

Ana Lucia Ferreira

# Propriedades Vibracionais de Polissacarídeos Naturais

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Física do Setor de Ciências Exatas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Física

Orientador: Prof. Dr. Edilson Sérgio Silveira

**Curitiba**

2008

À meus pais, João e Nelcinda

# Agradecimentos

À Deus que sempre esteve ao meu lado, guiando e iluminando minha vida.

Aos meus pais, João e Nelcinda, pelo apoio e suporte.

Especiais ao meu orientador, Prof. Dr. Edilson Sérgio Silveira, pela paciência, apoio e incentivo.

À Prof<sup>ª</sup> Dra. Maria Rita Sierakowski e a Neoli Lucyszyn pelas amostras; e a todo pessoal do BIOPOL pela ajuda nos momentos em que precisei.

Ao grupo de Propriedades Ópticas do Departamento de Física da Matéria Condensada da UNICAMP, pela utilização do Sistema de Espectroscopia Raman.

Ao Laboratório de Infravermelho da UFPR pela utilização do equipamento.

Aos professores Carlos Maurício Lepiensi, Ivo Alexandre Hümmelgen, Fernando Iikawa e Ney Pereira Mattoso Filho pelas correções e contribuições dada à dissertação.

Ao Prof. Dr. Evaldo Ribeiro pelas conversas, sugestões e otimismo.

À todos os amigos e colegas de pós-graduação.

Ao Thiago pelo colorido que trouxe à minha vida nos últimos tempos e pela ajuda inicial com o Latex.

Ao Thiago e ao Frederico do Grupo de Propriedades Ópticas, Eletrônicas e Fotônica pelo incentivo e bom humor nos momentos difíceis.

Ao Prof. Dr. Pedro Pablo González Borrero que embora não tenha contribuído diretamente na elaboração deste trabalho, foi o responsável por me iniciar na pesquisa e meu maior incentivador para iniciar o mestrado.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

À todos que de uma maneira ou outra colaboraram na elaboração deste trabalho.

## Resumo

Neste trabalho foram estudadas as propriedades vibracionais de polissacarídeos pertencentes ao grupo dos amidos, galactomananas e xiloglucanas, oriundos de fontes diversas. Os materiais constituem uma das mais abundantes e diversificadas famílias de biopolímeros, para os quais numerosas aplicações, como por exemplo, a preparação de materiais nanoestruturados, como nanopartículas, filmes finos e nanocompósitos, têm surgido como resultado do aumento da demanda de diferentes setores da indústria. Para satisfazer essa demanda, é necessário caracterizar estruturalmente os polissacarídeos, o que foi feito neste trabalho através de métodos espectroscópicos. O principal objetivo deste trabalho foi identificar regiões espectrais e frequências características em termos dos modos vibracionais, e dessa maneira, distinguir entre diferentes amostras de carboidratos ou configurações estruturais. Espectroscopia Raman, bem como a espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier têm sido utilizadas como ferramentas importantes para elucidar a estrutura. A espectroscopia de fluorescência foi também utilizada em algumas amostras, uma vez que estas não apresentaram nenhum sinal Raman, mas uma intensidade crescente em todo seu espectro. Utilizando as técnicas mencionadas acima, foi possível identificar os modos vibracionais característicos desses polissacarídeos e o tipo de ligação química a eles associados.

# Abstract

In this work we studied the vibrational properties of polysaccharides from the group of starches, galactomannans and xyloglucans, obtained from diverse sources. These materials constitute one of the most abundant and diversified families of biopolymers, to which innumerable applications, as for instance the preparation of nanostructured materials, like nanoparticles, thin films and nanocomposites, resulted from the growing demand from different sectors of the industry. In order to fulfill these demands it is necessary to characterize the polysaccharides structurally, what has been done in this work through spectroscopic methods. The main goal in this work was to identify characteristic regions and vibrational frequencies, and by doing so to be able to distinguish amongst different carbohydrate samples or structural configurations. Raman spectroscopy, as well as Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) have been used as important tools to elucidate these structures, once the information from these techniques are complementary. Also fluorescence spectroscopy has been utilized in some of the samples, since they have shown no Raman signal, but an increased intensity in their whole spectra. Using the techniques mentioned above it was possible to identify the characteristic vibrational modes of these polysaccharides and the chemical bond type associated to them.

# Sumário

<b>Lista de Figuras</b>	<b>viii</b>
<b>Lista de Tabelas</b>	<b>xii</b>
<b>1 Introdução</b>	<b>1</b>
<b>2 Propriedades Ópticas</b>	<b>4</b>
2.1 Introdução . . . . .	4
2.2 Métodos ópticos de caracterização . . . . .	5
2.2.1 Fluorescência . . . . .	7
2.2.2 Espalhamento Raman . . . . .	12
2.2.3 Espectroscopia no Infravermelho . . . . .	17
<b>3 Materiais e Métodos</b>	<b>21</b>
3.1 Polissacarídeos . . . . .	21

3.1.1	Descrição das amostras utilizadas . . . . .	22
3.1.2	Extração e purificação das amostras . . . . .	23
3.1.3	Amidos . . . . .	26
3.1.4	Galactomananas . . . . .	27
3.1.5	Xiloglucanas . . . . .	28
3.2	Métodos de caracterização óptica . . . . .	30
3.2.1	Espectroscopia Raman . . . . .	30
3.2.2	Espectroscopia de Fluorescência . . . . .	31
3.2.3	Espectroscopia de Infravermelho . . . . .	34
<b>4</b>	<b>Resultados e Discussões</b>	<b>38</b>
<b>5</b>	<b>Conclusão</b>	<b>71</b>
	<b>Bibliografia</b>	<b>74</b>
	<b>Anexo</b>	<b>79</b>



# Lista de Figuras

2.1	Quatro modos possíveis de interação entre a luz e a matéria [2]. . . . .	5
2.2	Diagrama de Jablonski [2]. . . . .	10
2.3	Processos de absorção e emissão entre os estados eletrônicos $S_0$ e $S_1$ de uma molécula orgânica [7]. . . . .	11
2.4	Diagrama de níveis de energia para o espalhamento Raman [13]. . . . .	13
2.5	Espectro Raman do ciclo hexano [13]. . . . .	13
2.6	Diagrama de níveis de energia para o infravermelho [13]. . . . .	17
2.7	Espectro de infravermelho do etanol [13]. . . . .	18
2.8	Esquema de um espectrômetro por transformada de Fourier [6]. . . . .	19
2.9	Interferograma típico obtido por um espectrômetro no infravermelho por transformada de Fourier e o espectro correspondente [6]. . . . .	20
3.1	Esquema de extração dos polissacarídeos [19] [20]. . . . .	25
3.2	Estrutura parcial da amilose [16]. . . . .	26

3.3	Estrutura parcial da amilo-pectina [16]. . . . .	27
3.4	Estrutura parcial da galactomanana [22]. . . . .	29
3.5	Estrutura parcial da xiloglucana [24]. . . . .	30
3.6	Montagem experimental utilizada para obtenção dos espectros Raman [25]. . . . .	32
3.7	Esquema óptico do espectrômetro triplo. . . . .	33
3.8	Montagem experimental utilizada para obtenção dos espectros de fluorescência. . . . .	34
3.9	Espectrômetro Bomem MB Série 100, utilizado para obtenção dos espectros de infravermelho. . . . .	36
3.10	Prensa hidráulica utilizada para preparação das pastilhas. . . . .	37
3.11	Equipamento utilizado para preparação das pastilhas. . . . .	37
4.1	Espectro Raman da amilose e da amilo-pectina. . . . .	41
4.2	Ligação do tipo $\alpha - (1 \rightarrow 4)$ presente na cadeia principal da amilose e da amilo-pectina [35]. . . . .	42
4.3	Espectro de infravermelho por transformada de Fourier da amilose e da amilo-pectina. . . . .	45
4.4	Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier da amilose. . . . .	47

4.5	Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier da amilo-pectina. . . . .	48
4.6	Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier do amido de milho, amostra A08. . . . .	49
4.7	Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier do amido de mandioca, amostra A32. . . . .	50
4.8	Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier da galactomanana de pau-ferro, amostra PF. . . . .	53
4.9	Espectro Raman da proteína albumina. . . . .	54
4.10	Espectro de fluorescência da galactomanana de pau-ferro, amostra PF. . . . .	55
4.11	Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier da galactomanana de goma guar, amostra GG. . . . .	57
4.12	Cadeia principal de um aminoácido, constituinte de uma proteína [35]. . . . .	58
4.13	Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier das xiloglucanas extraídas de jatobá-mirim, amostra JM e de jatobá, amostra JMN. . . . .	59
4.14	Espectro de fluorescência das xiloglucanas extraídas de jatobá-mirim, amostra JM e de jatobá, amostra JMN. . . . .	60
4.15	Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier da xiloglucana de tamarindo, amostra TM. . . . .	61
4.16	Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier da xiloglucana de jatobá, amostra JRA. . . . .	62

4.17	Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier da xiloglucana de jatobá purificada, amostra JRApur. . . . .	63
5.1	Estrutura geral de um aminoácido. . . . .	80
5.2	Estrutura parcial da celulose. . . . .	81
5.3	Configuração alfa. . . . .	81
5.4	Configuração beta. . . . .	82
5.5	Projeção de Fischer da D-glicose. . . . .	83
5.6	Ligação do tipo $\alpha - (1 \rightarrow 4)$ . . . . .	83
5.7	Projeção de Fischer da L-fucose. . . . .	84
5.8	Projeção de Fischer da D-xilose. . . . .	84
5.9	Projeção de Fischer da D-galactose. . . . .	85
5.10	Parte de uma cadeia proteica mostrando as ligações peptídicas. . . . .	86

# Lista de Tabelas

3.1	Descrição das amostras utilizadas neste estudo. . . . .	23
4.1	Resumo das regiões espectrais em função dos modos vibracionais [29].	40
4.2	Bandas observadas nos espectros Raman da amilose e da amilo-pectina [29], [31], [32]. . . . .	44
4.3	Bandas observadas nos espectros Raman do amido de milho ( <i>amostraA08</i> ) e do amido de mandioca ( <i>amostraA32</i> ) [29], [31], [32]. . . . .	52
4.4	Bandas observadas nos espectros Raman dos polissacarídeos [29], [31], [32]. . . . .	68
4.5	Bandas observadas nos espectros de infravermelho por transformada de Fourier dos polissacarídeos [32], [36]. . . . .	70

# Capítulo 1

## Introdução

Sendo um dos principais constituintes de sistemas biológicos e importante em muitos processos fisiológicos, os carboidratos, sendo polissacarídeos ou oligossacarídeos, estão presentes em plantas (por exemplo celulose), no exoesqueleto de caranguejos e insetos (quitina), e também em outros animais na forma, por exemplo, de glicogênio. Suas propriedades físico-químicas e compatibilidade com seres vivos, os tornam excelentes candidatos a aplicações biotecnológicas. Eles podem ter, por exemplo, atividade farmacológica própria ou podem servir como veículo de outros princípios ativos. Também, a diversidade das aplicações dos carboidratos poliméricos pode ser manipulada pela obtenção de nanopartículas de polissacarídeos.

O presente trabalho foi desenvolvido a partir de um projeto inserido na rede Nanoglicobiotecnologia, aprovada no edital 29/2005 do CNPq, o qual visava o fomento a redes cooperativas de nanociência, nanotecnologia e nanobiotecnologia. A Rede Nanoglicobiotecnologia tem como objetivos a obtenção, modificação e caracterização de polissacarídeos naturais, provenientes da biodiversidade brasileira, para o desenvolvimento de nanopartículas e nanocompósitos para o uso em fármacos e a obtenção de filmes e compósitos nanoestruturados para o desenvolvimento de biosensores [1]. Com o desenvolvimento de sistemas nanoestruturados seria possível,

por exemplo, a sua utilização em indústrias de biotecnologia, as quais entre outras podemos citar a liberação de drogas, controlada ou não, e a produção de vacinas a partir destes sistemas nanoestruturados. Estes processos propiciam aumento do valor agregado à matéria prima disponível no Brasil.

Dentro do projeto da Rede Nanoglicobiotec, a meta primordial é o isolamento, obtenção, purificação e caracterização dos polissacarídeos e glicoconjugados, os quais serão utilizados na preparação dos nanomateriais. No presente trabalho, uma vez inserido nesta rede de pesquisa, as atividades desenvolvidas consistiram na caracterização espectroscópica das propriedades vibracionais de polissacarídeos naturais extraídos da flora brasileira e comparados com produtos semelhantes já comerciais. Para esta análise utilizou-se do espalhamento Raman, fluorescência e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier.

O desenvolvimento do laser na década de 60 do século passado levou a um grande avanço na espectroscopia óptica. Antes da era do laser existiam poucos grupos capazes de realizar experimentos de espalhamento Raman devido as enormes dificuldades em se utilizar lâmpadas espectrais como fontes de excitação. Com o laser foi possível estudar materiais opacos, com pequenas seções de choque de espalhamento. A espectroscopia Raman, bem como a espectroscopia de infravermelho fornecem informações sobre a conformação molecular, distribuição dos elétrons em ligações químicas, ambiente molecular, etc, mas isso só é possível mediante uma boa interpretação do espectro vibracional do material. Dessa maneira o objetivo deste trabalho é identificar regiões espectrais e frequências características em termos dos modos vibracionais e assim distinguir entre diferentes amostras de carboidratos ou configurações estruturais.

No capítulo 2 é apresentada uma pequena introdução das propriedades ópticas e dos métodos ópticos de caracterização aqui utilizados, com uma breve descrição dos mesmos.

No capítulo 3 é feita a descrição dos tipos de polissacarídeos utilizados neste trabalho. Antes porém, neste mesmo capítulo, é feita a descrição das

amostras utilizadas, assim como seu processo de extração e purificação. Logo em seguida descrevemos os métodos ópticos de caracterização e as respectivas montagens experimentais empregadas.

Os resultados obtidos assim como a análise dos mesmos estão contidos no capítulo 4. As análises se referem aos espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier.

As conclusões obtidas e perspectivas futuras são apresentadas no capítulo 5.



# Capítulo 2

## Propriedades Ópticas

### 2.1 Introdução

Quando a radiação eletromagnética interage com um sólido, os vetores campo elétrico e magnético da radiação incidente se acoplam com os átomos que constituem o sólido. Essa interação resulta em quatro componentes macroscópicas, denominadas: radiação refletida, radiação absorvida, radiação transmitida e radiação espalhada. A figura 2.1 mostra as possíveis interações entre a luz e a matéria. Maiores detalhes a respeito de cada uma dessas interações são encontrados na literatura citada ao longo do texto.

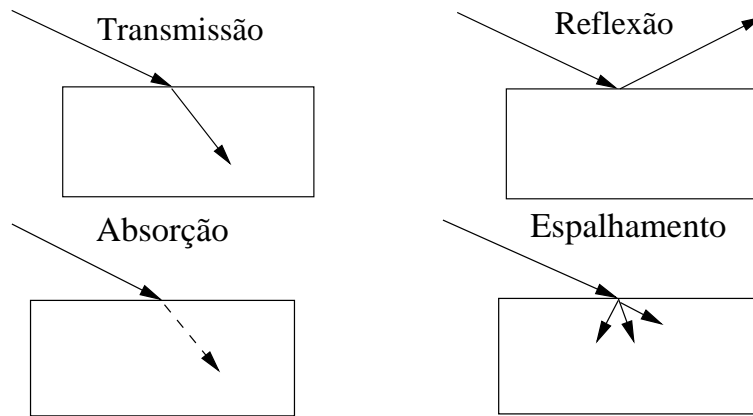


Figura 2.1: Quatro modos possíveis de interação entre a luz e a matéria [2].

## 2.2 Métodos ópticos de caracterização

As medidas da reflexão, transmissão, absorção, espalhamento da luz ou luminescência como função do seu comprimento de onda, levam a importantes informações sobre as propriedades eletrônicas, bem como as propriedades vibracionais dos materiais.

As interações da luz com a matéria têm sido utilizadas há mais de um século para o estudo de suas propriedades eletrônicas e estruturais. Com a evolução dos métodos de preparação de materiais, muitos dos métodos ópticos de caracterização foram utilizados para estudar em detalhes os compostos simples, cristalinos e amorfos. Eles possibilitam conhecer os estados eletrônicos e vibracionais dos materiais [3].

Vamos tratar inicialmente apenas os processos de absorção e transmissão. Quando a radiação luminosa passa através de um meio material, parte dessa radiação pode se transformar em outra forma de energia, principalmente calor. Esse processo é chamado absorção. Em uma definição mais geral, absorção é um processo termodinâmico irreversível.

Vamos considerar um bloco de um material que possui uma face colorida e outra face clara com índice de refração uniforme, e que a radiação luminosa

incide no bloco à esquerda. Por causa da mudança de parte da radiação luminosa em calor, uma quantidade menor de energia emerge à direita. Chamando  $\phi_0$  a quantidade de radiação luminosa incidente no bloco e  $\phi'$  a quantidade de radiação que emerge dele, a razão entre as quantidades da radiação luminosa transmitida e a quantidade da radiação luminosa incidente, ambas medidas no mesmo comprimento de onda, é chamada transmitância,  $T$ , [4]

$$T = \frac{\phi'}{\phi_0} \quad (2.1)$$

Assumindo que o bloco é cortado em uma série de fatias finas, cada uma com espessura  $\Delta x$ , neste caso como todas as fatias são semelhantes, elas absorverão a mesma porcentagem de radiação luminosa e as quantidades efetivas são progressivamente menores. Dessa maneira, os termos transmitância e absorvância têm significados opostos. Enquanto a transmitância é uma porcentagem, a absorvância,  $A$ , algumas vezes chamada densidade óptica, é definida como o logaritmo na base 10 do inverso da transmitância,

$$A = \log \frac{1}{T} \quad (2.2)$$

Como a transmitância,  $T$ , é a razão entre as quantidades da radiação luminosa transmitida,  $\phi'$ , e a quantidade da radiação luminosa incidente,  $\phi_0$ , a absorvância também pode ser definida como:

$$A = \log \frac{\phi'}{\phi_0} \quad (2.3)$$

Se o bloco é feito de um material uniforme, então em cada fatia uma certa quantidade de radiação luminosa,  $\Delta\phi$ , é perdida,

$$\Delta\phi = \phi_0 - \phi' \quad (2.4)$$

A magnitude dessa perda é proporcional à quantidade de radiação luminosa incidente,  $\phi_0$ , à uma constante de proporcionalidade chamada coeficiente de absorção,  $\alpha$ , e à espessura da fatia,  $\Delta x$ :

$$\Delta\phi = -\phi_0\alpha\Delta x \quad (2.5)$$

O coeficiente de absorção é uma característica do material e também é uma função do comprimento de onda.

Assumindo que as fatias individuais, ao invés de possuírem uma espessura  $\Delta x$ , são infinitesimalmente finas, a razão  $\frac{\Delta\phi}{\phi_0}$  se tornará:

$$\frac{d\phi}{\phi_0} = -\alpha dx \quad (2.6)$$

Para encontrar a perda total, dentro de um bloco de espessura  $x$ , integramos a equação 2.14 entre os limites de  $\phi$  e  $x$  e encontramos:

$$\ln\left(\frac{\phi'}{\phi_0}\right) = -\alpha x \quad (2.7)$$

Então:

$$\frac{\phi'}{\phi_0} = e^{-\alpha x} \quad (2.8)$$

E:

$$\phi' = \phi_0 e^{-\alpha x} \quad (2.9)$$

a qual é a lei exponencial da absorção.

Então temos um conjunto de equações que relacionam a absorbância e a transmitância:

$$A = \log \frac{\phi'}{\phi_0} \quad (2.10)$$

$$A = 0.4343\alpha x \quad (2.11)$$

$$T = \frac{1}{10^A} \quad (2.12)$$

$$\alpha = 2.3026 \frac{A}{x} \quad (2.13)$$

### 2.2.1 Fluorescência

Luminescência é o termo geral para descrever os processos que induzem a emissão de luz por uma substância. A luminescência consiste no processo de emissão de radiação eletromagnética por um material, associada com uma transição

de um estado eletrônico excitado para um estado mais baixo.

Na fotoluminescência o processo de excitação está relacionado à absorção de luz, fazendo com que elétrons do material passem de um estado de mais baixa energia para um de mais alta, para em seguida voltar a estados de mais baixa energia, emitindo o excesso de energia na forma de fótons. A frequência da radiação emitida pela amostra está intimamente relacionada com os estados eletrônicos do material que a compõe. Os fenômenos de fotoluminescência podem ser divididos em duas categorias: fluorescência e fosforescência.

