloidal, formador de filme, estabilizador de espuma e de suspensão [1].

Métodos de isolamento

O objetivo do isolamento de uma substância qualquer é obter um material quimicamente puro e homogêneo e com um rendimento maior possível.

Os polissacarídeos naturais, gomas p. ex., frequentemente vêm misturados com sais inorgânicos e outros materiais de baixo peso molecular e, também, com espécies como proteínas, ligninas, ácidos nucleicos, que deles precisam ser separados [4,5].

Na busca de pureza máxima do material, muitas vezes são aplicados tratamentos drásticos que descaracterizam o material original, alterando a sua estrutura ou a sua massa molecular média. Estas alterações do polissacarídeo, ditas como degradação, ocorrem em presença de ácido, de enzimas e, menos frequentemente, de base, e devem ser evitadas. Vários são os métodos de isolamento e fracionamento de polissacarídeos. Eles envolvem etapas de separação cromatográfica, complexação com íons metálicos ou sais de amônio quaternário, precipitação com etanol ou acetona, liofilização, entre outras. Detalhes destes métodos podem ser encontrados nos trabalhos de Aspinal [5] e Pittet [6].

O isolamento de goma apresenta os mesmos problemas básicos do isolamento de polissacarídeo, mas com algumas peculiaridades. Anderson [7] e Rinaudo-Milas [8] isolam as gomas utilizadas em seus inúmeros trabalhos de pesquisa através de dois métodos distintos. A tabela 2 apresenta as principais distinções entre estes métodos.

A goma do cajueiro é um heteropolissacarídeo ramificado contendo como constituintes principais galactose (61%), arabinose (14%), ramnose (7%), glicose

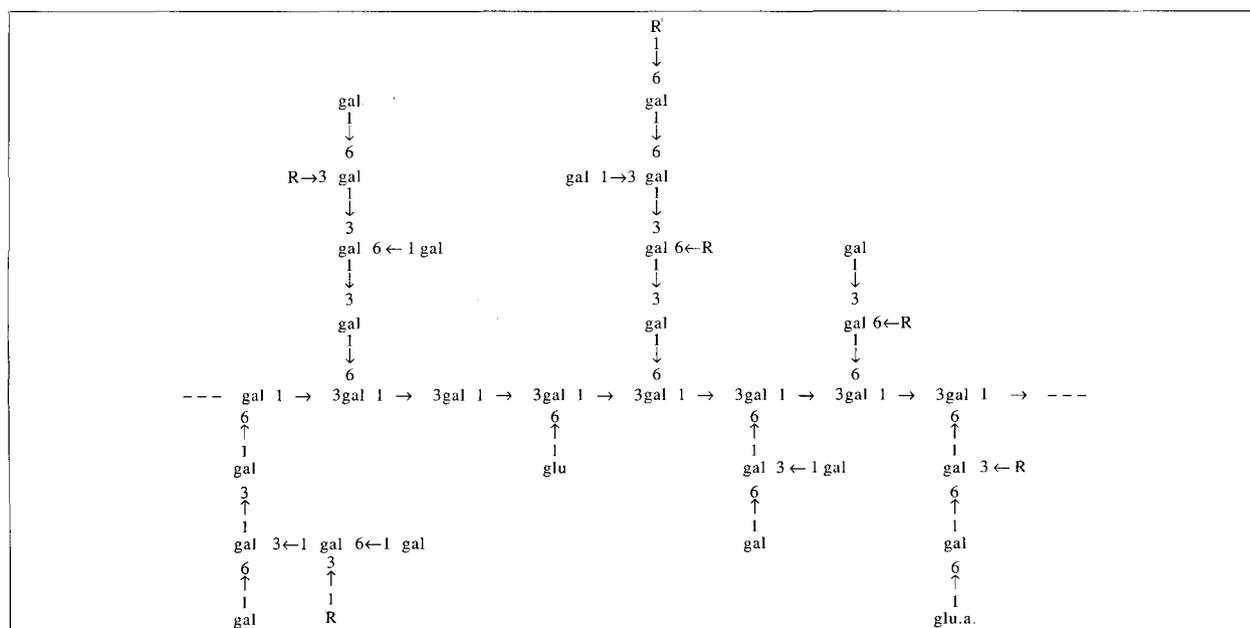


Fig. 1. Um possível fragmento estrutural da goma do cajueiro. R representa D-manose, D-xilose- L-ramnose, L-arabinose ou cadeias de arabinose com ligação 1,2. R' representa D-glicose ou ácido D-glicurônico [9].