A emissão a partir de um estado excitado para um outro estado com mesma multiplicidade de spin é chamada de fluorescência. Nesse processo a absorção inicial de radiação leva a molécula para um estado eletrônico excitado. A molécula excitada está sujeita a colisões com as moléculas vizinhas e vai cedendo energia de forma não-radiativa, em etapas, ao longo da seqüência de níveis vibracionais, até atingir o nível de vibração mais baixo do estado eletrônico excitado da molécula. A molécula excitada pode ter vida suficientemente longa para sofrer emissão espontânea e emitir o excesso de energia remanescente na forma de radiação. A fluorescência ocorre em frequência mais baixa do que a da radiação incidente, pois a transição radiativa só se dá depois de parte da energia vibracional ter se dispersado no ambiente [5].

A emissão a partir de um estado excitado para um outro estado com multiplicidade de spin diferente é chamada de fosforescência. Essa ocorrência de uma transição proibida de spin é promovida pelo acoplamento spin-órbita, o qual relaxa a propriedade de spin pela combinação com um orbital. Na produção de um estado excitado pela promoção de um elétron dentro de um orbital mais elevado, a direção do spin do elétron é preservada. Como muitas moléculas têm um número de elétrons emparelhados e esses são normalmente arranjados em pares de spin oposto, a promoção de um elétron não perturba essa paridade. No entanto é possível que o spin do elétron promovido seja invertido e a molécula tem dois elétrons independentes com mesmo spin em orbitais diferentes. Essas moléculas podem existir em

três formas pouco diferentes, mas normalmente com energias indistinguíveis, e é dito que a molécula existe em um estado tripleto. O processo indireto de conversão de um estado excitado produzido pela absorção de energia do estado singlete para o estado tripleto, é conhecido como cruzamento entre sistemas e pode ocorrer em muitas substâncias quando o estado vibracional mais baixo do estado singlete excitado,  $S_1$ , tem o mesmo nível de energia do estado vibracional mais elevado do estado tripleto.

Os processos que podem acontecer após a excitação, criada pela absorção de radiação, podem ser radiativos ou não radiativos. Nos processos radiativos a radiação é emitida e a molécula retorna a um estado de mais baixa energia; e nos processos não radiativos a energia do estado excitado é dissipada como calor ou produzindo reações químicas (fotoquímica). O retorno a um estado de mais baixa energia também pode envolver a combinação de ambos os processos.

Moléculas simples produzem freqüentemente "impressões digitais" características, como estruturas nos espectros de fluorescência, com um alto rendimento quântico, ou seja, a eficiência da fluorescência é maior do que a do espalhamento. Para moléculas poliatômicas maiores, o rendimento quântico é geralmente baixo, pois estas moléculas podem retornar a um estado de mais baixa energia por processos não radioativos ou fotodissociados do estado excitado [6].

O cruzamento de estado a estado e os vários possíveis processos radiativos e não radiativos em uma estrutura orgânica são freqüentemente representados pelo chamado diagrama de Jablonski, mostrado na figura 2.2. Nesse diagrama, os processos radiativos são representados por uma seta em linha reta, e os processos não radiativos são representados por uma seta ondulada.

O estado fundamental de muitas moléculas, orgânicas em particular, envolve elétrons emparelhados; conseqüentemente, seu spin total é zero e a multiplicidade do spin é  $2S + 1 = 1$ . Esses são estados singlete e, em ordem de aumento da energia a partir do estado fundamental, são denominados,  $S_0$ ,  $S_1$ ,  $S_2$ , e assim por diante. Para moléculas, as quais o estado fundamental é  $S_0$ , a excitação de um elétron pode produzir tanto um estado onde os dois elétrons continuam emparelhados ou

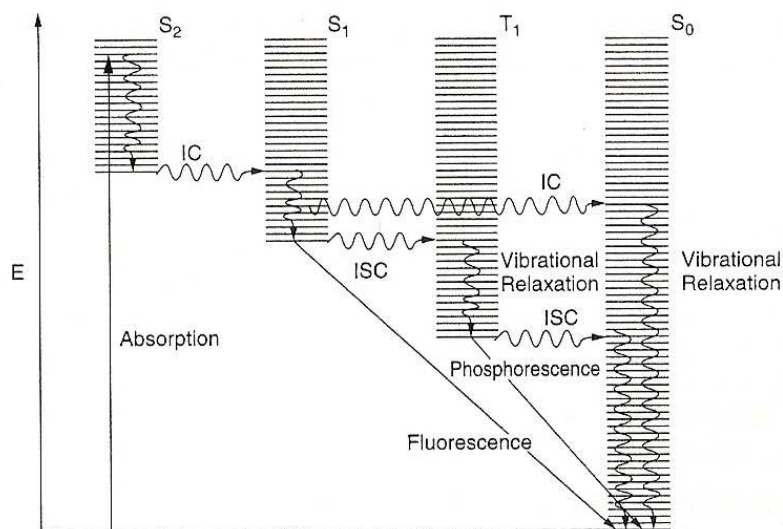


Figura 2.2: Diagrama de Jablonski [2].

um estado onde os dois elétrons estão desemparelhados, denominado estado tripleto (estado T). As configurações de estados tripleto excitados são denominadas  $T_1$ ,  $T_2$ , e assim por diante em ordem do aumento de energia.

Na figura 2.2 o cruzamento entre dois estados eletrônicos com mesma multiplicidade de spin é denominado conversão interna (IC). Já o cruzamento entre dois estados de spin diferentes é chamado cruzamento entre sistemas (ISC). Nessa mesma figura  $S_0$ ,  $S_1$ ,  $S_2$ , são estados singlete e  $T_1$  é um estado tripleto [2].

As energias dos estados fundamental e excitado são funções da coordenada de configuração do sistema, a qual representa a posição dos núcleos atômicos. Em geral, a configuração de equilíbrio do estado excitado é diferente da configuração do estado fundamental. Uma vez que as transições eletrônicas acontecem em uma escala temporal muito mais rápida que os movimentos nucleares, menos de  $10^{-15}$  s comparada a aproximadamente  $10^{-13}$  s, o núcleo não dispõe de tempo para mudar sua configuração durante uma transição eletrônica.

Uma molécula em um estado vibracionalmente excitado será submetida a relaxação não radiativa para o estado vibracional mais baixo em uma escala de tempo de aproximadamente  $10^{-13}$  s. Conseqüentemente a emissão de radiação

ocorre a partir do estado vibracional mais baixo do primeiro estado eletrônico excitado. Assim os espectros de absorção e emissão mostram uma simetria de espelho, com a emissão ocorrendo a energias mais baixas.

A absorção e emissão para uma molécula orgânica são representadas na figura 2.3. As transições eletrônicas são representadas por linhas verticais e são conhecidas como transições verticais ou transições de Franck-Condon [7].

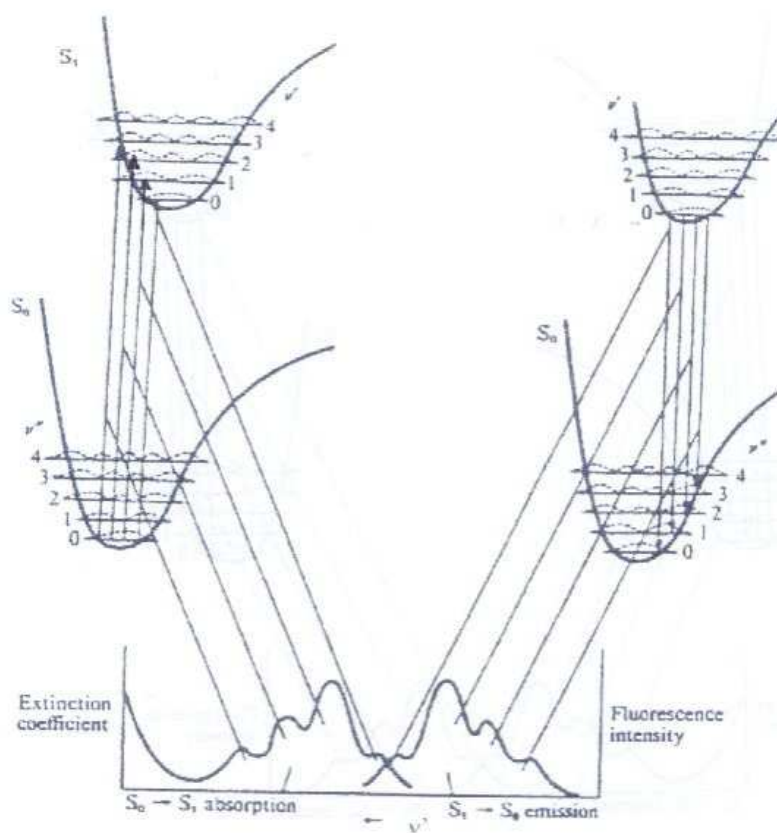


Figura 2.3: Processos de absorção e emissão entre os estados eletrônicos  $S_0$  e  $S_1$  de uma molécula orgânica [7].



## 2.2.2 Espalhamento Raman

O espalhamento Raman é um método poderoso para estudar os modos vibracionais de um material. A espectroscopia Raman tem sido apontada como uma ferramenta importante na biologia estrutural, uma vez que está relacionada com as posições dos átomos, distribuição eletrônica e forças intermoleculares. Estas características fazem com que a espectroscopia Raman consiga uma correlação entre estrutura e função [8]. Quando a luz é espalhada por uma molécula, muitos fótons são espalhados elasticamente; este é chamado espalhamento Rayleigh. No espalhamento Rayleigh, o fóton espalhado tem a mesma energia do fóton incidente. O termo espalhamento inelástico de luz surgiu primeiramente em trabalhos teóricos de P.L.Brillouin em 1922 [9] e de A.Smekal em 1923 [10]. Alguns anos depois, em 1928, o espalhamento inelástico de luz por fônons foi observado experimentalmente por Sir C.V.Raman [11] e por Landsberg e Mandelstam [12] de forma independente.

O espalhamento Raman corresponde a uma pequena fração, 1 a cada  $10^7$ , dos fótons incidentes, normalmente fora das condições de ressonância. A princípio o espalhamento de luz por excitações elementares, como fônons ópticos, modos vibracionais e rotacionais, mágnons, plasmons, entre outras, é denominado de espalhamento Raman. Neste capítulo descreveremos apenas brevemente o espalhamento Raman por modos vibracionais e rotacionais. Ocorre com uma mudança da energia vibracional, rotacional ou eletrônica da molécula. Neste tipo de espalhamento, dito inelástico, as energias dos fótons incidente e espalhado são diferentes. Se a frequência do fóton espalhado é menor do que a do fóton incidente, uma transição vibracional do nível mais baixo para o nível mais alto é induzida. Esse processo é chamado espalhamento **Raman Stokes** e os picos correspondentes no espectro Raman são chamados **linhas Stokes**. Se o fóton espalhado é de frequência mais alta do que a frequência do fóton incidente, uma transição de um nível vibracional mais alto para um mais baixo é induzida, originando as **linhas anti-Stokes**. As figuras 2.4 e 2.5 mostram, respectivamente, um diagrama esquemático dos dois tipos possíveis de

espalhamento Raman e um espectro Raman típico do ciclo hexano.

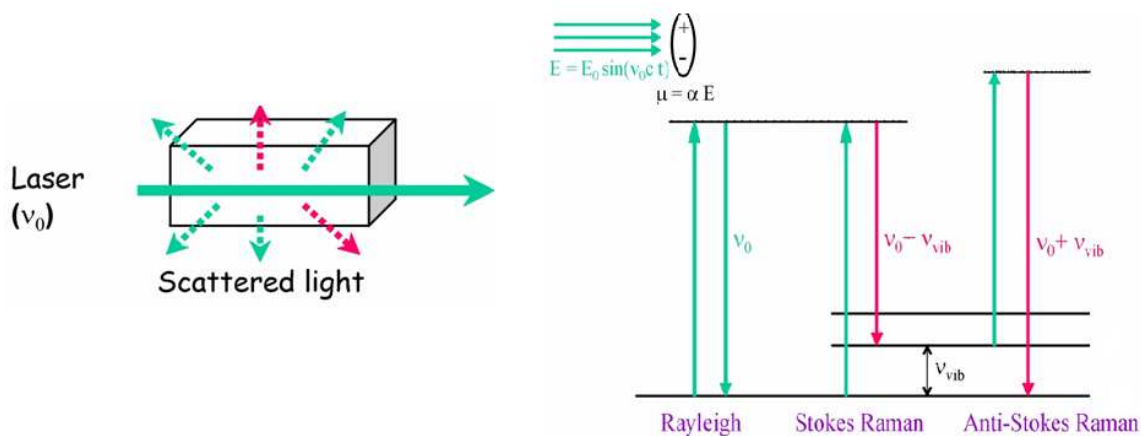


Figura 2.4: Diagrama de níveis de energia para o espalhamento Raman [13].

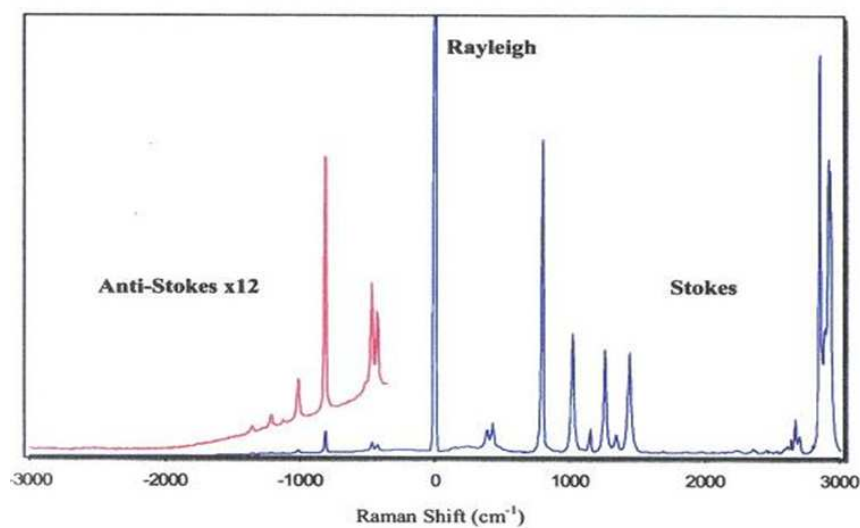


Figura 2.5: Espectro Raman do ciclo hexano [13].

Assim, num espectro Raman típico completo, devem aparecer três regiões: uma correspondente às linhas Stokes, outra correspondente às linhas anti-Stokes, além da região correspondente ao espalhamento elástico, linha Rayleigh, a

qual corresponde aos fótons espalhados com mesma frequência e energia dos fótons incidentes. As intensidades destas linhas podem ser calculadas usando uma teoria semi-clássica. Nesta, a interação entre o meio material e a radiação é feita através da susceptibilidade elétrica  $\chi$ , em geral um tensor de segunda ordem. No caso de um meio isotrópico,  $\chi$  pode ser representada por um escalar. Considerando um campo eletromagnético incidente plano senoidal, presente em um meio, descrito por [14]:

$$\vec{E}(\vec{r}, t) = \vec{E}_i(\vec{k}, \omega) \cos(\vec{k}_i \cdot \vec{r} - \omega_i \cdot t) \quad (2.14)$$

Uma polarização senoidal  $\vec{P}(\vec{r}, t)$  será induzida.

$$\vec{P}(\vec{r}, t) = \chi(\vec{E}) \cos(\vec{k}_i \cdot \vec{r} - \omega_i \cdot t) \quad (2.15)$$

Nas equações 2.14 e 2.15,  $\vec{r}$ ,  $t$ ,  $\vec{k}$  e  $\omega$ , representam o vetor posição, o tempo, o vetor de onda e a frequência, respectivamente.

A frequência e o vetor de onda da polarização  $\vec{P}$  são os mesmos da radiação incidente.

Se o meio está a uma temperatura finita, existem flutuações em  $\chi$  devido às vibrações atômicas excitadas termicamente. Os modos normais das vibrações atômicas em sólidos cristalinos ou semicristalinos são quantizados e se denominam fônons. Os deslocamentos atômicos  $\vec{Q}(\vec{r}, t)$  associados com um fônon podem ser expressos como ondas planas com vetor de onda  $\vec{q}$  e frequência  $\omega_0$ . Essa descrição é válida para moléculas, além de sólidos.

$$\vec{Q}(\vec{r}, t) = \vec{Q}(\vec{q}, \omega_0) \cos(\vec{q} \cdot \vec{r} - \omega_0 \cdot t) \quad (2.16)$$

Essas vibrações atômicas modificam  $\chi$ . Assumindo que as frequências eletrônicas que determinam  $\chi$  são muito maiores que  $\omega_0$ , então  $\chi$  pode ser tomado como função de  $\vec{Q}$ . Esse fato é conhecido como aproximação quase-estática ou adiabática. Normalmente as amplitudes dessas vibrações à temperatura ambiente são pequenas, comparadas com a constante de rede e  $\chi$  pode ser expandida como uma série de Taylor em  $\vec{Q}(\vec{r}, t)$ :

$$\chi(\vec{k}_i, \omega_i, \vec{Q}) = \chi_0(\vec{k}_i, \omega_i) + \left(\frac{\partial \chi}{\partial \vec{Q}}\right)_0 \vec{Q}(\vec{r}, t) + \dots \quad (2.17)$$

Na equação 2.17  $\chi_0$  representa a susceptibilidade elétrica do meio sem flutuações.

Fazendo a substituição da equação 2.17 em 2.15 , pode-se expressar a polarização  $\vec{P}(\vec{r}, t, \vec{Q})$  do meio na presença de vibrações atômicas como:

$$\vec{P}(\vec{r}, t, \vec{Q}) = \vec{P}_0(\vec{r}, t) + \vec{P}_{ind}(\vec{r}, t, \vec{Q}) \quad (2.18)$$

Onde:

$$\vec{P}_0(\vec{r}, t) = \chi_0(\vec{k}_i, \omega_i) \vec{E}_i(\vec{k}_i, \omega_i) \cos(\vec{k}_i \cdot \vec{r} - \omega_i \cdot t) \quad (2.19)$$

A equação 2.19 representa a polarização vibrando em fase com a radiação incidente e  $\vec{P}_{ind}(\vec{r}, t, \vec{Q})$  é a polarização induzida pelo fônon ou outra flutuação similar.

$$\vec{P}_{ind}(\vec{r}, t, \vec{Q}) = \left(\frac{\partial \chi}{\partial \vec{Q}}\right)_0 \vec{Q}(\vec{r}, t) \vec{E}_i(\vec{k}_i, \omega_i) \cos(\vec{k}_i \cdot \vec{r} - \omega_i \cdot t) \quad (2.20)$$

Para determinar a freqüência e o vetor de onda de  $\vec{P}_{ind}$ , reescreve-se  $\vec{P}_{ind}(\vec{r}, t, \vec{Q})$  como:

$$\begin{aligned} \vec{P}_{ind}(\vec{r}, t, \vec{Q}) = & \left(\frac{\partial \chi}{\partial \vec{Q}}\right)_0 \vec{Q}(\vec{q}, \omega_0) \cos(\vec{q} \cdot \vec{r} - \omega_0 \cdot t) \times \\ & \vec{E}_i(\vec{k}_i, \omega_i) \cos(\vec{k}_i \cdot \vec{r} - \omega_i \cdot t) \end{aligned} \quad (2.21)$$

$$\begin{aligned} \vec{P}_{ind}(\vec{r}, t, \vec{Q}) = & \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \chi}{\partial \vec{Q}}\right)_0 \vec{Q}(\vec{q}, \omega_0) \vec{E}_i(\vec{k}_i, \omega_i, t) \times \\ & \{ \cos[(\vec{k}_i + \vec{q}) \cdot \vec{r} - (\omega_i + \omega_0) \cdot t] + \cos[(\vec{k}_i - \vec{q}) \cdot \vec{r} - (\omega_i - \omega_0) \cdot t] \} \end{aligned} \quad (2.22)$$

$\vec{P}_{ind}$  consiste em duas ondas senoidais: uma onda com vetor de onda  $\vec{k}_S = (\vec{k}_i - \vec{q})$  e freqüência  $\omega_S = (\omega_i - \omega_0)$  (deslocamento Stokes), outra com vetor de onda  $\vec{k}_{AS} = (\vec{k}_i + \vec{q})$  e freqüência  $\omega_{AS} = (\omega_i + \omega_0)$  (deslocamento anti-Stokes). Como em todos os processos de espalhamento em estruturas com perturbação periódicas (vibrações), a energia e o vetor de onda são grandezas conservadas.

A intensidade da radiação espalhada pode ser calculada a partir da média temporal da potência irradiada pelas polarizações induzidas  $\vec{P}_{ind}$  dentro de um ângulo sólido unitário. Uma vez que as polarizações induzidas para o espalhamento Stokes e anti-Stokes diferem apenas em suas frequências e vetores de onda, iremos considerar apenas o espalhamento Stokes. Essa intensidade depende da polarização da radiação espalhada,  $\vec{e}_S$ , como  $|\vec{P}_{ind} \cdot \vec{e}_S|^2$ . Denotando a polarização da radiação incidente por  $\vec{e}_i$ , a intensidade espalhada  $I_S$ , calculada a partir de 2.22, é proporcional à:

$$I_S = \propto \left| \vec{e}_i \cdot \left( \frac{\partial \chi}{\partial \vec{Q}} \right)_0 \vec{Q}(\omega_0) \cdot \vec{e}_S \right|^2 \quad (2.23)$$

Na equação 2.23 nota-se que a intensidade espalhada é proporcional ao quadrado da amplitude de vibração  $\vec{Q}$ . Assim, não há espalhamento Stokes se não há vibração atômica presente.

Para que uma vibração seja ativa por espalhamento Raman deve ocorrer uma mudança na susceptibilidade elétrica durante a vibração, ou seja:

$$\frac{\partial \chi}{\partial \vec{Q}} \neq 0 \quad (2.24)$$

É o caso de todas as moléculas diatômicas que são ativas em Raman e é o mesmo para moléculas poliatômicas, onde é suficiente que ao menos uma das componentes do tensor de susceptibilidade  $\vec{\chi}$ , seja variável com o modo normal de vibração considerado para que o modo seja ativo.

Isto quer dizer que ao menos uma das grandezas

$$\frac{\partial \chi_{xx}}{\partial \vec{Q}_i}, \frac{\partial \chi_{xy}}{\partial \vec{Q}_i}, \dots, \quad (2.25)$$

deve ser diferente de zero [15], para que a intensidade não seja nula.

### 2.2.3 Espectroscopia no Infravermelho

A condição para que ocorra absorção da radiação infravermelha é que haja variação do momento de dipolo elétrico da molécula como consequência de seu movimento vibracional ou rotacional. Somente nessas circunstâncias o campo elétrico da radiação incidente interage com a molécula. De outra forma, pode-se dizer que o espectro de absorção no infravermelho tem origem quando a radiação eletromagnética incidente tem uma componente com frequência correspondente a uma transição entre dois níveis vibracionais, como pode ser visto na figura 2.6. A vibração dos átomos no interior de uma molécula apresenta energia compatível com a região do espectro eletromagnético correspondente ao infravermelho (número de onda de 100 a 10000  $\text{cm}^{-1}$ ).

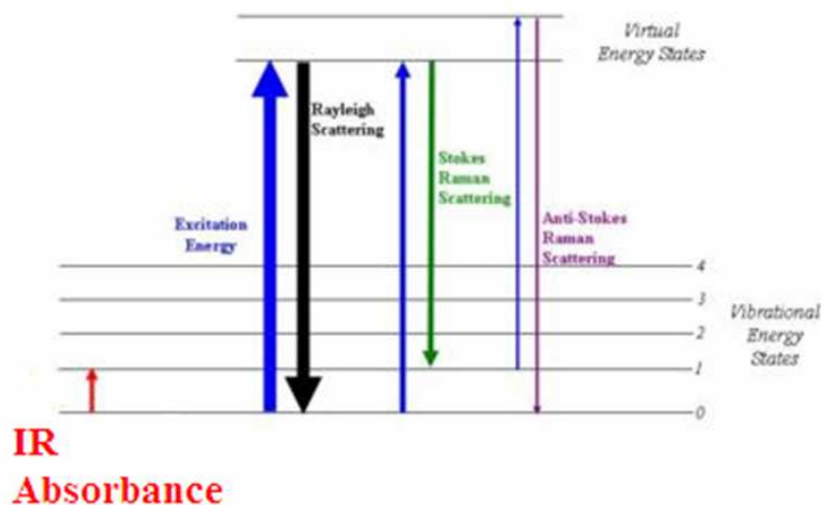


Figura 2.6: Diagrama de níveis de energia para o infravermelho [13].

A figura 2.7 mostra um espectro de infravermelho típico para o etanol.

Na região do infravermelho um tipo diferente de espectroscopia tem substituído a espectroscopia dispersiva para a maioria das aplicações, devido a suas

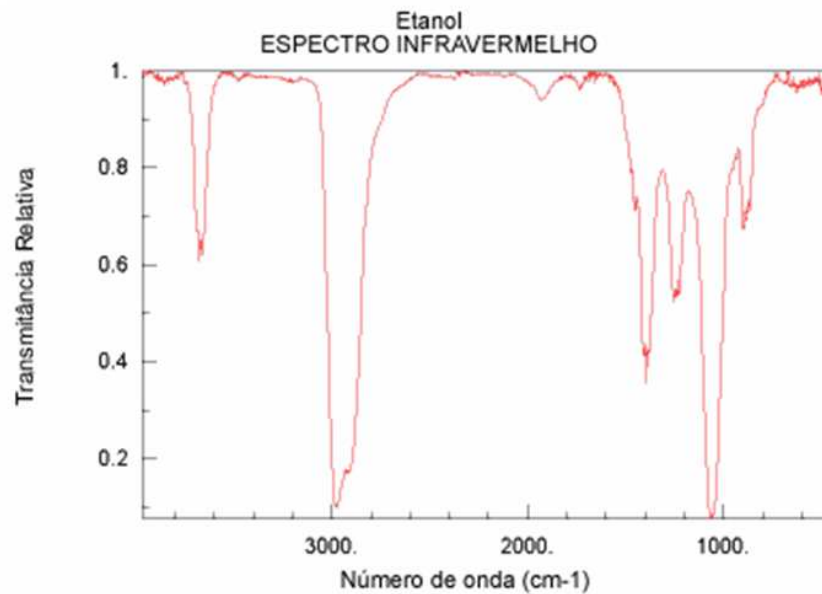


Figura 2.7: Espectro de infravermelho do etanol [13].

velocidade e sensibilidade superiores. Ao invés de analisar cada frequência componente, todas as frequências são examinadas simultaneamente na espectroscopia no infravermelho pelas características do experimento.

A base de qualquer espectrômetro no infravermelho por transformada de Fourier é o interferômetro de Michelson, mostrado na figura 2.8.

Nesse sistema, a radiação de uma fonte luminosa parcialmente coerente, emitindo na região do infravermelho em amplo espectro é dividida em dois feixes, no divisor de feixe. Um dos feixes segue em direção ao espelho de posição fixa no qual reflete de volta para o divisor de feixe, onde parte deste feixe reflete de volta para a fonte e parte vai para o detector. O outro feixe parte do divisor de feixe em direção ao espelho móvel. O espelho móvel também reflete o feixe, parte de volta para a fonte e parte para o detector. Se a posição do espelho móvel é tal que os dois feixes percorrem a mesma distância antes de chegar ao detector, então os dois feixes estão em fase, reforçando um ao outro (interferência construtiva) e, neste caso, a energia que chega ao detector será máxima, uma vez que a fonte é parcialmente coerente. Por outro lado, se a posição do espelho móvel for tal que os dois feixes

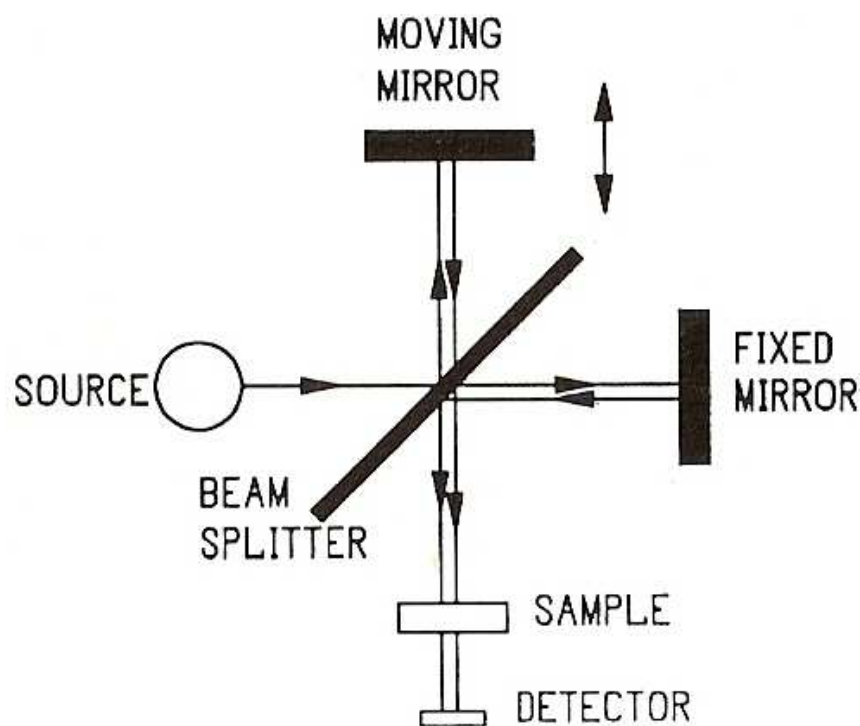


Figura 2.8: Esquema de um espectrômetro por transformada de Fourier [6].

estejam  $90^\circ$  fora de fase, então um cancela o outro e a energia que chega ao detector, nesse caso, será mínima. Portanto, à medida que o espelho móvel percorre determinada distância, um interferograma, como o mostrado na figura 2.9, é formado.

Apesar do interferograma conter toda a informação fornecida pelo espectrômetro sob um dado conjunto de condições, a forma com que essa informação se apresenta não é muito útil. Essa informação é convertida em espectro, como o da figura 2.9, relacionando-se as intensidades com as respectivas frequências, através da transformada de Fourier. O interferograma é formado pela soma de todas as ondas de diferentes amplitudes e frequências que chegam ao interferômetro e possui todas as informações espectrais da amostra.

As principais vantagens da espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier são:

- O instrumento apresenta poucos elementos ópticos e não necessita de fenda. A



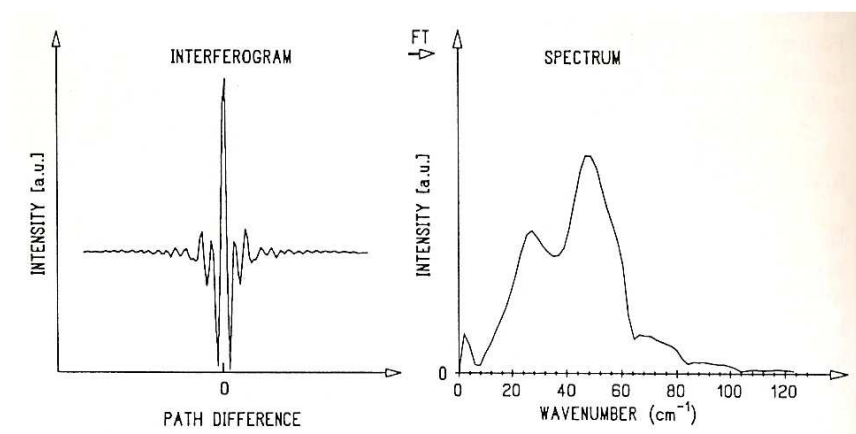


Figura 2.9: Interferograma típico obtido por um espectrômetro no infravermelho por transformada de Fourier e o espectro correspondente [6].

potência da radiação que chega ao detector é maior do que nos instrumentos dispersivos e maiores relações sinal/ruído são observadas.

- Melhores precisão e exatidão em termos de comprimento de onda.
- Todos os sinais da fonte alcançam o detector simultaneamente. Essa característica torna possível a obtenção de todo o espectro de uma só vez e isso possibilita aumentar o número de varreduras para aumentar a razão sinal/ruído.

Para uma molécula centrosimétrica com simetria de inversão existe uma exclusão mútua entre os modos Raman ativos (tipo g, pares) e aqueles ativos por infravermelho (tipo u, ímpares) [2]. Para moléculas mais complexas do que as centrosimétricas, devido ao acoplamento, alguns modos são Raman ativos e infravermelho também.

A espectroscopia no infravermelho e a espectroscopia Raman são técnicas complementares para caracterizar de maneira mais efetiva as propriedades vibracionais de materiais biológicos [2].

# Capítulo 3

## Materiais e Métodos

### 3.1 Polissacarídeos

Carboidratos compreendem umas das mais amplas classes de moléculas orgânicas e têm sido encontrados desempenhando papel fundamental em uma variedade de funções biológicas, por exemplo, nas funções de energia e estrutura da matéria viva [16].

Os polímeros de carboidratos, denominados polissacarídeos, constituem uma das mais abundantes e diversificadas famílias de biopolímeros. A sua estrutura primária varia em composição, seqüência, massa molar, configuração anomérica, posição de ligações e densidade de carga. Variabilidades adicionais resultam da sua susceptibilidade às mudanças ambientais como força iônica e grau de hidratação. Mudanças nestes parâmetros podem dar origem a inúmeras formas de estruturas químicas e de conformação, as quais refletem em uma grande variação de propriedades e aplicações, desde produtos químicos corriqueiros até especialidades químicas lucrativas para uso médico e de alta tecnologia. Numerosas outras aplicações estão surgindo como resultado do aumento da demanda por indústrias biotecnológicas,

farmacêuticas e outras [17].

A demanda do mercado para os polissacarídeos era da ordem de 60.000 toneladas em 2002. Este mercado mantém uma taxa de crescimento de 20 % ao ano, antevendo um consumo em 2015 da ordem de 1.000.000 t/ano, constituindo um mercado anual de US\$2 bilhões [18].

### 3.1.1 Descrição das amostras utilizadas

A seguir é feita uma descrição das amostras utilizadas neste trabalho.

As amostras utilizadas neste trabalho foram obtidas do Laboratório de Biopolímeros do Departamento de Química da UFPR (BIOPOL), sendo estas: Amilose S-4180, Lote: 99H0652, Amilo-pectina S-9679, Lote: 41K0263 e Albumina, fornecidas comercialmente pela Sigma - Alemanha. Amido de mandioca (amostra A32) e amido de milho (amostra A08), fornecidos comercialmente pela Corn Products Brasil Ingredientes Industriais Ltda, Balsa Nova - PR. O amido de mandioca é pré-gelatinizado para melhorar sua solubilidade e o amido de milho é nativo. Goma guar (amostra GG) comercializada pela Indian Gum Limited - B-5/7. M.I.A., Basni, Phase-Ist, Jodhpur-342005, Índia, fornecida pela empresa Herbarium S.A., Produtos Naturais - Curitiba/ Brasil. A galactomanana de pau-ferro (amostra PF) foi extraída pelo BIOPOL a partir de sementes de *Caesalpineia férrea* fornecidas pela Fazenda Conceição em Itatiba - SP. As xiloglucanas de jatobá (amostras JMN e JRA) foram extraídas pelo BIOPOL a partir de sementes de *Hymenaea courbaril*. As sementes da amostra JMN foram fornecidas pela Fazenda Conceição em Itatiba - SP, dentro de um projeto de reflorestamento denominado Matas Nativas, e as sementes da amostra JRA foram fornecidas pela EMBRAPA de Rancho Alegre - PR. A xiloglucana de tamarindo (amostra TM) foi extraída pelo BIOPOL a partir de sementes de *Tamarindus indica*, obtidas de fonte comercial em Curitiba - PR. A xiloglucana de jatobá-mirim (amostra JM) foi extraída pelo BIOPOL a partir de

sementes de *Guibourtia hymenifolia*, fornecidas pela Fazenda Conceição em Itatiba - SP. As amostras aqui descritas foram utilizadas em forma de pó no estudo de suas propriedades vibracionais.

A tabela 3.1 mostra um resumo das informações a respeito das amostras utilizadas neste trabalho.

Nomenclatura	Classificação do material	Fonte	Apresentação
Amilose	Amilose	Sigma	Pó
Amilpec	Amilo-pectina	Sigma	Pó
Albumina	Proteína	Sigma	Pó
A32	Amido de mandioca	Corn	Pó
A08	Amido de milho	Corn	Pó
GG	Galactomanana de goma guar	Herbarium	Pó
PF	Galactomanana de pau-ferro	BIOPOL	Pó
JMN	Xiloglucana de jatobá	BIOPOL	Pó
JRA	Xiloglucana de jatobá	BIOPOL	Pó
JRA pur	Xiloglucana de jatobá	BIOPOL	Pó
TM	Xiloglucana de tamarindo	BIOPOL	Pó
JM	Xiloglucana de jatobá-mirim	BIOPOL	Pó

Tabela 3.1: Descrição das amostras utilizadas neste estudo.

### 3.1.2 Extração e purificação das amostras

No caso das amostras não comerciais, amostras PF; JMN; JRA; JRA purificada; JM; TM, obtidas no BIOPOL, o processo de extração dos polissacarídeos é descrito na tese de doutorado de Sandra Martin [19]. Inicialmente ocorreu a quebra das sementes, que depois foram fervidas em água destilada por 15 minutos. Em

seguida foram descascadas, os seus cotilédones foram moídos e submetidos à extração aquosa exaustiva, a 25°C. Ao extrato aquoso obtido, foi adicionado cloreto de sódio e dois volumes de etanol comercial em quantidade suficiente para originar uma solução 0,1 mol/l. O precipitado, constituído pelo material bruto, foi separado e seco a 25°C.

Na seqüência o polissacarídeo bruto foi solubilizado em água destilada a uma concentração de 20g/l e a essa solução foi acrescentada solução de Fehling, desenvolvida pelo alemão Hermann von Fehling, usada para se diferenciar entre os grupos funcionais cetona e aldeído, e também para diferenciar açúcares. O material foi mantido sob refrigeração num período de 5 a 16 horas e, em seguida, o precipitado formado foi recolhido e descomplexado com ácido clorídrico 0,1 mol/l e à solução resultante foram adicionados dois volumes de etanol. O precipitado obtido foi separado e lavado várias vezes com etanol aquoso, até a remoção de todo o ácido. Após essa etapa, o material foi separado e seco a 25°C.

Depois de seco, o material foi novamente solubilizado em água destilada a uma concentração de 5g/l, centrifugado a 7000 rpm por 45 minutos e filtrado sucessivamente por membranas (MILLIPORE) de éster de celulose com 3,0; 0,8 e 0,22  $\mu\text{m}$  de diâmetro de poro. A solução obtida foi evaporada até um volume reduzido ( $\sim 150$  ml), tratada com dois volumes de etanol e seca a 25°C.

Para obtenção de amostras mais purificadas, o material depois de seco é novamente solubilizado em água destilada a uma concentração de 1g/l, centrifugado a 7000 rpm por 45 minutos e filtrado sucessivamente por membranas (MILLIPORE) de éster de celulose com 3,0; 0,8 e 0,22  $\mu\text{m}$  de diâmetro de poro. A solução obtida foi evaporada até um volume reduzido ( $\sim 150$  ml), tratada com dois volumes de etanol e seca a 25°C [19] [20].

O esquema da figura 3.1 mostra de maneira resumida o processo de extração das amostras.