(8%), ácido glicurônico (5%), além de pequenas quantidades (<2% de cada) de manose, xilose e ácido metilglicurônico (figura 1[9]. Esta goma (de origem Papuana e Indiana) foi uma das isoladas por Anderson através do seu método. Ela é de fácil obtenção, já que o Ceará é o maior produtor de cajueiro do Brasil [10], e o conhecimento adquirido no seu isolamento poderia trazer benefícios para a região. Estas razões motivaram a escolha da goma do cajueiro como substância-teste para a comparação entre os métodos de Anderson [7] e Rinaudo-Milas [8].

TABELA 2

DISTINÇÃO ENTRE OS MÉTODOS DE ISOLAMENTO DE GOMAS UTILIZADAS POR ANDERSON [7] E RINAUDO-MILAS [8]

Etapas		Anderson[7]	Rinaudo-Milas[8]
Dissolução em H ₂ O	tempo(h)	48	24
	temperatura	10°C	28°C
	pH	sem ajuste	ajustado p/7,0-7,5
Filtração		papel	vidro sinterizado e membrana
Separação de compostos de baixo peso molecular		diálise	-
Recuperação da goma em pó		liofilização	Precipitação com etanol ao ar
Secagem		liofilização	ao ar

PARTE EXPERIMENTAL

A goma bruta foi colhida em setembro de 1988 de exsudatos naturais de cajueiros do tipo comum, com cerca de 20 anos, produtores de fruto de cor laranja. Os cajueiros oriundos de plantação experimental da EMBRAPA, situada no município de Pacajus-CE. Os nódulos mais claros e isentos de casca foram selecionados, secos triturados antes de serem submetidos aos métodos de isolamento.

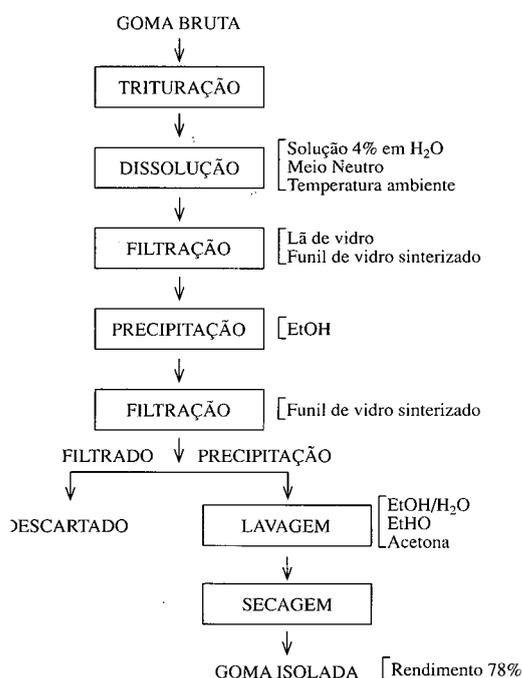
O método Rinaudo-Milas [8] foi utilizado como sugerido pelos autores com a diferença apenas na filtração, que foi efetuada somente em funil de vidro sinterizado, sem utilização de membrana (fluxograma 1).

No método Anderson a modificação foi também efetuada na filtração, prevista para ser feita em papel, mas realizada em funil de vidro sinterizado (fluxograma 2).