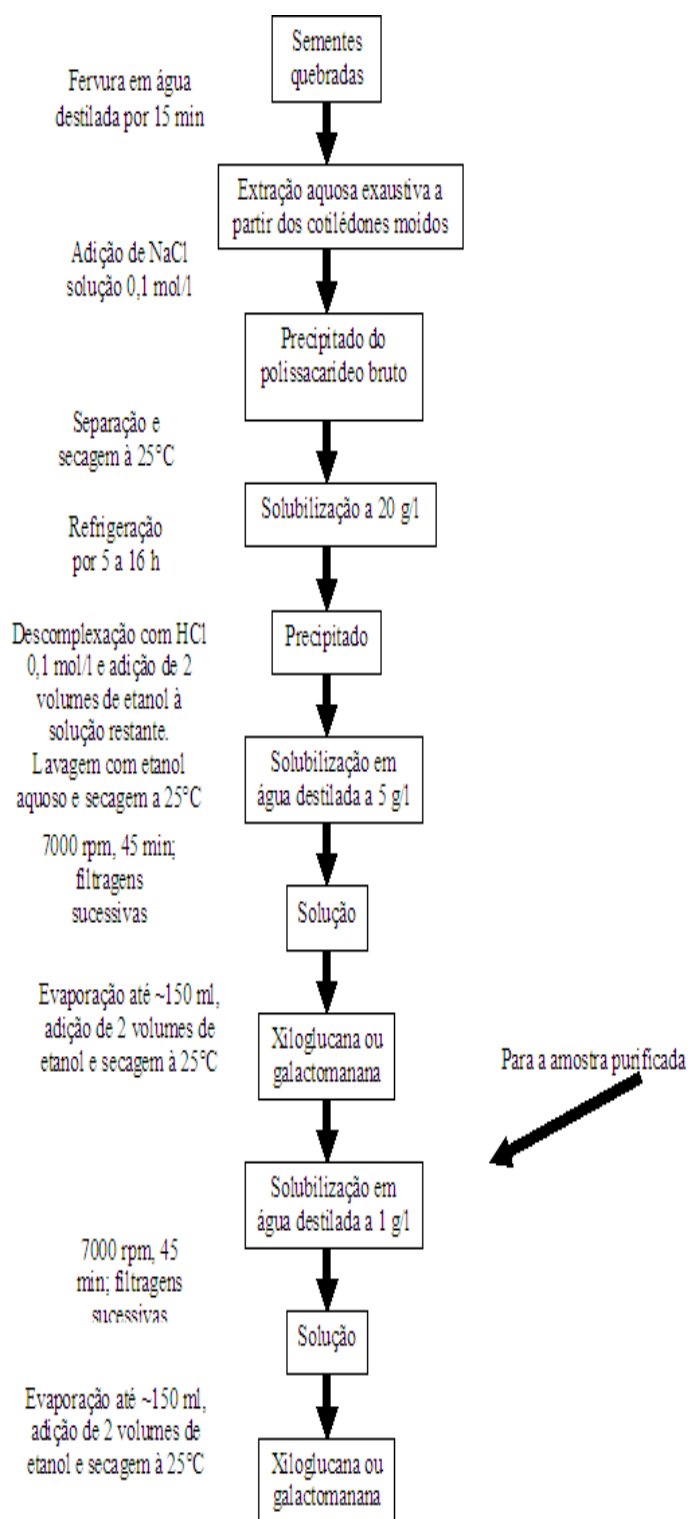


Figura 3.1: Esquema de extração dos polissacarídeos [19] [20].

### 3.1.3 Amidos

Os amidos são polímeros compostos de muitas unidades de glicose repetidas. As plantas utilizam o amido como principal reserva de energia, armazenando carboidratos na forma de grânulos nas sementes, frutos, tubérculos e raízes, dependendo da planta [16].

Amidos não são substâncias simples, e exceto em instâncias muito raras, são misturas de duas glucanas estruturalmente diferentes, ou seja, a unidade de combinação nesses polímeros é a D-glicose: uma linear, denominada amilose e outra ramificada, denominada amilo-pectina. A maioria dos amidos possui proporções de amilose e de amilo-pectina quase idênticas. A composição que prevalece é 22-26% amilose e 78-74% amilo-pectina [21].

A amilose é composta de cerca de 250-300 unidades de glicose em ligações  $\alpha - (1 \rightarrow 4)$ -D-glucana. Neste caso a unidade de combinação é a D-glicose, que tem configuração  $\alpha$  no átomo de carbono anomérico (C-1), que se liga a C-4 da unidade de repetição seguinte da D-glicose. A designação  $\alpha$  indica que o grupo hidroxila em C-1 está à direita na projeção de Fischer e embaixo nas representações de Haworth e conformacional [16].

A figura 3.2 mostra uma representação esquemática da amilose com apenas duas unidades de glicose.

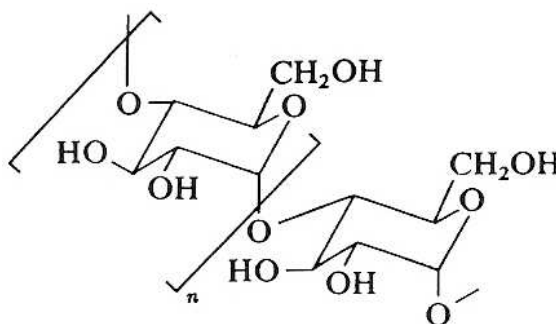


Figura 3.2: Estrutura parcial da amilose [16].

A amilo-pectina contém cerca de 1000 unidades de glicose e a cada 25 dessas unidades há uma ramificação. As ramificações estão em ligações  $\alpha - (1 \rightarrow 6) - D$ -glucana.

A figura 3.3 mostra uma estrutura parcial da amilo-pectina, onde são vistas cinco unidades de glicose repetidas, com suas ramificações.

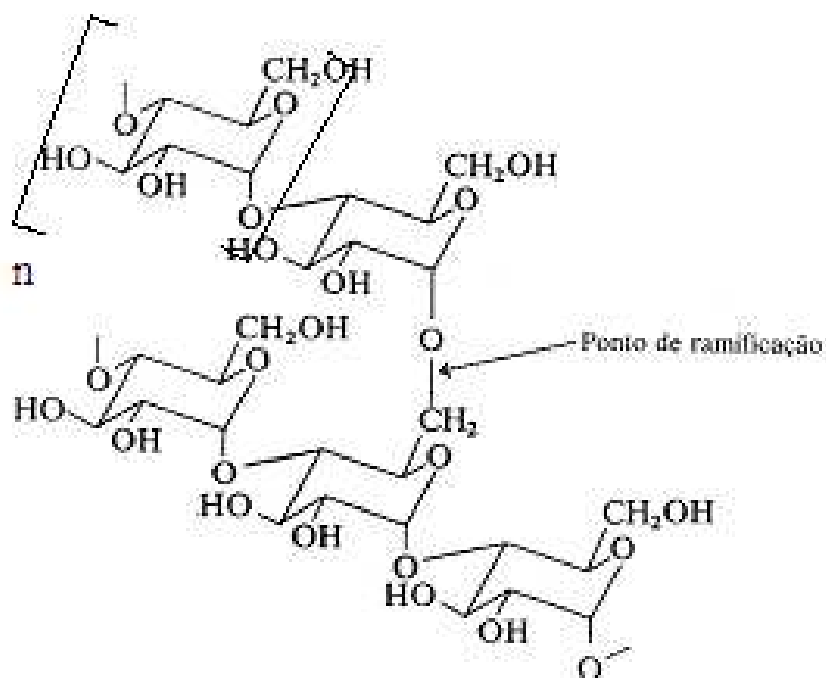


Figura 3.3: Estrutura parcial da amilo-pectina [16].

### 3.1.4 Galactomananas

Galactomananas são polissacarídeos compostos por unidades monossacarídeas de D-galactose e D-manose e são comumente encontradas em endospermas da família *Leguminosae*, onde desempenham papel de reserva, bem como em fontes microbianas, em particular leveduras e fungos. As galactomananas estão localizadas



na parede endospermica das sementes durante seu desenvolvimento, e parecem ter dupla função fisiológica: retém água por solvatação, prevenindo a desidratação, a qual causaria desnaturação protéica e servem como reserva alimentar. Estruturalmente a maioria dessas moléculas é constituída por uma cadeia principal formada por unidades  $\beta - (1 \rightarrow 6)$ -D-manose, às quais estão ligados grupos laterais de D-galactose. A proporção de manose:galactose varia entre 1:1 à 4:1 nas diferentes espécies vegetais.

Na figura 3.4 é apresentada a estrutura parcial da galactomanana, onde podem ser vistas algumas unidades da cadeia principal constituída por  $\beta - (1 \rightarrow 6)$ -D-manose, assim como alguns grupos laterais de D-galactose, ligados à cadeia principal.

Duas galactomananas, a goma guar, extraída a partir de sementes de *Cyamoposis tetragonolobus* e a goma alfarroba a partir de sementes de *Ceratonina siliqua* são produzidas comercialmente em grandes quantidades. Outras gomas como a tara e a fenugreek obtidas de sementes de *Caesalpineia spinosa* e *Trigorella Foenum-graecum*, respectivamente, também são comercializadas, porém em menor quantidade.

Galactomananas são utilizadas em indústrias alimentícias, cosméticas, farmacêuticas e têxteis, como agentes espessantes, estabilizantes, emulsificantes e flocculantes [21].

### 3.1.5 Xiloglucanas

Xiloglucanas são polissacarídeos hemicelulósicos encontrados principalmente na parede celular primária de dicotiledôneas, plantas floridas e gimnospermas. As hemiceluloses, literalmente "meia celulose", juntamente com a celulose, a pectina e as glicoproteínas, formam a parede celular das células vegetais. Podem atuar também como polissacarídeos de reserva, sendo encontradas em algumas

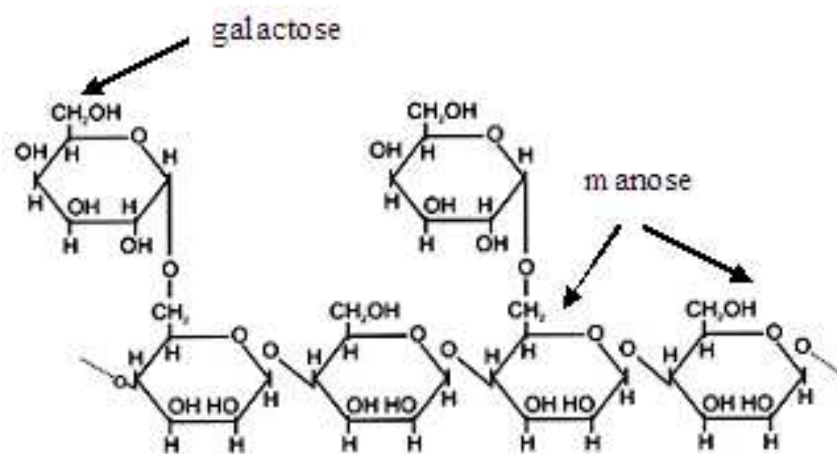


Figura 3.4: Estrutura parcial da galactomanana [22].

sementes. As xiloglucanas são associadas com as microfibrilas de celulose, desempenhando papel importante na expansão celular.

Esses polímeros são formados por uma cadeia principal de unidades  $\beta$ -(1  $\rightarrow$  4)-D-glucana com cadeias laterais completas de  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  6)-D-xilose. Em alguns casos as unidades das cadeias laterais são substituídas por  $\beta$ -(1  $\rightarrow$  2)-D-galactose ou por  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  2)-L-fucose. A cadeia principal é idêntica à cadeia da celulose, no entanto, as xiloglucanas são solúveis em água, o que não ocorre com a celulose. Xiloglucanas em soluções aquosas podem formar gel sob certas condições, tais como a adição de álcool [23].

A figura 3.5 mostra a estrutura parcial da xiloglucana com os constituintes da cadeia principal ( $\beta$ -(1  $\rightarrow$  4)-D-Glu) e das cadeias laterais ( $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  6)-Xil e  $\beta$ -(1  $\rightarrow$  2)-D-Gal).

Xiloglucana de semente de tamarindo (*Tamarindus indica*) é a única xiloglucana disponível comercialmente no momento. Pode ser utilizada, principalmente, nas indústrias têxteis e alimentícias e ainda como adesivos e agente emulsificante. Em cosméticos, para preparar emulsões de óleos essenciais, cremes de barbear e dentifrícios. Em produtos farmacêuticos, como ligante em comprimidos e drágeas. Em inseticidas, para emulsificar princípios ativos e óleos minerais [19].

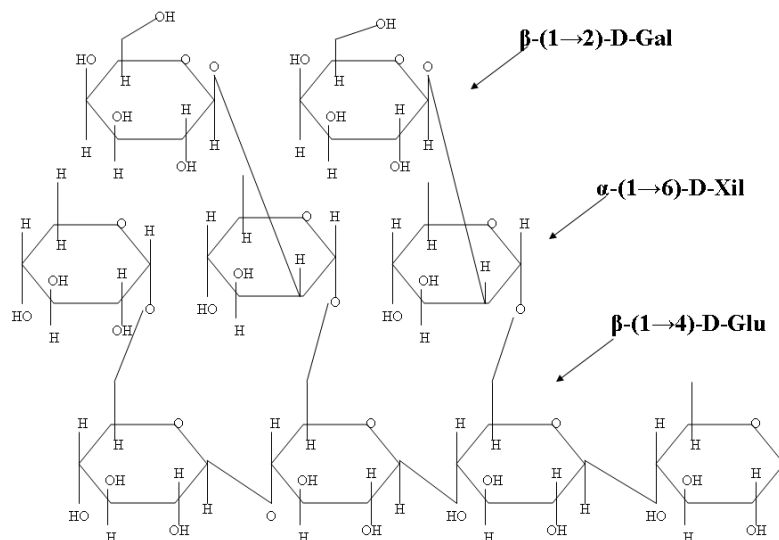


Figura 3.5: Estrutura parcial da xiloglucana [24].

## 3.2 Métodos de caracterização óptica

### 3.2.1 Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é uma técnica de análise rápida e não destrutiva e seu estudo, estando situado principalmente na faixa do visível, faz com que não seja necessária nenhuma preparação especial das amostras.

É uma forma de espectroscopia vibracional, a qual fornece informações sobre os modos de vibração e estruturas moleculares por meio do espalhamento inelástico da luz. Esses movimentos vibracionais são funções da conformação molecular, da distribuição dos elétrons em ligações químicas e do ambiente molecular. Deste modo, a interpretação do espectro Raman fornece informações sobre todos

esses fatores [8].

Os espectros Raman deste trabalho foram registrados com um espectrômetro triplo Jobin-Yvon T64000, do grupo de Propriedades Ópticas do Departamento de Física da Matéria Condensada da UNICAMP. Um laser contínuo de  $\text{Ar}^+$  (Coherent) de comprimento de onda 514,5 nm, com potência máxima de 5W, foi focalizado na amostra com uma potência de 5mW, através de uma objetiva de microscópio de 50x. Como o tamanho do ponto de focalização do laser na amostra é 3  $\mu\text{m}$ , nesta condição a densidade de potência na amostra foi de 71  $\text{kW}/\text{cm}^2$  e para esta densidade de potência não foram observadas modificações nas amostras. A fenda de entrada do espectrômetro utilizada foi de 300  $\mu\text{m}$ , resultando numa resolução espectral de 4  $\text{cm}^{-1}$ . O detector utilizado foi um CCD de 1024 x 512 pixels, refrigerado com  $\text{N}_2$  líquido a  $-135^\circ\text{C}$ .

Os sinais Raman foram coletados dentro de um intervalo espectral de 100  $\text{cm}^{-1}$  até 2000  $\text{cm}^{-1}$ , o qual se mostrou mais interessante, visto que a maioria das bandas foram nele observadas. Foram obtidos dois espectros de cada amostra e o tempo de aquisição para os mesmos da maior parte das amostras foi de 300 s, salvo aquelas com forte fluorescência, em que o tempo foi de 60 s, devido à saturação do detector.

A figura 3.6 mostra a montagem experimental utilizada para a obtenção dos espectros Rama.

Na figura 3.7 tem-se o esquema óptico utilizado na montagem experimental.

### 3.2.2 Espectroscopia de Fluorescência

A espectroscopia de fluorescência é a técnica que detecta o espectro da radiação emitida por um átomo ou molécula, quando esta relaxa do estado excitado para um estado de menor energia.

É uma das técnicas espectroscópicas mais amplamente utilizadas nas



Figura 3.6: Montagem experimental utilizada para obtenção dos espectros Raman [25].

áreas da Bioquímica e da Biofísica molecular, atualmente. Apesar das medidas de fluorescência não fornecerem informações estruturais detalhadas, a técnica tem se tornado popular por causa da sensibilidade às mudanças nas propriedades e estruturas de um material [26].

A figura 3.8 mostra a montagem experimental utilizada para a obtenção dos espectros de fluorescência.

Os espectros de fluorescência foram registrados com um espectrômetro Andor -Idus Shamrock sr-303i, do grupo de Propriedades Ópticas, Eletrônica e Fotônica da UFPR. Um laser contínuo de Nd-YAG de 532 nm com potência de 100 mW foi utilizado como fonte de excitação. Também foi utilizado filtro de linha para 532 nm para filtrar eventuais linhas espúrias da cavidade do laser. A lente de focalização (Melles Griot) do laser na amostra tem distância focal de 120 mm e a lente de coleta (Nikon) da luz vinda da amostra tem distância focal de 50 mm. A lente de focalização (Melles Griot) da luz gerada pela amostra no espectrômetro tem

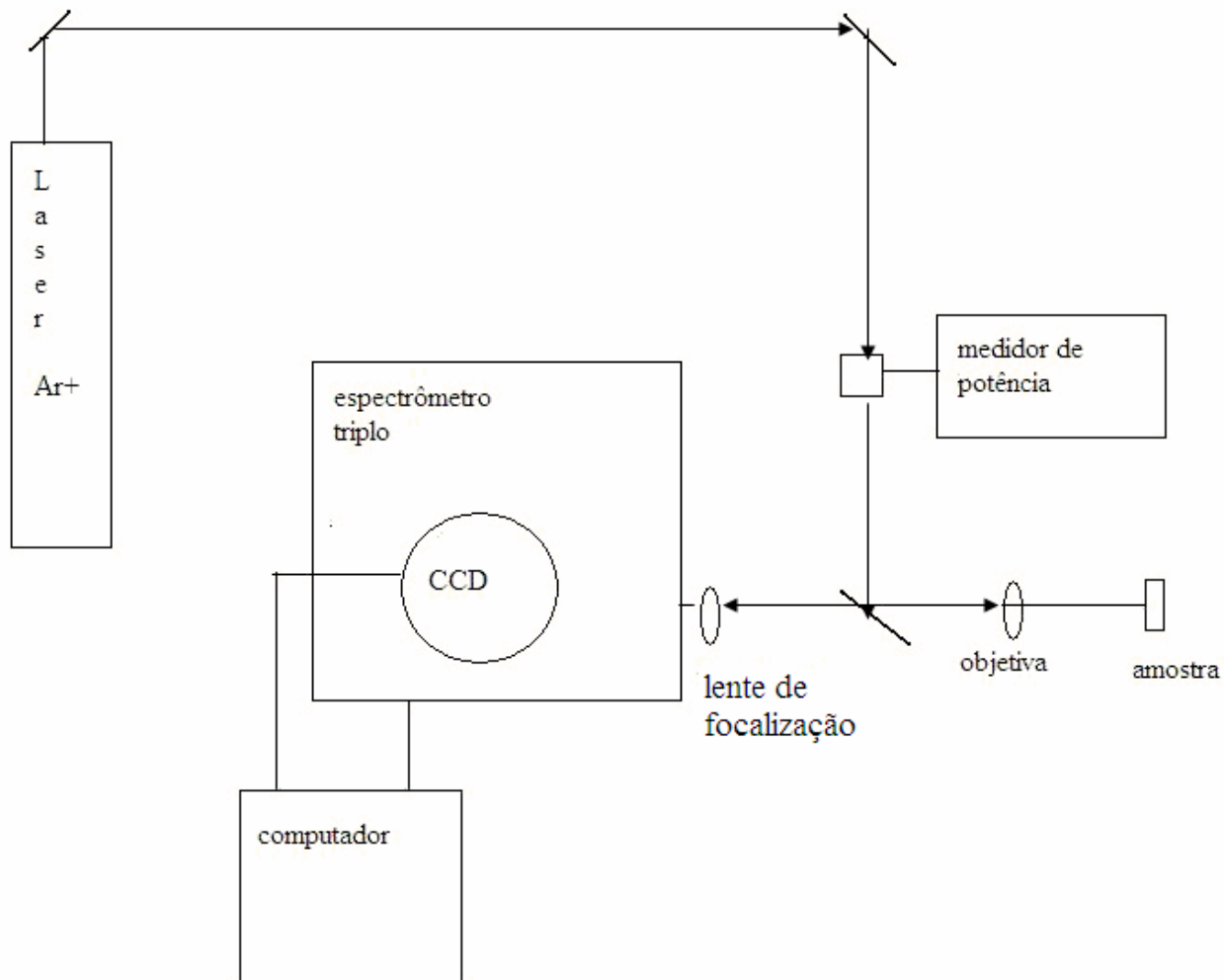


Figura 3.7: Esquema óptico do espectrômetro triplo.

distância focal de 65 mm. As fendas de entrada utilizadas para a luz espalhada, foram de  $400\ \mu\text{m}$  e  $600\ \mu\text{m}$ . O detector utilizado foi um CCD de Si de  $1024 \times 128$  pixels, resfriado a  $-50^\circ\text{C}$  num sistema Peltier de duplo estágio.

Os sinais de fluorescência foram coletados dentro do intervalo espectral de 550 nm até 900 nm. Este intervalo foi escolhido em função do comprimento de onda do laser utilizado e também porque não foram obtidos sinais além de 900 nm. Foram obtidos dois espectros de cada amostra, com cada fenda, e o tempo de aquisição para os mesmos foi de 60 s.

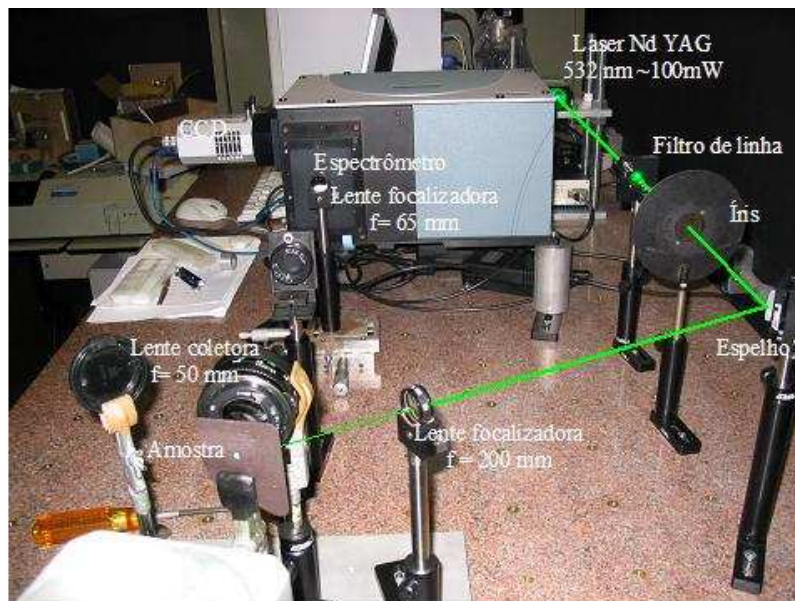


Figura 3.8: Montagem experimental utilizada para obtenção dos espectros de fluorescência.

### 3.2.3 Espectroscopia de Infravermelho

A espectroscopia de infravermelho é um tipo de espectroscopia de absorção a qual usa a região do infravermelho do espectro eletromagnético. Como as demais técnicas espectroscópicas, ela pode ser usada para identificar um composto ou para investigar a composição de uma amostra, visto que diferentes grupos funcionais absorvem diferentes frequências características da radiação infravermelho. É

um tipo de espectroscopia vibracional que mede os diferentes tipos de vibração entre átomos de acordo com suas ligações interatômicas.

A espectroscopia de infravermelho pode ser usada para estudar diferentes tipos de amostras tais como gases, líquidos e sólidos, o que a torna uma ferramenta importante para a elucidação da estrutura, sendo uma técnica complementar a espectroscopia Raman.

As aplicações gerais desta técnica consistem na determinação de grupos funcionais em materiais orgânicos, determinação da composição molecular de superfícies, determinação quantitativa de compostos em misturas, determinação da conformação molecular e estereoquímica, bem como a determinação da orientação molecular [27].

Os espectros de infravermelho obtidos neste estudo foram registrados com um espectrômetro Bomem MB Série 100, equipado com um laser de He-Ne com comprimento de onda de 632,8 nm e potência máxima de 25  $\mu\text{W}$ . O detector utilizado foi um detector de alta velocidade de sulfato de triglicina deuterada (DTGS). A figura 3.9 mostra o equipamento utilizado do Laboratório de Infravermelho da UFPR.

Os espectros de infravermelho foram coletados dentro de um intervalo de 500  $\text{cm}^{-1}$  até 4000  $\text{cm}^{-1}$ , com uma resolução espectral fixa de 4  $\text{cm}^{-1}$  e a uma velocidade de varredura do espelho fixa de 0,2 cm/s. Foram feitas 16 varreduras para cada amostra, com a finalidade de diminuir o ruído, ou aumentar a relação sinal/ruído [28].

Para a realização das medidas as amostras em pó foram dispersas em um meio transparente ao infravermelho, na faixa de medida. O meio ideal para o infravermelho médio (400-5000  $\text{cm}^{-1}$ ) é o brometo de potássio (KBr), que não absorve radiação infravermelha. Então as únicas linhas espectrais a aparecer seriam da amostra.

Em nosso caso a mistura da amostra com o KBr foi triturada e prensada a fim de formar uma pastilha pela qual a radiação infravermelho pudesse ser





Figura 3.9: Espectrômetro Bomem MB Série 100, utilizado para obtenção dos espectros de infravermelho.

transmitida. Essa pastilha precisa ser prensada a altas pressões, no caso 8 ton de carga, a fim de garantir sua estabilidade mecânica e para esse fim foi utilizada uma prensa hidráulica.

As figuras 3.10 e 3.11 mostram o equipamento utilizado para obter as pastilhas para os espectros de infravermelho [28].



Figura 3.10: Prensa hidráulica utilizada para preparação das pastilhas.



Figura 3.11: Equipamento utilizado para preparação das pastilhas.

# Capítulo 4

## Resultados e Discussões

Os resultados obtidos com cada uma das técnicas de espectroscopia vibracional, assim como as discussões referentes a estes, são apresentados divididos de acordo com a classificação do polissacarídeo, isto é, primeiro discutiremos os resultados da amilose e amilo-pectina, para logo em seguida discutir os resultados dos amidos, das galactomananas e por fim das xiloglucanas.

Como visto na seção 3.2.1. a espectroscopia Raman fornece, entre outras, informações sobre a conformação molecular, além da funcionalidade química, a partir da identificação das regiões espectrais e frequências características em termos dos modos vibracionais.

Por causa da grande quantidade de informação presente no espectro Raman dos polissacarídeos, é difícil analisá-la devido à natureza complexa dos espectros deste tipo de material. A maioria dos modos normais de vibração das moléculas de carboidratos são fortemente acoplados e, por consequência disto, difíceis de identificar [29]. A interpretação do espectro Raman baseada em dados experimentais puros é freqüentemente problemática, visto que uma designação precisa das bandas Raman medidas, para vibrações específicas é parcialmente clara e muitas vezes ambígua. Uma designação confiável das bandas Raman observadas experimental-

mente e conseqüentemente um entendimento detalhado da estrutura geométrica e eletrônica pode ser obtido apenas através da comparação com o espectro calculado teoricamente. Cálculos quantum químicos e em particular DFT (teoria do funcional de densidade) são, nos dias de hoje, complementos quase indispensáveis para estudos experimentais em Raman [30]. Um primeiro passo para a interpretação desses espectros complexos é o conhecimento das posições das bandas no espectro Raman causadas pelos monossacarídeos individuais [31]. Artigos publicados nos últimos anos, como por exemplo, Mrozek e Weaver [29], De Gelder et al [31], Thygesen et al [32], Barron et al [33], têm mostrado resultados nesse sentido.

De acordo com a literatura os espectros vibracionais de carboidratos podem ser divididos em regiões atribuídas a modos vibracionais específicos, a saber: de 3600 a 2800  $\text{cm}^{-1}$ , estiramento de ligações tipo CH ou OH; de 1500 a 1200  $\text{cm}^{-1}$ , deformações envolvendo ligações tipo HCH e  $\text{CH}_2\text{OH}$ ; de 1200 a 950  $\text{cm}^{-1}$ , estiramento de ligações tipo C-O, com possíveis contribuições de ligações tipo C-C; de 950 a 700  $\text{cm}^{-1}$ , deformações de grupos laterais tipo COH, CCH e OCH contendo "impressão digital" e também possíveis estiramentos da ligação C-C; abaixo de 700  $\text{cm}^{-1}$  é a região do dito esqueleto da molécula, contendo deformações exocíclicas na região entre 700 e 500  $\text{cm}^{-1}$  e endocíclicas abaixo de 500  $\text{cm}^{-1}$  [29]. A tabela 4.1 apresenta um resumo das regiões espectrais em função dos modos vibracionais específicos.

Os espectros Raman da amilose e da amilo-pectina são mostrados na figura 4.1.

No espectro da amilose há a presença de duas bandas fracas em 1550  $\text{cm}^{-1}$  e 1667  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente. Para a amilose a região entre 1620-1680  $\text{cm}^{-1}$  é identificada como o alongamento da ligação C=C ou C=O [34]. Bandas na região de 1655  $\text{cm}^{-1}$  associadas com outras em 1300  $\text{cm}^{-1}$  podem também indicar a presença de proteínas [31].

Foram identificadas bandas em 1459  $\text{cm}^{-1}$ , 1400  $\text{cm}^{-1}$ , 1383  $\text{cm}^{-1}$ , 1333  $\text{cm}^{-1}$  e 1258  $\text{cm}^{-1}$ . Os modos vibracionais da região entre 1200-1500  $\text{cm}^{-1}$  são relacionados com deformações envolvendo ligações do tipo HCH e  $\text{CH}_2\text{OH}$  [29].

<b>Região espectral(<math>\text{cm}^{-1}</math>)</b>	<b>Modo vibracional</b>
3600 a 2800	Estiramento de ligações CH ou OH
1500 a 1200	Deformações de ligações HCH e $\text{CH}_2\text{OH}$
1200 a 950	Estiramento de ligações C-O, com contribuições de ligações C-C
950 a 700	Deformações de grupos laterais COH, CCH e OCH contendo "impressão digital" e estiramentos de ligações C-C
700 a 500	Região do esqueleto da molécula contendo deformações exocíclicas
abaixo de 500	Região do esqueleto da molécula contendo deformações endocíclicas

Tabela 4.1: Resumo das regiões espectrais em função dos modos vibracionais [29].

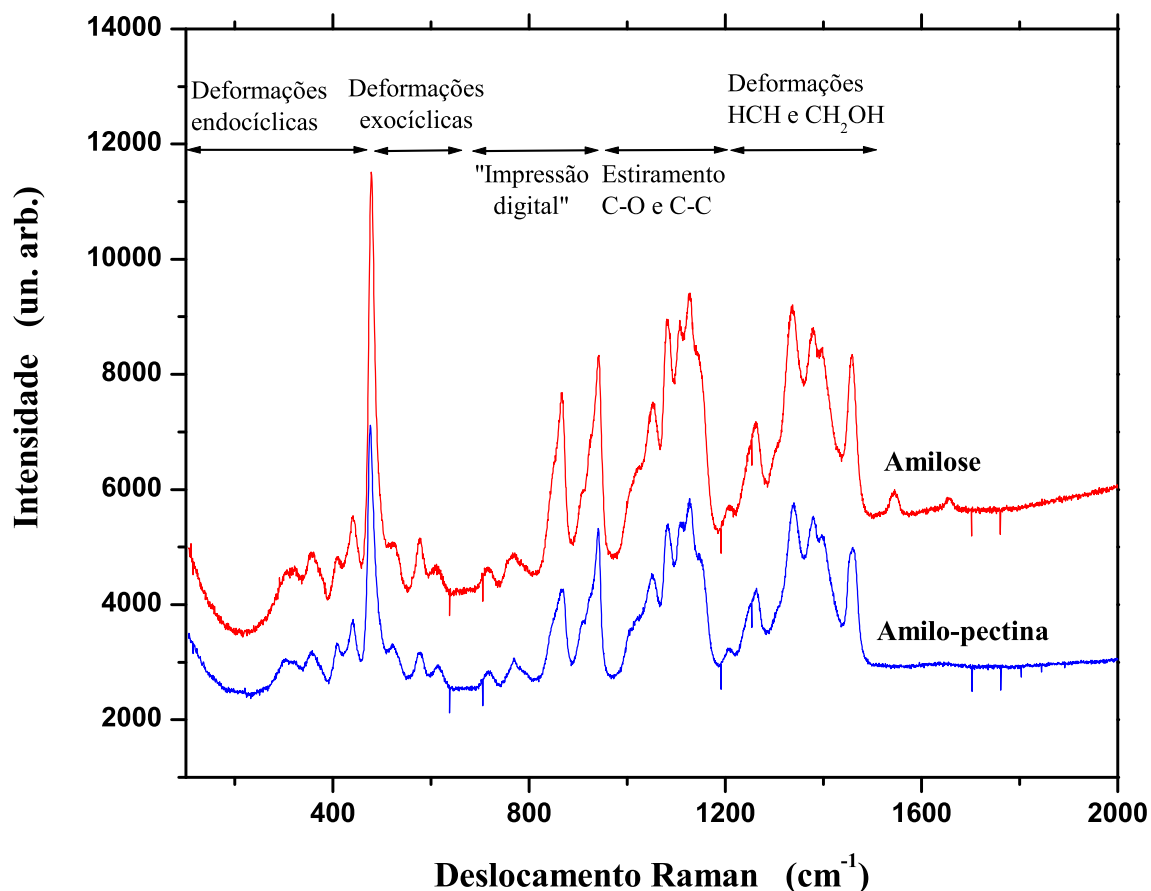


Figura 4.1: Espectro Raman da amilose e da amilo-pectina.

Identificaram-se bandas nas seguintes posições no espectro: 1200 cm<sup>-1</sup>, 1150 cm<sup>-1</sup>, 1117 cm<sup>-1</sup>, 1083 cm<sup>-1</sup> e 1050 cm<sup>-1</sup>. A região entre 950-1200 cm<sup>-1</sup> é associada com estiramento da ligação do tipo C-O, com possíveis contribuições de ligações tipo C-C [29].

As bandas em 933 cm<sup>-1</sup>, 867 cm<sup>-1</sup>, 767cm<sup>-1</sup> e 717 cm<sup>-1</sup> são relacionadas à deformações de grupos laterais tipo COH, CCH e OCH, contendo "impressão digital" e também possíveis estiramentos da ligação C-C [29].

A região entre 890-930 cm<sup>-1</sup> é associada à "impressões digitais" do es-

queleto e relacionada à ligações do tipo  $\alpha-(1 \rightarrow 4)$  [32]. A região de impressão digital do esqueleto de uma molécula, é a região do espectro associada às vibrações que tendem ser específicas para uma molécula em particular. Tais vibrações envolvem fortes acoplamentos entre modos de estiramento ou flexão em cadeias lineares ou anéis. Uma ligação do tipo  $\alpha-(1 \rightarrow 4)$  envolve as hidroxilas que estão situadas à direita na projeção de Fischer e embaixo nas representações de Haworth e conformacional, nos carbonos C-1 e C-4, como mostrado na figura 4.2 [35].

Notam-se também bandas em  $617\text{ cm}^{-1}$ ,  $583\text{ cm}^{-1}$  e  $533\text{ cm}^{-1}$ . As

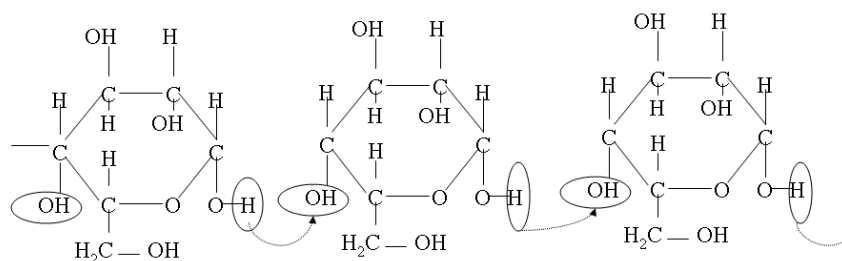


Figura 4.2: Ligação do tipo  $\alpha-(1 \rightarrow 4)$  presente na cadeia principal da amilose e da amilo-pectina [35].

bandas abaixo de  $700\text{ cm}^{-1}$ , na região entre  $500\text{-}700\text{ cm}^{-1}$  são relacionadas com o esqueleto da molécula contendo deformações exocíclicas [29].

Notou-se uma banda muito forte em  $483\text{ cm}^{-1}$  e também bandas em  $450\text{ cm}^{-1}$ ,  $400\text{ cm}^{-1}$ ,  $367\text{ cm}^{-1}$  e  $317\text{ cm}^{-1}$ . A região abaixo de  $500\text{ cm}^{-1}$  é associada com o esqueleto contendo deformações endocíclicas [29].

Fazendo a comparação dos resultados desse trabalho com os obtidos por De Gelder [31], verificou-se em nossos espectros a existência das bandas abaixo de  $400\text{ cm}^{-1}$ , não observadas anteriormente. Pela região espectral, estas vibrações devem fazer parte do conjunto de vibrações endocíclicas.

Comparando os modos vibracionais das bandas observadas no espectro da amilose com os das vibrações moleculares normais da  $\alpha\text{-D-glucana}$  publicada na literatura [31], nota-se que estas são muito próximas ou há coincidência dos mo-

dos vibracionais. Este fato era esperado, já que a amilose é um polímero com cadeia linear formada pela repetição de unidades da  $\alpha$ -D-glucana.

Como pode ser visto na figura 4.1, há grande concordância entre as bandas da amilose e da amilo-pectina, salvo a presença de duas bandas fracas em  $1550\text{ cm}^{-1}$  e  $1667\text{ cm}^{-1}$ , somente no espectro da amilose.

Dessa maneira pode-se concluir que a ramificação na estrutura da amilo-pectina não induz muitas mudanças no seu espectro Raman comparado com o da amilose, com base nos resultados obtidos.

Os modos vibracionais característicos encontrados na amilose e na amilo-pectina são condensados na tabela 4.2.

Os espectros de infravermelho da amilose e da amilo-pectina são mostrados na figura 4.3.

Foram identificadas bandas em  $533\text{ cm}^{-1}$ ,  $583\text{ cm}^{-1}$ ,  $717\text{ cm}^{-1}$ ,  $767\text{ cm}^{-1}$ ,  $867\text{ cm}^{-1}$  e  $946\text{ cm}^{-1}$ . As bandas nessa região abaixo de  $1000\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas a "impressões digitais" do esqueleto da molécula e no caso à ligação C-O-C [32] no esqueleto. A banda em  $867\text{ cm}^{-1}$  é característica da região anomérica [36]. A região anomérica é a região do espectro na qual os anômeros são detectados, ou seja, ocorre a distinção entre as configurações  $\alpha$  ou  $\beta$  da molécula. No caso da amilose e da amilo-pectina tem-se a configuração  $\alpha$ , visto que estes materiais são polímeros da  $\alpha$ -D-glucana.

Na região entre  $1000$ - $1200\text{ cm}^{-1}$  foram observadas bandas em  $1036\text{ cm}^{-1}$ ,  $1089\text{ cm}^{-1}$  e  $1161\text{ cm}^{-1}$ . Esta região é dominada por vibrações do anel justapostas com vibrações de estiramento de grupos laterais (C-OH) e por vibrações de ligações glicosídicas C-O-C [36].

Na região entre  $1250$ - $1400\text{ cm}^{-1}$  obtiveram-se bandas em  $1250\text{ cm}^{-1}$  e  $1375\text{ cm}^{-1}$ . As bandas nesta região são atribuídas ao estiramento da ligação C-O [36].

Identificaram-se bandas em  $1429\text{ cm}^{-1}$ ,  $1667\text{ cm}^{-1}$ , em  $2111\text{ cm}^{-1}$  e em  $2956\text{ cm}^{-1}$ , sendo a banda em  $2111\text{ cm}^{-1}$  alargada. As bandas na região entre



Amostra	Modo vibracional (em $\text{cm}^{-1}$ )	Tipo de ligação
Amilose	1550, 1667	alongamento da ligação C=C
	1258, 1383, 1400, 1459	deformações envolvendo ligações HCH e $\text{CH}_2\text{OH}$
	1050, 1083, 1117, 1150, 1200	estiramento de ligações C-O com contribuições C-C
	717, 767, 867, 933	deformações de grupos laterais COH, CCH e OCH e estiramentos da ligação C-C
	533, 583	vibrações do esqueleto contendo deformações exocíclicas
	317, 367, 400, 450, 483	vibrações do esqueleto contendo deformações endocíclicas
Amilo-pectina	1258, 1383, 1400, 1459	flexão da ligação C-H
	1050, 1083, 1117, 1150, 1200	estiramento de ligações C-O com contribuições C-C
	717, 767, 867, 933	flexão da ligação C-C
	533, 583	vibrações do esqueleto contendo deformações exocíclicas
	317, 367, 400, 450, 483	vibrações do esqueleto contendo deformações endocíclicas

Tabela 4.2: Bandas observadas nos espectros Raman da amilose e da amilo-pectina [29], [31], [32].