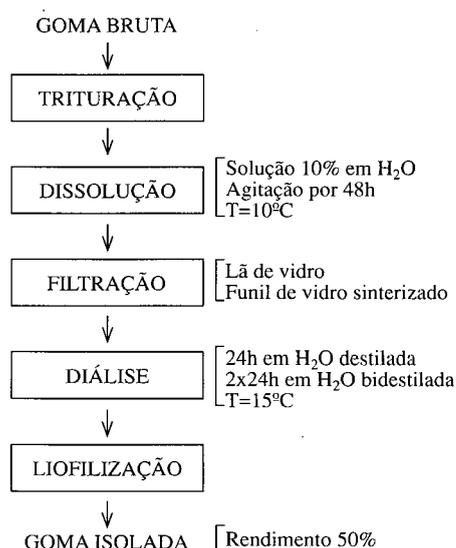
As amostras isoladas foram analisadas no que se refere a seis teores de unidade, de cinza e de N (proteína), à presença de alguns monossacarídeos e ao % de ácidos urônicos. A viscosidade intrínseca também foi determinada.

O teor de umidade foi obtido por diferença de peso após aquecimento a 105°C e o teor de cinza aquecimento em mufla a 700°C ambos efetuados até peso constante. O teor de proteína foi calculado a partir do resultado de análise elementar de N, fazendo-se uso da relação %N x 6,25[11].

Todas as análises foram feitas em duplicata.



Fluxograma 1: Etapas do processo de isolamento da goma do cajueiro pelo método Rinaudo-Milas.



Fluxograma 2: Etapas do processo de isolamento da goma do cajueiro pelo método Anderson.

As titulações condutométricas com soluções de HCl ou NaOH foram efetuadas em um condutivímetro B331 Micronal com eletrodo de platina, de constante 0,63cm⁻¹ à uma temperatura de 25,0 ± 0,1°C.

Para análise cromatográfica, as amostras foram hidrolisadas com ácido trifluoroacético (TFA) 4N por 2,5h a 100°C em ampola de vidro selada. Os açúcares hidrolisados, livres de excesso de TFA, foram dissolvidos em MeOH/H₂O (80/20) e cromatografados em placas de sílica gel 60 F254 Merck. O sistema de solvente utilizado foi álcool isopropílico, acetato de etila e H₂O (7:2:1) e a revelação foi feita com orcinol em ácido orcinol em ácido sulfúrico. Utilizou-se para comparação soluções padrão de galactose, arabinose, glicose, manose, ramnose e xilose, proveniente de Merck.

A viscosidade intrínseca foi determinada em NaCl 1M, utilizando-se um viscosímetro Ostwald com diâmetro de capilar 0,8mm e com 150s. de tempo de escoamento para H₂O a 25,0 ± 0,1°C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise das amostras de goma de cajueiro

A tabela 3 apresenta alguns dados características das gomas isoladas pelos métodos Anderson e Rinaudo-Milas.

TABELA 3

COMPARAÇÃO ENTRE AS PROPRIEDADES DE GOMA DO CAJUEIRO DO NORDESTE ISOLADA PELO MÉTODOS RINAUDO-MILAS E ANDERSON

	Método Rinaudo-Milas	Método Anderson
Cor do sólido	branca	branca
Aspecto do sólido	pó	flocos
Aspecto da solução	límpida	límpida
Rendimento	78%	50%
Unidade (%)	16,3 ± 0,8	14,2 ± 0,8
Cinzas (%)*	0,67 ± 0,02	0,63 ± 0,07
Nitrogênio (%)*	0,18 ± 0,05	0,19 ± 0,02
Proteína (%) (Nx6,25)	1,1 ± 0,2	1,02 ± 0,1
[η]NaCl 1M (mL/g)	8,8	7,8
Análise dos açúcares		
galactose	P	P
arabinose	P	P
ramnose	P	P
xilose	N	N
manose	N	N
glicose	P	P
Ácidos glicurônicos (%)		
forma salina	6,3	5,4
forma ácida	0,0	0,8
Total	6,3 ± 0,1	6,2 ± 0,1

* corrigida umidade

P = presente

N = não detectado

las. Elas são similares em muitos aspectos. Ambas são

brancas, solúveis em H₂O, formam soluções límpidas e apresentam teores de cinza semelhantes. Os percentuais de nitrogênio são próximos dentro da faixa determinada por Marques e Xavier[12].

Registra-se uma diminuição no teor de umidade da goma liofilizada (Anderson), o qual é muito dependente do tempo de exposição à pressão reduzida. Anderson, por exemplo, obteve % da unidade de goma do cajueiro papuano de 7,9%[7].

As viscosidades intrínsecas são, também, diferentes. O processo de recuperação da goma em pó baseado na precipitação com etanol (método Rinaudo-Milas) pode ter ocasionado um fracionamento do material, tendo sido recolhidas frações de peso molecular maior. No entanto, o isolamento, a 1ª purificação e a 2ª purificação da goma do angico[13] (processos sequenciados, cada um deles envolvendo precipitação com etanol) não resultaram em um material de peso molecular crescente, o que evidencia a não ocorrência de fracionamento. Caso ele tivesse ocorrido a viscosidade intrínseca da goma 2ª purificada seria maior do que a goma 1ª purificada que por sua vez seria maior do que a goma isolada. As viscosidades determinadas foram equivalentes.

Quanto as constituintes dos heteropolissacarídeos, verifica-se que os mesmos açúcares estão presentes nas duas amostras da goma. O teor total de ácidos glicurônicos, também, é o mesmo. A variação importante está na proporção entre a forma salina e a forma ácida, que foi determinada a partir das curvas apresentadas nas figuras 2 e 3. No caso da goma obtida pelo método Rinaudo-Milas todos os grupamentos RCOOH, existentes originalmente na amostra, se apresentam neutralizados. Nenhuma inflexão é observada na curva de titulação condutométrica desta goma com NaOH (figura 3). O mesmo não ocorre com a curva correspondente à goma obtida pelo método Anderson. Nesta goma, 13% dos seus resíduos de ácido glicurônico permanecem ainda na forma ácida, o que deve corresponder a uma diminuição da densidade de carga da macromolécula. Menor a densidade de carga, menor a repulsão entre os grupos RCOO⁻, maior a possibilidade das cadeias se enrolarem. E, portanto, menor a viscosidade intrínseca.

Comparação entre os métodos

Além da comparação entre as características das amostras isoladas pelos dois métodos é essencial que se faça, também, uma análise sobre o desenvolvimento dos métodos, levando-se em conta rendimento, tempo gasto, possíveis problemas, etc.

O método Rinaudo-Milas foi aquele que proporcionou um maior rendimento (78%) e que foi executado em um menor tempo. Apesar destas vantagens, ele pode apresentar alguns problemas. O primeiro deles seria a perda de