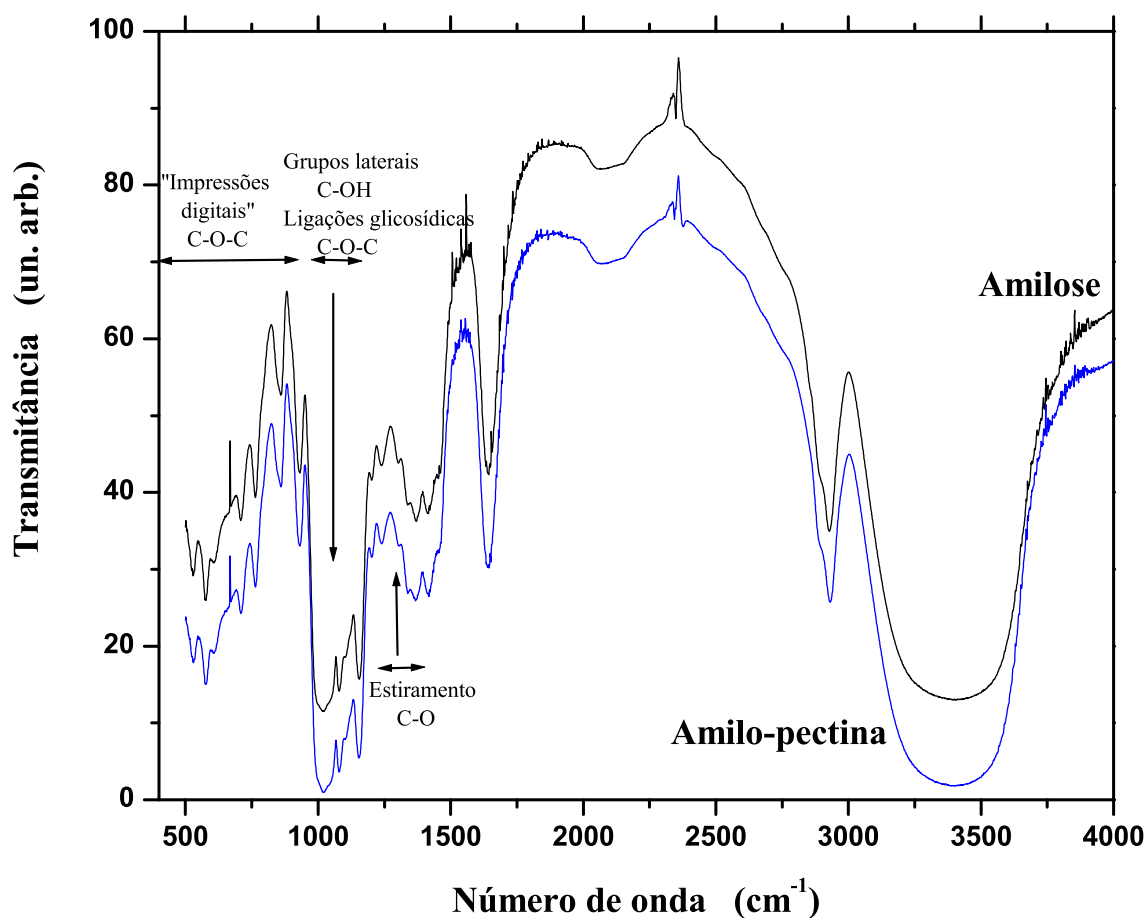


Figura 4.3: Espectro de infravermelho por transformada de Fourier da amilose e da amilo-pectina.

2100-2250  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas ao estiramento da ligação  $\text{C}\equiv\text{C}$ , o que neste caso não faz sentido, uma vez que as moléculas de amilose e amilo-pectina não apresentam este tipo de ligação. Mais experimentos são necessários para a elucidação da origem destas bandas. As bandas na região entre 2700-3300  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas ao estiramento da ligação C-H [37].

Em 3400  $\text{cm}^{-1}$  foi observada uma banda alargada e esta pode ser atribuída ao estiramento da ligação O-H [38].

Não observou-se nenhuma diferença significativa entre os espectros da amilose e da amilo-pectina, a ponto do gráfico da amilo-pectina ter sido transladado na vertical na figura 4.3 para melhor visualização. Há grande concordância entre as bandas da amilose e da amilo-pectina. Dessa maneira pode-se concluir que a ramificação na estrutura da amilo-pectina não induz mudanças no seu espectro de infravermelho comparado com o da amilose, assim como foi observado nos espectros Raman das mesmas amostras.

Para facilitar a comparação entre os dados obtidos com os dois métodos espectroscópicos, a partir deste ponto todas as figuras apresentarão dois gráficos. Em função disso o espectro de infravermelho por transformada de Fourier será apresentado em uma escala horizontal até  $2000\text{ cm}^{-1}$ . Além disso como todas as regiões espectrais já foram identificadas com o tipo de vibração que as produziu, daqui em diante só serão citadas as bandas observadas.

A figura 4.4 mostra os espectros da amilose.

A partir da figura 4.4 observa-se a coincidência, nos dois espectros, das bandas presentes em  $533\text{ cm}^{-1}$ ,  $583\text{ cm}^{-1}$ ,  $717\text{ cm}^{-1}$ ,  $767\text{ cm}^{-1}$  e  $867\text{ cm}^{-1}$ . A coincidência dos modos ativos Raman e infravermelho é devida ao acoplamento existente em moléculas complexas, como é o caso dos polissacarídeos. Tanto na espectroscopia Raman, como na espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier, as bandas na região abaixo de  $1000\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas a "impressões digitais" do esqueleto da molécula.

Para a amilo-pectina a figura 4.5 mostra os espectros Raman e FT-IR desse polissacarídeo.

A partir da figura 4.5 observa-se a coincidência, nos dois espectros, das bandas presentes em  $533\text{ cm}^{-1}$ ,  $583\text{ cm}^{-1}$ ,  $717\text{ cm}^{-1}$ ,  $767\text{ cm}^{-1}$ ,  $867\text{ cm}^{-1}$ ,  $933\text{ cm}^{-1}$ ,  $1083\text{ cm}^{-1}$ ,  $1200\text{ cm}^{-1}$  e  $1667\text{ cm}^{-1}$ .

No caso do outro grupo de polissacarídeos, os amidos, estes têm sido estudados na literatura, como nos artigos publicados por Dupuy e Laureyns [39] e Santha et al [40].

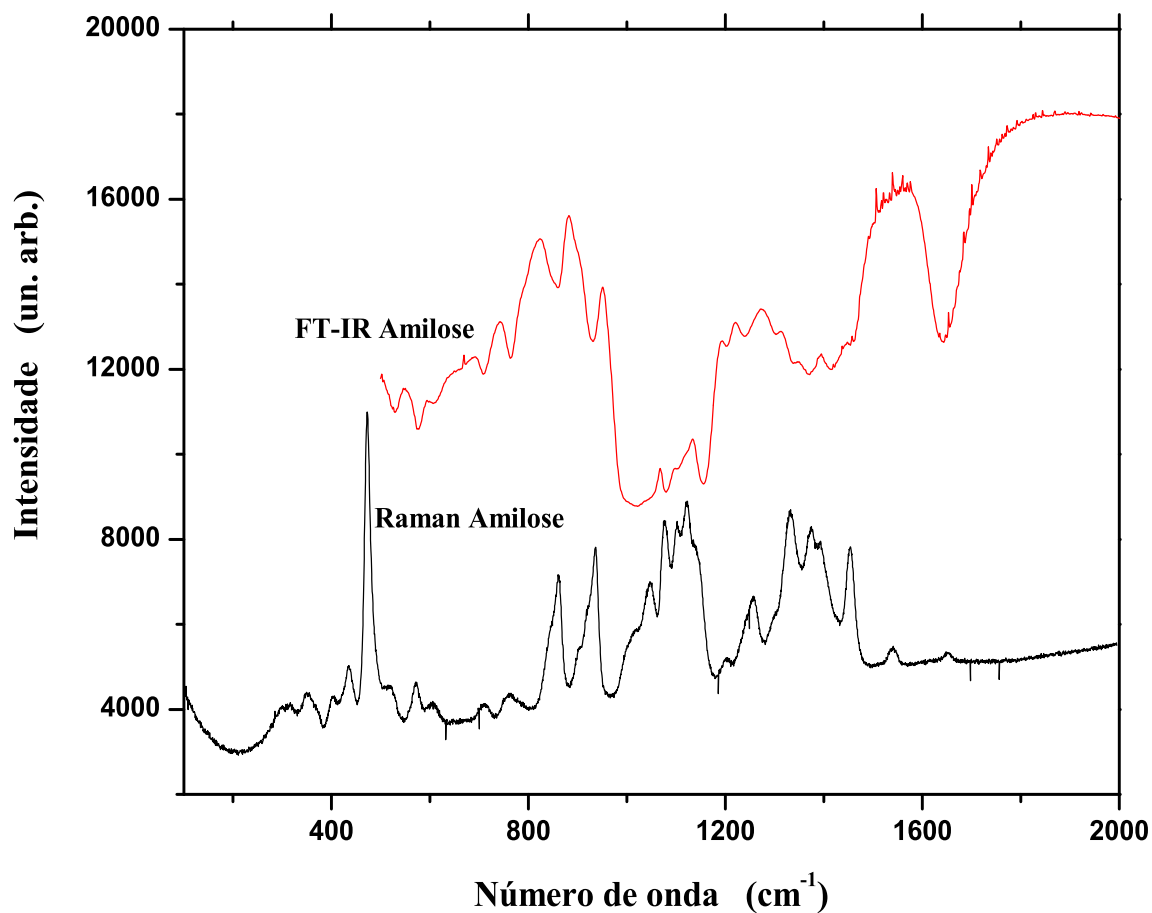


Figura 4.4: Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier da amilose.

Para o amido de milho (A08), os espectros são mostrados na figura 4.6.

No espectro Raman da amostra A08 há a presença de duas bandas fracas na região entre 1550-1650  $\text{cm}^{-1}$ . Constataram-se também banda em 1450  $\text{cm}^{-1}$ , duas bandas muito próximas em 1400  $\text{cm}^{-1}$ , banda em 1388  $\text{cm}^{-1}$ , banda em 1341  $\text{cm}^{-1}$ , duas bandas muito próximas em 1259  $\text{cm}^{-1}$ , banda em 1212  $\text{cm}^{-1}$ , 1129  $\text{cm}^{-1}$ , 1082  $\text{cm}^{-1}$ , 1059  $\text{cm}^{-1}$ , 953  $\text{cm}^{-1}$ , 871  $\text{cm}^{-1}$ , 776  $\text{cm}^{-1}$ , 718  $\text{cm}^{-1}$ , 624  $\text{cm}^{-1}$ ,

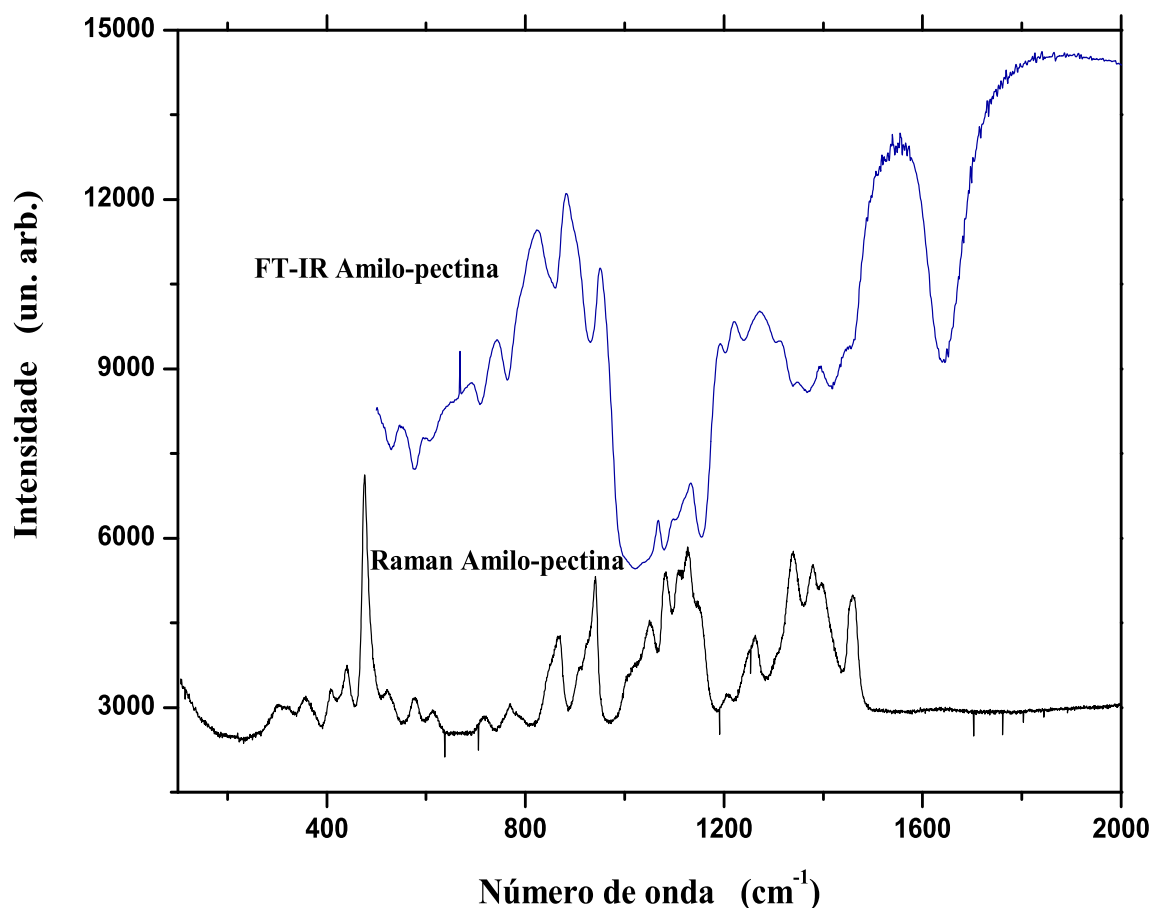


Figura 4.5: Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier da amilo-pectina.

576  $\text{cm}^{-1}$ , 529  $\text{cm}^{-1}$ , uma banda muito forte em 494  $\text{cm}^{-1}$ , em 441  $\text{cm}^{-1}$ , 412  $\text{cm}^{-1}$ , 365  $\text{cm}^{-1}$  e 306  $\text{cm}^{-1}$ . A identificação dos modos vibracionais que deram origem às bandas nas regiões observadas, foi feita anteriormente neste capítulo.

No espectro de infravermelho dessa mesma amostra identificaram-se bandas em 529  $\text{cm}^{-1}$ , 576  $\text{cm}^{-1}$ , 706  $\text{cm}^{-1}$ , 718  $\text{cm}^{-1}$ , 776  $\text{cm}^{-1}$ , 859  $\text{cm}^{-1}$ , 929  $\text{cm}^{-1}$ , 1024  $\text{cm}^{-1}$ , 1082  $\text{cm}^{-1}$ , 1165  $\text{cm}^{-1}$ , 1200  $\text{cm}^{-1}$ , 1235  $\text{cm}^{-1}$ , 1306  $\text{cm}^{-1}$ , 1365  $\text{cm}^{-1}$ , 1424  $\text{cm}^{-1}$ , 1635  $\text{cm}^{-1}$ .

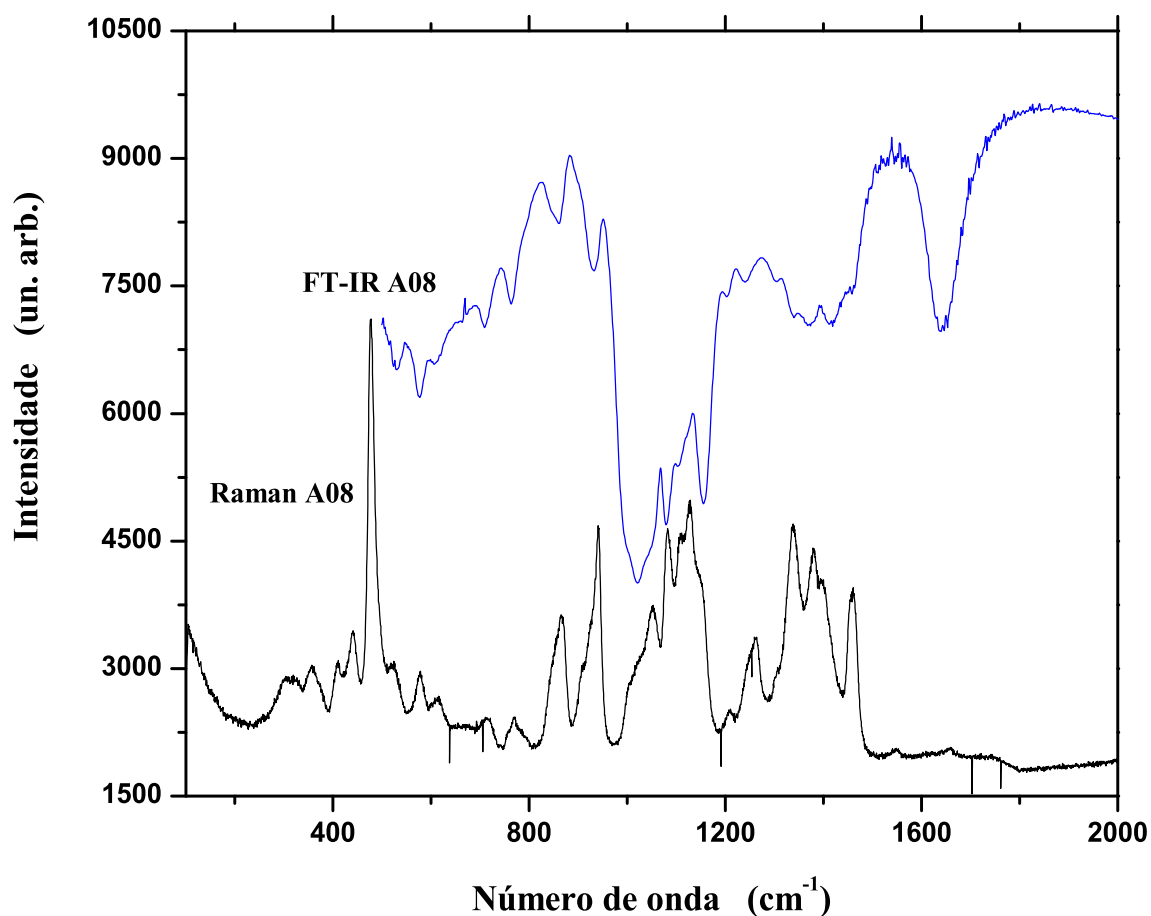


Figura 4.6: Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier do amido de milho, amostra A08.

A partir da figura 4.6 observa-se a coincidência, nos dois espectros, das bandas presentes em  $529\text{ cm}^{-1}$ ,  $576\text{ cm}^{-1}$ ,  $718\text{ cm}^{-1}$ ,  $776$  e  $1082\text{ cm}^{-1}$ .

Para o amido de mandioca (A32), os espectros são mostrados na figura 4.7.

De acordo com as figuras 4.6 e 4.7 as bandas presentes no espectro Raman do amido de mandioca são as mesmas do amido de milho, com exceção das bandas em  $1659\text{ cm}^{-1}$ ,  $1553\text{ cm}^{-1}$ ,  $624\text{ cm}^{-1}$  e  $529\text{ cm}^{-1}$ , presentes no espectro do

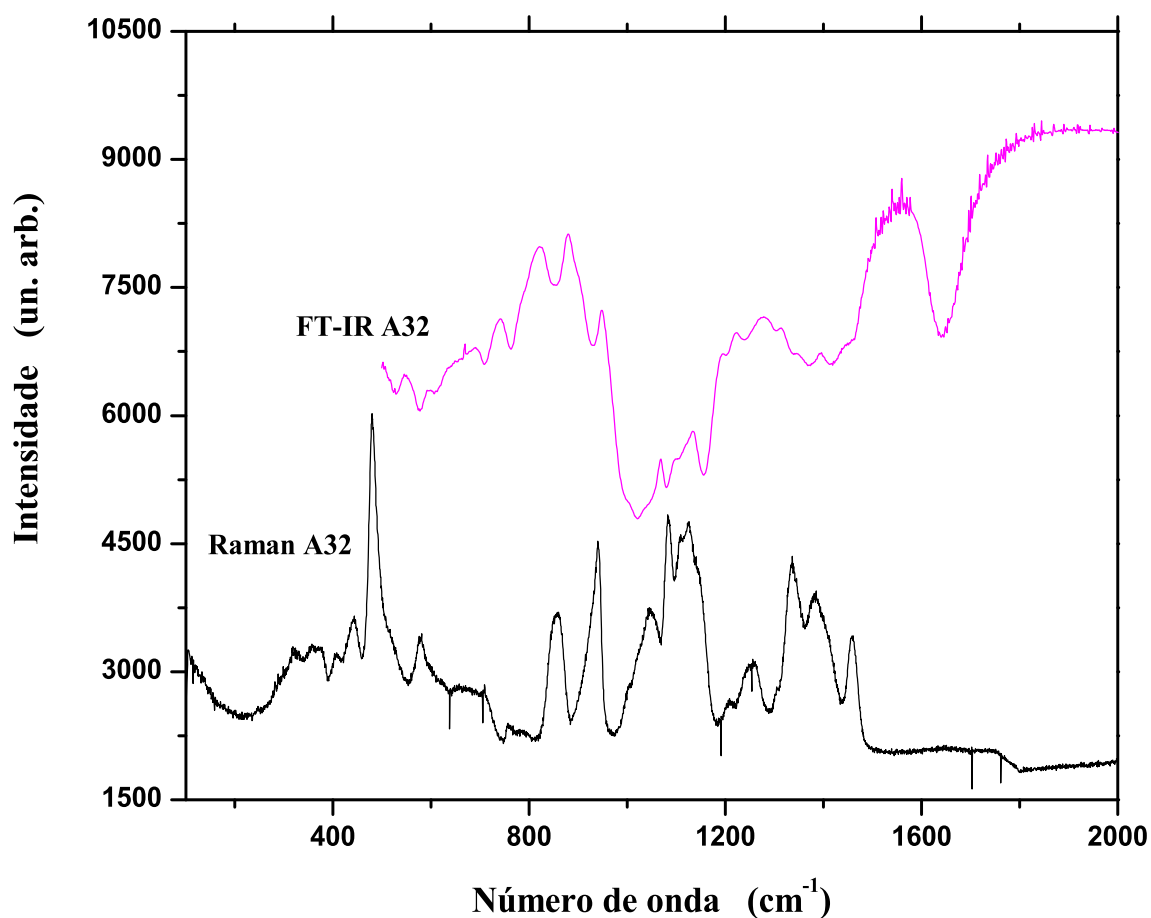


Figura 4.7: Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier do amido de mandioca, amostra A32.

amido de milho. Com base nas mesmas figuras constata-se que todas as bandas de infravermelho são coincidentes para os dois amidos.

Os amidos estudados, além da diferença da fonte, diferem também nos seus processos de preparação. Enquanto o amido de milho é nativo, o amido de mandioca sofreu pré-gelatinização. O processo de pré-gelatinização ocorre por aquecimento com agitação contínua em um mínimo de água, suficiente para garantir a gelificação do amido e visa melhorar a solubilidade deste [41]. No entanto, de

acordo com os espectros das figuras 4.6 e 4.7 não há diferenças marcantes entre os dois amidos.

Comparando as regiões espectrais observadas nos amidos A08 e A32 com as observadas na amilose e na amilo-pectina, nota-se que estas são muito próximas ou há coincidência, como poderia se esperar visto que os amidos de fontes diferentes possuem proporções de amilose e de amilo-pectina quase idênticas. E por conseguinte os modos de vibração observados nos amidos também são muito próximos ou há coincidência com os das vibrações normais da  $\alpha$ -D-glucana, já que a amilose e a amilo-pectina são seus polímeros.

Assim como ocorreu para a amilose e a amilo-pectina, verificou-se a existência das bandas abaixo de  $400\text{ cm}^{-1}$ , as quais coincidem também com o formato e posição das observadas nas amostras de amilose e amilo-pectina.

Comparando as regiões espectrais observadas nos amidos A08 e A32 com as observadas na amilose e na amilo-pectina, nota-se que há coincidência na maioria delas, exceção são as bandas em  $792\text{cm}^{-1}$ ,  $1000\text{ cm}^{-1}$ ,  $1083\text{ cm}^{-1}$ ,  $1146\text{ cm}^{-1}$ ,  $1667\text{ cm}^{-1}$  e  $2938\text{ cm}^{-1}$ , presentes somente nos amidos e as bandas em  $771\text{cm}^{-1}$ ,  $1042\text{cm}^{-1}$ ,  $1167\text{cm}^{-1}$ ,  $1625\text{cm}^{-1}$  e  $2958\text{ cm}^{-1}$ , presentes somente na amilose e na amilo-pectina. Este fato era esperado visto que os amidos possuem proporções de amilose e de amilo-pectina quase idênticas. As bandas extras apresentadas pelos amidos podem ser resultado de modos acoplados, devido a estas misturas e pesos moleculares diferentes.

Os modos vibracionais característicos encontrados nos amidos de milho (A08) e de mandioca (A32) são condensados na tabela 4.3.

Os espectros da galactomanana de pau-ferro (*PF*) são apresentados na figura 4.8.

Neste caso nenhuma banda foi identificada no espectro Raman. Este fato é atribuído à forte fluorescência, que por sua vez é relacionada à presença de outros materiais além da própria galactomanana, muito provavelmente, proteínas na



Amostra	Modo vibracional (em $\text{cm}^{-1}$ )	Tipo de ligação
A08	1553, 1659	alongamento da ligação C=C
	1212, 1259, 1341, 1388, 1400, 1450	deformações envolvendo ligações HCH e $\text{CH}_2\text{OH}$
	953, 1059, 1082, 1129	estiramento de ligações C-O com contribuições C-C
	718, 776, 871,	deformações de grupos laterais COH, CCH e OCH e estiramentos da ligação C-C
	529, 576, 624	vibrações do esqueleto contendo deformações exocíclicas
	306, 365, 412, 441, 494	vibrações do esqueleto contendo deformações endocíclicas
A32	1212, 1259, 1341, 1400, 1450	deformações envolvendo ligações HCH e $\text{CH}_2\text{OH}$
	718, 776, 871, 953, 1059, 1082, 1129, 1165	deformações de grupos laterais COH, CCH e OCH e estiramentos da ligação C-C
	576	vibrações do esqueleto contendo deformações exocíclicas
	306, 329, 365, 412, 441, 494	vibrações do esqueleto contendo deformações endocíclicas

Tabela 4.3: Bandas observadas nos espectros Raman do amido de milho (*amostra.A08*) e do amido de mandioca (*amostra.A32*) [29], [31], [32].

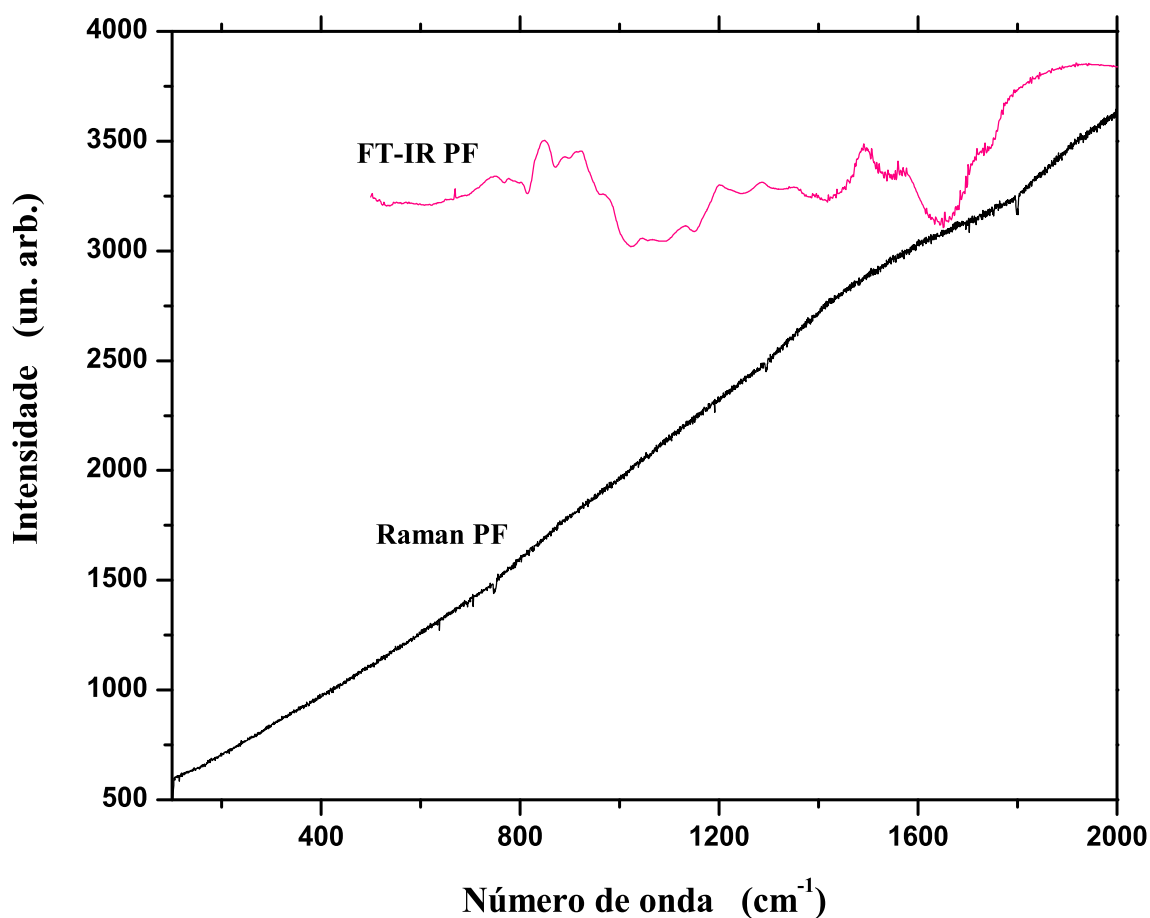


Figura 4.8: Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier da galactomanana de pau-ferro, amostra PF.

proporção de 25%, de acordo com informações obtidas no BIOPOL. Se a amostra exibe fluorescência, seu sinal é muitas ordens de magnitude mais intenso que o Raman e dessa forma as bandas Raman podem ser mascaradas [6].

Pode-se relacionar a fluorescência no espectro com a presença de proteína e/ou compostos fenólicos, uma vez que este fenômeno característico deste grupo de macromoléculas, como pode ser visto na figura 4.9 que mostra o espectro da proteína albumina.

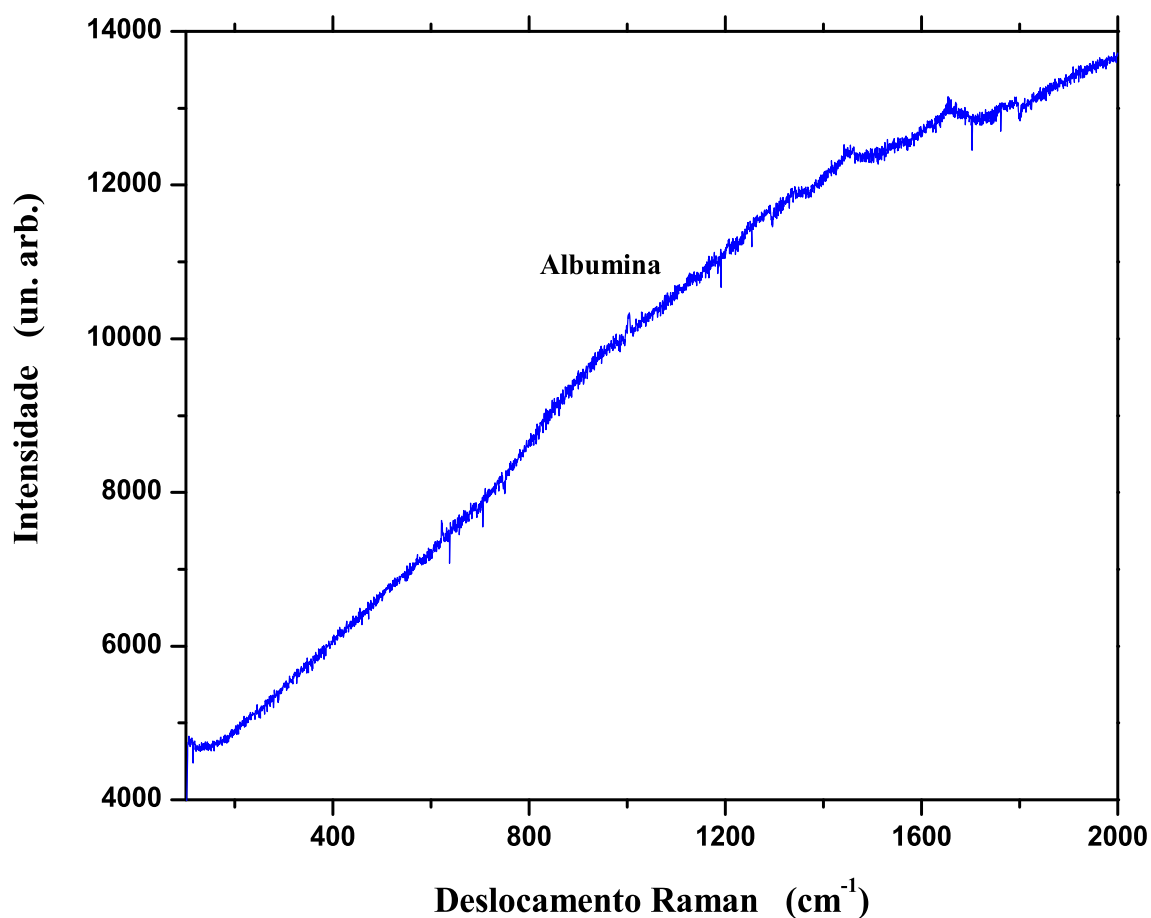


Figura 4.9: Espectro Raman da proteína albumina.

Para ratificar esta atribuição, medidas do espectro de fluorescência da amostra PF foram realizadas e este é mostrado na figura 4.10.

Como pode ser verificado a partir dessa figura, a amostra PF realmente apresenta fluorescência em diversos comprimentos de onda. Como há além da  $\beta - (1 \rightarrow 6)$ -D-manose, formadora de sua cadeia principal e da D-galactose, constituinte de seus grupos laterais, um conteúdo de aproximadamente 25% de proteínas, de acordo com informações do BIOPOL, sendo que estas não são identificadas e também outros compostos, não foi possível determinar os níveis eletrônicos e as

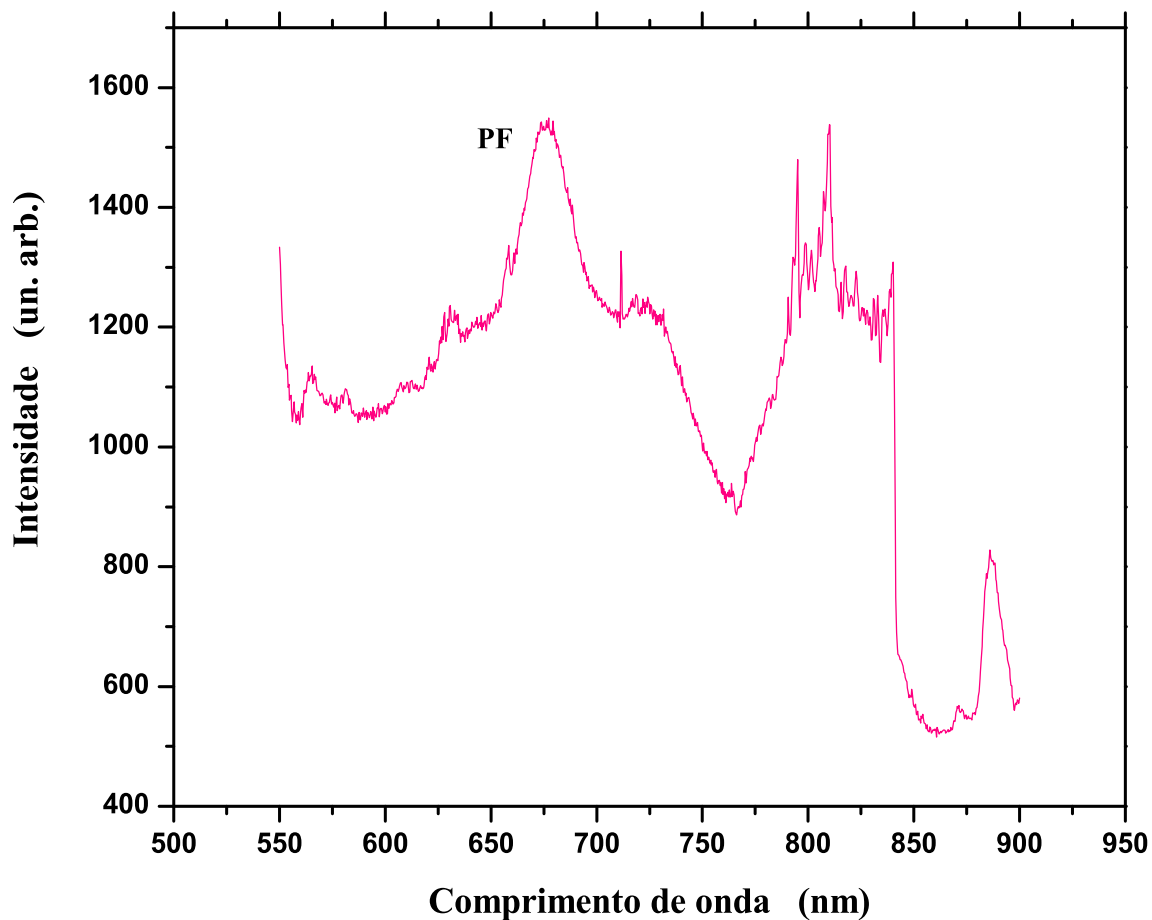


Figura 4.10: Espectro de fluorescência da galactomanana de pau-ferro, amostra PF.

transições que ocorrem entre eles, para essa amostra e um estudo mais profundo do espectro de fluorescência está fora do escopo deste trabalho.

No espectro de infravermelho da figura 4.8 vê-se a presença de bandas na região abaixo de  $1000\text{ cm}^{-1}$  e elas estão situadas em  $765\text{ cm}^{-1}$ ,  $800\text{ cm}^{-1}$ ,  $871\text{ cm}^{-1}$ . A banda em  $875\text{ cm}^{-1}$  é característica da região anomérica [36]. No caso das galactomananas tem-se a configuração  $\beta$ , visto que estes materiais tem sua cadeia principal constituída por  $\beta-(1 \rightarrow 6)\text{-D-manose}$ , e esta se situa entre  $857\text{-}893\text{ cm}^{-1}$  [32].

Há bandas na região entre 1000-1200  $\text{cm}^{-1}$ , sendo estas em 1024  $\text{cm}^{-1}$  e 1153  $\text{cm}^{-1}$ . Na região entre 1250-1400  $\text{cm}^{-1}$  foi observada uma banda em 1247  $\text{cm}^{-1}$ . Observaram-se bandas em 1541  $\text{cm}^{-1}$  e em 1647  $\text{cm}^{-1}$ . De acordo com a referência [32] os modos vibracionais da região entre 1500-1570  $\text{cm}^{-1}$  e entre 1607-1679  $\text{cm}^{-1}$ , presentes no espectro de infravermelho, são devidos à flexão da ligação N-H e ao estiramento C=O, respectivamente, principalmente em proteínas, o que poderia explicar a forte fluorescência observada no espectro Raman da amostra PF e a forte banda de emissão, em aproximadamente 670 nm, no seu espectro de fluorescência.

A figura 4.11 apresenta os espectros de outra galactomanana da amostra GG, extraída da goma guar.

Na figura 4.11, no espectro Raman, vê-se a presença de bandas em 1600  $\text{cm}^{-1}$ , 1565  $\text{cm}^{-1}$ , 1471  $\text{cm}^{-1}$ , três bandas muito próximas em 1400  $\text{cm}^{-1}$ , 1376  $\text{cm}^{-1}$  e 1350  $\text{cm}^{-1}$ , bem como uma banda em 1259  $\text{cm}^{-1}$ . Apesar desta região ser atribuída as mesmas vibrações utilizadas para explicar os espectros anteriores, vemos que os espectros são qualitativamente bem distintos, justamente devido ao fato de que estes modos estão bastante acoplados e como as moléculas são diferentes, obtemos frequências dos modos e número de modos diferentes.