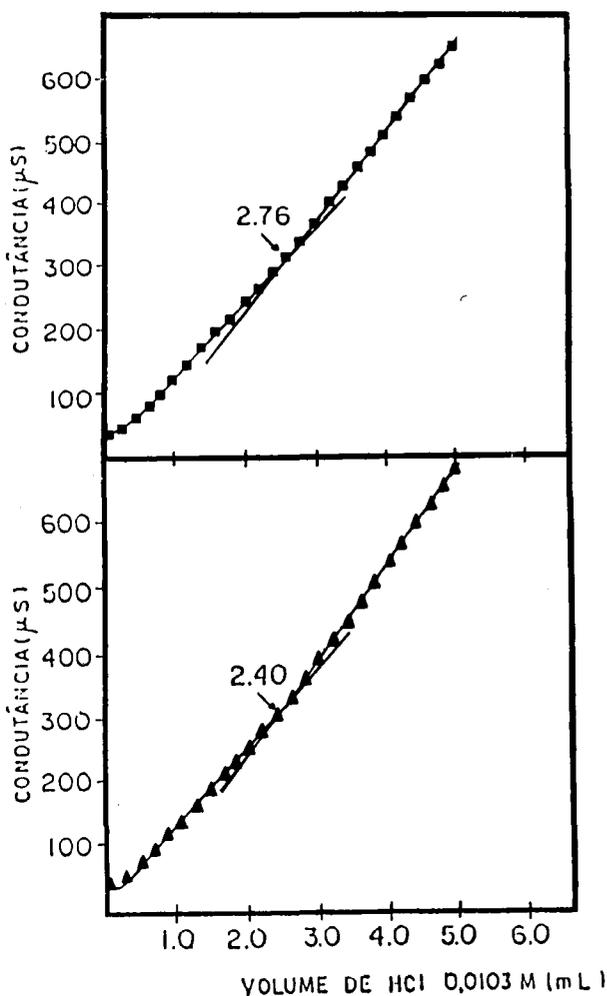


Fig 2: Curva de titulações condumétricas de amostras de goma de *Anacardium occidentale* L. com HCl:
 ■, goma isolada pelo método Rinaudo-Milas, 0,0884G
 Δ goma isolada pelo método Anderson, 0,0903G.

açúcares lábeis, ramnose, por exemplo, por ser a dissolução efetuada à temperatura ambiente ($\approx 28^{\circ}\text{C}$). A análise qualitativa dos açúcares, revela, no entanto, a presença de ramnose nas duas amostras de goma, o que indica que tal perda não foi verificada. O segundo problema seria o fracionamento do material devido ao processo de recuperação de sólido efetuada através de precipitação com etanol. Dados obtidos com a goma do angico[13] refutam tal possibilidade.

O método Anderson proporcionou um rendimento relativamente baixo (50%), provavelmente causado pela dissolução parcial da goma bruta ou pela perda do material durante a diálise. O não ajuste de PH e a baixa temperatura de dissolução devem ter contribuído, também, para este baixo rendimento. Um outro problema do método é a possibilidade de formação de fungos durante as etapas de dissolução e diálise. Quando estas etapas foram feitas à temperatura ambiente observou-se, realmente, a formação de fungos na solução. Um complicador adicional pode-

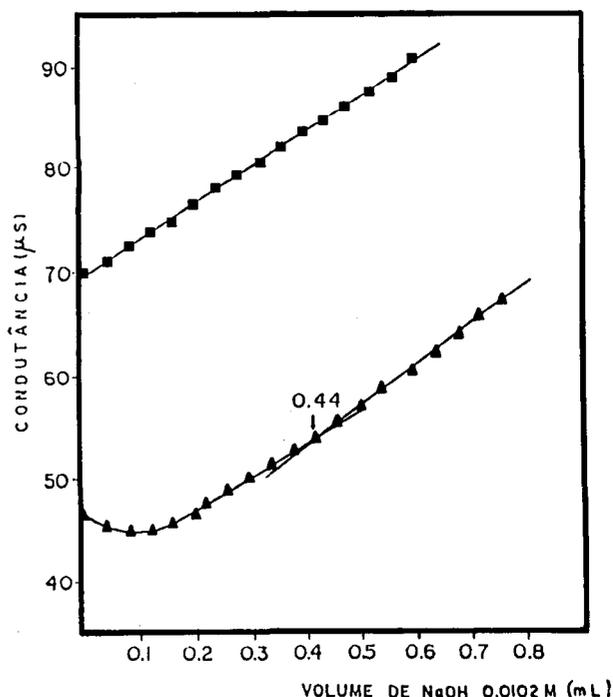


Fig 3: Curva de titulações condumétricas de amostras de goma de *Anacardium occidentale* L. com Na OH:
 ■, goma isolada pelo método Rinaudo-Milas, 0,085 G
 Δ goma isolada pelo método Anderson, 0,1039 G.

ria ocorrer caso a filtração fosse feita em papel, como sugerida pelo autor. Neste caso haveria a possibilidade de contaminação com material celulósico, profundamente indesejável em se tratando de isolamento de carboidrato.

CONCLUSÃO

Levando-se em conta todos os fatores relativos ao desenvolvimento dos processos e às características dos materiais isolados chegou-se a conclusão que o método Rinaud-Milas é o mais adequado para isolar gomas, principalmente, se destinadas a estudo acadêmico. A escolha do método mais adequado para fins industriais teria que levar em conta outros fatores, tais como viabilidade econômica, disponibilidade de equipamentos, etc, não considerados aqui.

Além das boas características observadas tanto na goma obtida pelo método Anderson quanto na Rinaud-Milas (brancura do sólido, boa solubilidade em H_2O , transparência da solução) algumas vantagens do método Rinaud-Milas podem ser destacadas. São elas:

- a) maior rapidez do processo
- b) maior rendimento
- c) menor possibilidade de contaminação, quer por fungos que por material celulósico

d) maior homogeneidade do material no que se refere ao constituinte ácido glicurônico, totalmente transformado para a forma salina.

Vale ressaltar, no entanto, que o sucesso no isolamento de gomas pelo método Rinaud-Milas concentra-se na filtração e secagem do material. A filtração, assim como as primeiras lavagens, não deve ser efetuada até a retirada completa do líquido, pois provocaria penetração do material no funil e agregação entre as próprias partículas do polissacarídeo. Somente na última lavagem (com acetona), a filtração deve ser levada até o final.

Apesar do relativo sucesso do material isolado pelo método Rinaud-Milas, uma goma mais pura e totalmente transformada em sal de sódio, muitas vezes necessária para estudos mais refinados, só será obtida com a execução de três etapas (uma de isolamento e duas de purificação) como sugerido pelos autores [8].

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Marguerite Rinaudo (CNRS-França) pela demonstração do método. À EPACE, empresa de Pesquisa Agropecuária do Ceará, atualmente pertencente à EMBRAPA, pelo fornecimento da goma bruta e ao CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 – J.N. BE MILLER, *Industrial Gums*, Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, John Wiley & Sons, 7, 589, 1987.
- 2 – R.L. WHISTLER, "Industrial Gums-Polysaccharides and their Derivatives", Editor R.L. Whistler, 2^a ed., Academic Press, Londres, cap. 1, 1973.
- 3 – J. WELLS, "Cellular Microbial Polysaccharides", "Extracell. microb. polysaccharides", ACS Symp. Series, 45, 299, 1977.
- 4 – J.F. KENNEDY e C.A. WHITE, "Bioactive Carbohydrates: In Chemistry, Biochemistry and Biology", Ellis Horwood Ltda, Inglaterra, cap. 4, 1983.
- 5 – G.O. ASPINALL, "The Polysaccharides" — vol. 1, Editor G.O. Aspinall, Academic Press, New York, cap. 2, 1982.
- 6 – A.O. PITTET, "Methods in Carbohydrate Chemistry", vol. V, General Polysaccharides", Editor R.L. Whistler, Academic Press, sec. I, 1965.
- 7 – D.M.W. ANDERSON, P.C. BELL e J.R. MILLAR, *Phytochemistry* 13, 2189, 1974.
- 8 – a) M. MILAS, "Poli-eletrólitos", ed. R.A.M.C. Groote e A.A.S. Curvelo, USP, São Carlos, 1991; b) M. Rinaudo, *Comunicação Pessoal*.
- 9 – D.M.W. ANDERSON e P.C. BELL, *Anal. Chimica Acta*, 79, 185, 1975.
- 10 – V.P.M.S. LIMA, "Cultura do Cajueiro no Nordeste do Brasil", 1^a ed., Banco do Nordeste do Brasil, Fortaleza, 1988.
- 11 – D.L. MARKS, R.B. BAUM e T. SWAIN, *Analytical Biochem.*, 147, 136, 1985.
- 12 – M.R. MARQUES e J. XAVIER FILHO, *Phytochemistry*, 30, 1431, 1991.
- 13 – A.G. da SILVA, "Goma do Angico (*Anadenanthera macrocarpa*): isolamento, purificação e caracterização", dissertação de Mestrado, UFC, Fortaleza, 1992.

*Recebido em 14 de dezembro de 1992
Aprovado em 10 de março de 1993*