Há três bandas bem próximas em 1141  $\text{cm}^{-1}$ , 1118  $\text{cm}^{-1}$  e 1082  $\text{cm}^{-1}$ , e também bandas em 1000  $\text{cm}^{-1}$ , 976  $\text{cm}^{-1}$ , 941  $\text{cm}^{-1}$ , 882  $\text{cm}^{-1}$ , 835  $\text{cm}^{-1}$ , 706  $\text{cm}^{-1}$ , 600  $\text{cm}^{-1}$ , 473  $\text{cm}^{-1}$ , 433  $\text{cm}^{-1}$  e 364  $\text{cm}^{-1}$ .

Fazendo uma análise comparativa do espectro da galactomanana de goma guar com o do oligossacarídeo que constitui sua cadeia principal, formada por unidades  $\beta - (1 \rightarrow 6) - \text{D-manose}$  e de seus grupos laterais de D-galactose [31], observa-se que apenas poucas bandas coincidem ou estão muito próximas. Este fato pode indicar a presença de outros compostos na galactomanana, como por exemplo, proteínas, uma vez que o polissacarídeo possui bandas na região entre 870-1150  $\text{cm}^{-1}$ , que é a região de alongamento da cadeia principal das proteínas, originando-se principalmente no alongamento de ligações  $\text{C}_\alpha - \text{C}$ ,  $\text{C}_\alpha - \text{C}_\beta$  e  $\text{C}_\alpha - \text{N}$  [33].

As proteínas são compostos orgânicos constituídos por um grande

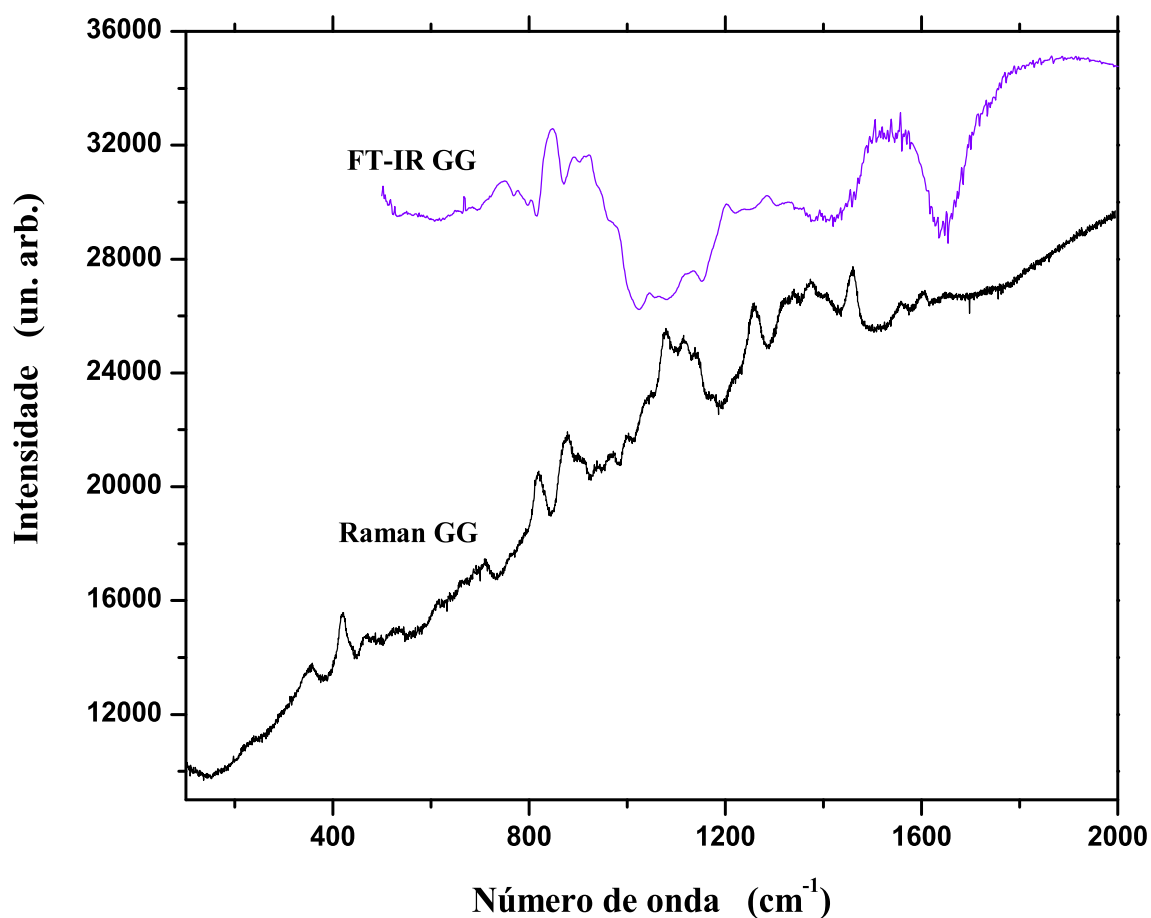


Figura 4.11: Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier da galactomanana de goma guar, amostra GG.

número de moléculas de aminoácidos. A nomenclatura dos aminoácidos obedece às regras da Iupac. Assim, a numeração dos carbonos da cadeia principal deve se iniciar pelo grupo carboxila; ou, então, deve-se nomear tais carbonos com letras gregas a partir do carbono vizinho à carboxila [35]. Assim na figura 4.12 tem-se a designação do que são os carbonos  $C_{\alpha}$  e  $C_{\beta}$ .

A partir da figura 4.11 observa-se a coincidência, nos dois espectros, das bandas presentes em  $835\text{ cm}^{-1}$  e  $1082\text{ cm}^{-1}$ .

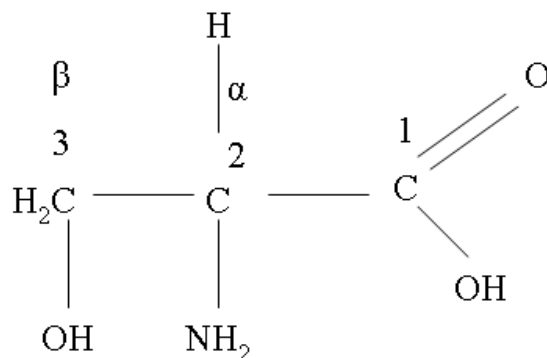


Figura 4.12: Cadeia principal de um aminoácido, constituinte de uma proteína [35].

A figura 4.13 mostra os espectros das xiloglucanas, amostras JM e JMN.

Como pode ser observado a partir da figura 4.13, as amostras JM e JMN apresentaram forte fluorescência e conseqüentemente nenhuma banda foi identificada no espectro Raman.

A impossibilidade de identificação de bandas no espectro Raman dessas amostras, motivou a realização de medidas dos espectros de fluorescência das mesmas, os quais são mostrados na figura 4.14.

Com base nos espectros da figura 4.14, verificou-se a existência de fluorescência nas amostras JM e JMN. Nota-se uma forte semelhança entre estes espectros de fluorescência e o apresentado pela amostra PF, sendo que este último ainda apresenta uma forte banda de emissão em aproximadamente 670 nm.

Nos espectros de infravermelho da figura 4.13 constataram-se bandas na região abaixo de  $1000\text{ cm}^{-1}$ , presentes em  $718\text{ cm}^{-1}$ ,  $765\text{ cm}^{-1}$ ,  $894\text{ cm}^{-1}$  e  $941\text{ cm}^{-1}$ . Na região entre  $1000\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$  verificaram-se bandas em  $1165\text{ cm}^{-1}$  e  $1200\text{ cm}^{-1}$ . Na região dos números de onda entre  $1250\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$  observou-se uma banda em  $1376$ . Identificou-se uma banda em  $1647\text{ cm}^{-1}$  nas duas amostras e uma banda em  $1733\text{ cm}^{-1}$  somente na amostra JM.

De acordo com a referência [32] os modos vibracionais da região entre

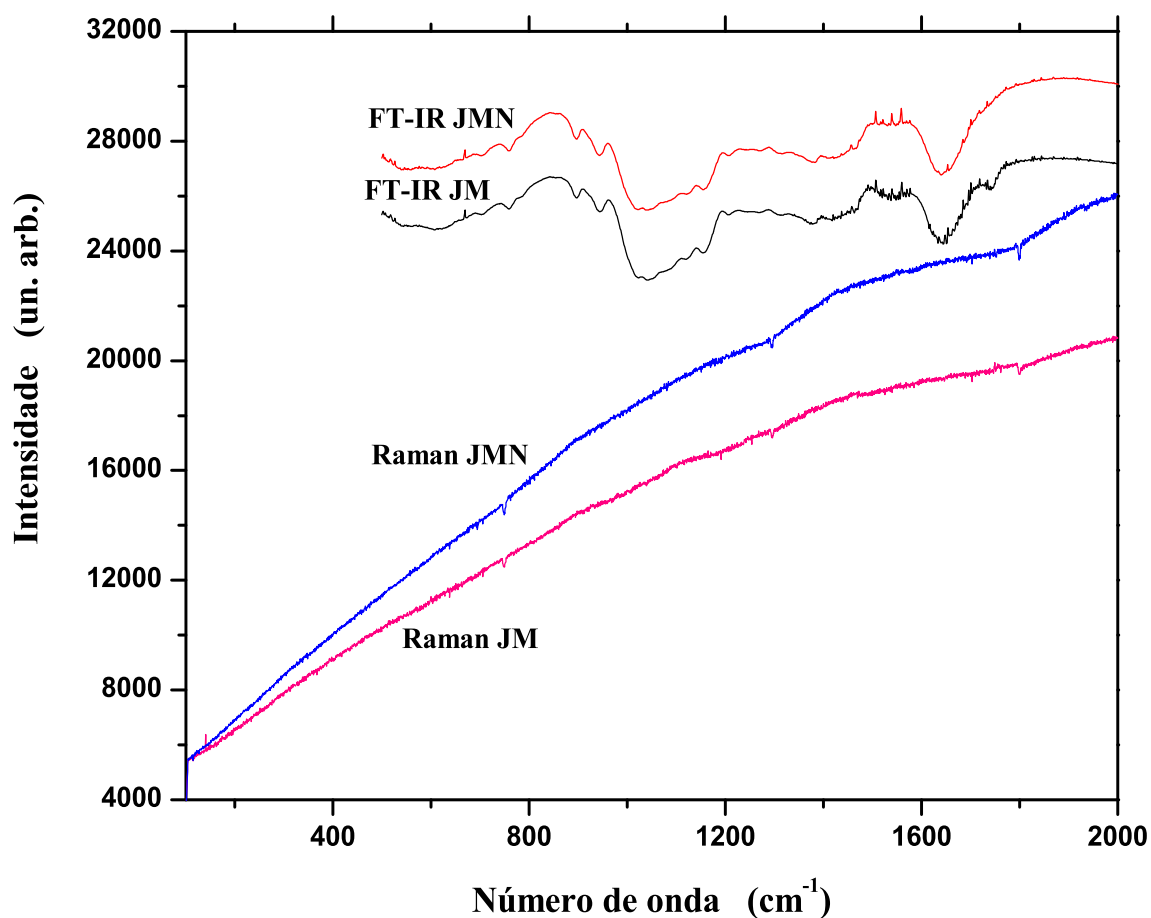


Figura 4.13: Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier das xiloglucanas extraídas de jatobá-mirim, amostra JM e de jatobá, amostra JMN.

1179-1286  $\text{cm}^{-1}$  e entre 1607-1679  $\text{cm}^{-1}$ , presentes no espectro de infravermelho, são devidos à flexão da ligação N-H e ao estiramento C=O, respectivamente, observada principalmente em proteínas, o que poderia explicar a forte fluorescência observada no espectro Raman das amostras JM e JMN.

A figura 4.15 mostra os espectros para a xiloglucana TM.

No espectro Raman da figura 4.15 existem bandas em 1341  $\text{cm}^{-1}$ , 1388  $\text{cm}^{-1}$  e 1471  $\text{cm}^{-1}$ . Houve também a constatação de uma banda em 1129  $\text{cm}^{-1}$



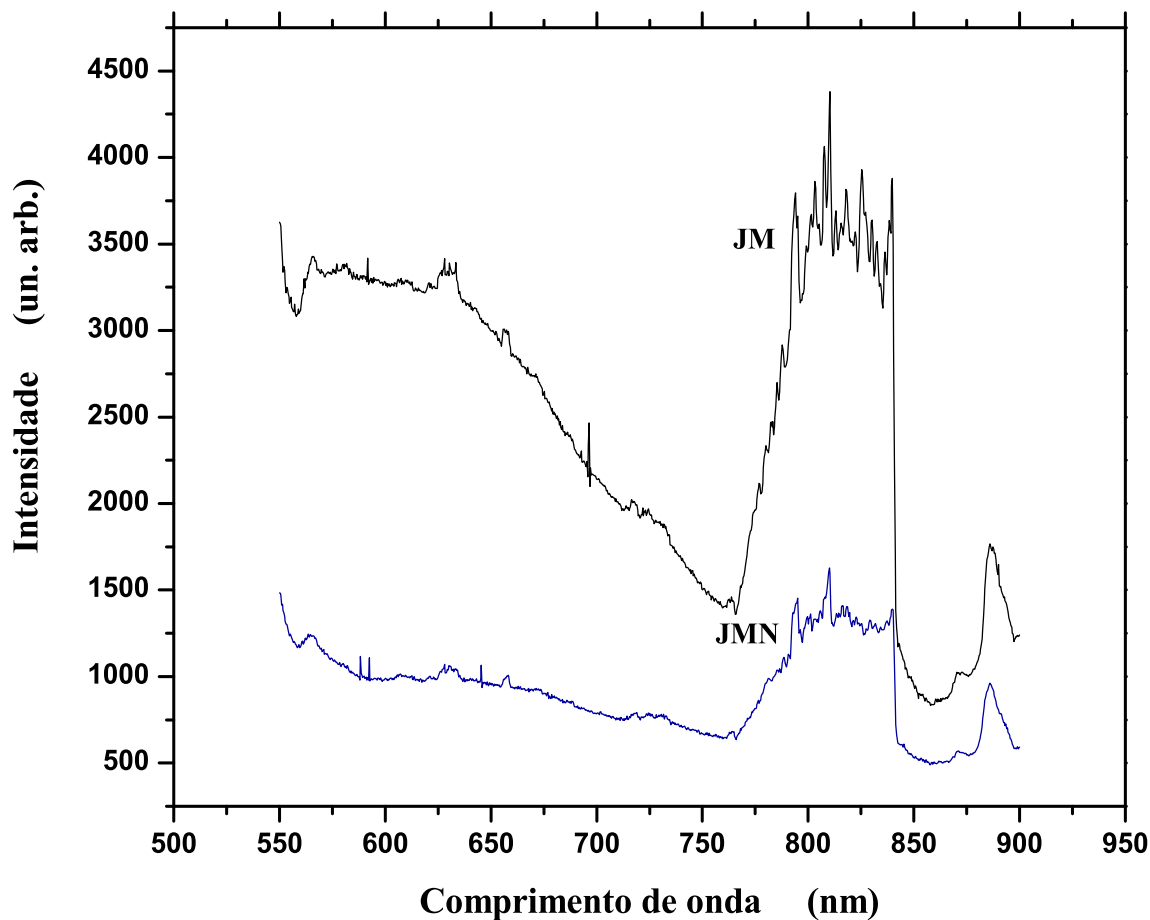


Figura 4.14: Espectro de fluorescência das xiloglucanas extraídas de jatobá-mirim, amostra JM e de jatobá, amostra JMN.

e  $1106\text{ cm}^{-1}$ . Há uma banda em  $929\text{ cm}^{-1}$ ,  $906\text{ cm}^{-1}$  e  $765\text{ cm}^{-1}$ . Notou-se ainda a existência de uma banda em  $518\text{ cm}^{-1}$ .

No espectro de infravermelho da figura 4.15 existem bandas na região abaixo de  $1000\text{ cm}^{-1}$ , presentes em  $906\text{ cm}^{-1}$  e  $953\text{ cm}^{-1}$ . Na região entre  $1000\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$  verificaram-se bandas em  $1047\text{ cm}^{-1}$ ,  $1129\text{ cm}^{-1}$  e  $1165\text{ cm}^{-1}$ . Também foram identificadas bandas em  $1388\text{ cm}^{-1}$  e em  $1647\text{ cm}^{-1}$ .

Assim as bandas coincidentes nos dois espectros são as presentes em

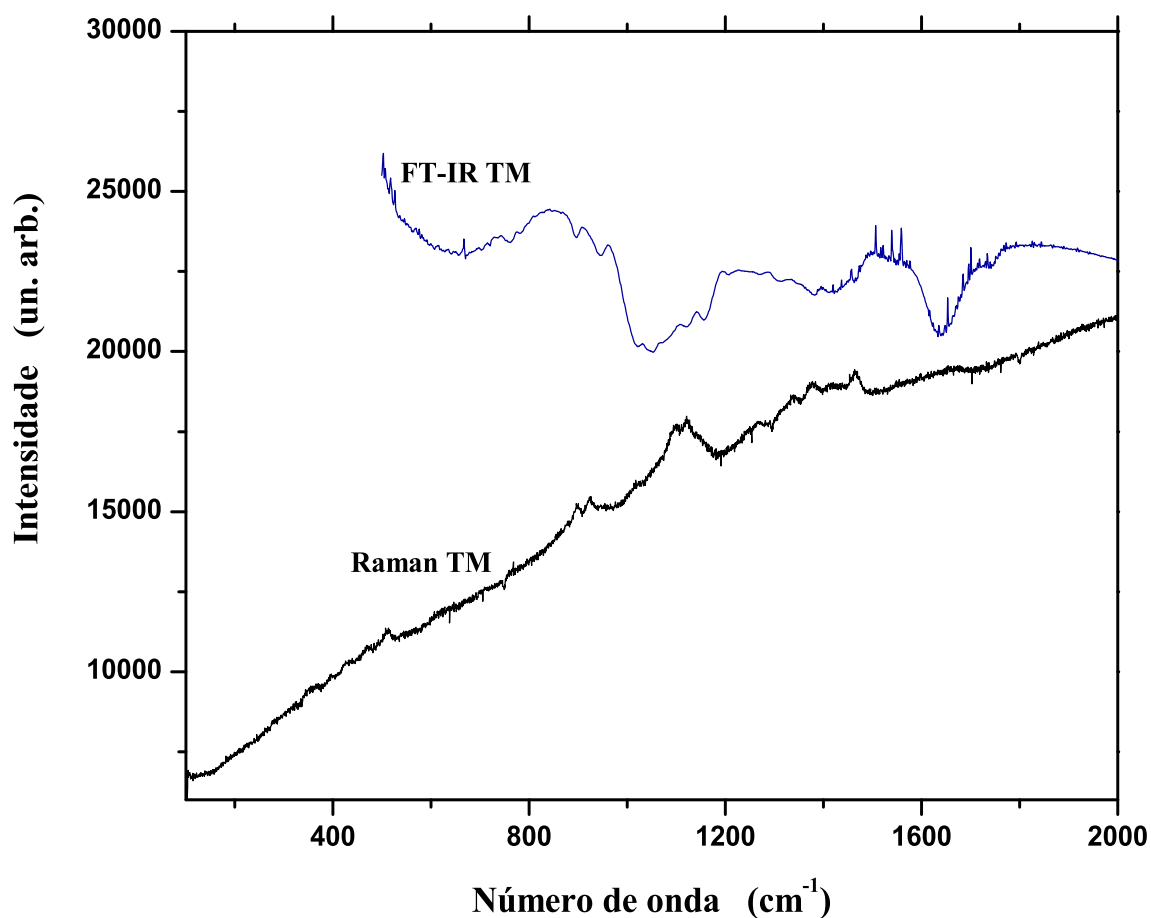


Figura 4.15: Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier da xilogucana de tamarindo, amostra TM.

906  $\text{cm}^{-1}$ , 1129  $\text{cm}^{-1}$  e 1376  $\text{cm}^{-1}$ .

A figura 4.16 mostra os espectros para a xilogucana JRA.

Verificou-se no espectro Raman da figura 4.16 a existência de bandas em 1471  $\text{cm}^{-1}$ , 1376  $\text{cm}^{-1}$  e 1341  $\text{cm}^{-1}$ . Observou-se uma banda em 1271  $\text{cm}^{-1}$  e também uma banda em 1129  $\text{cm}^{-1}$ . Houve também a constatação de uma banda em 1094  $\text{cm}^{-1}$  e uma banda em 1024  $\text{cm}^{-1}$ . Há uma banda em 929  $\text{cm}^{-1}$  e 906  $\text{cm}^{-1}$ .

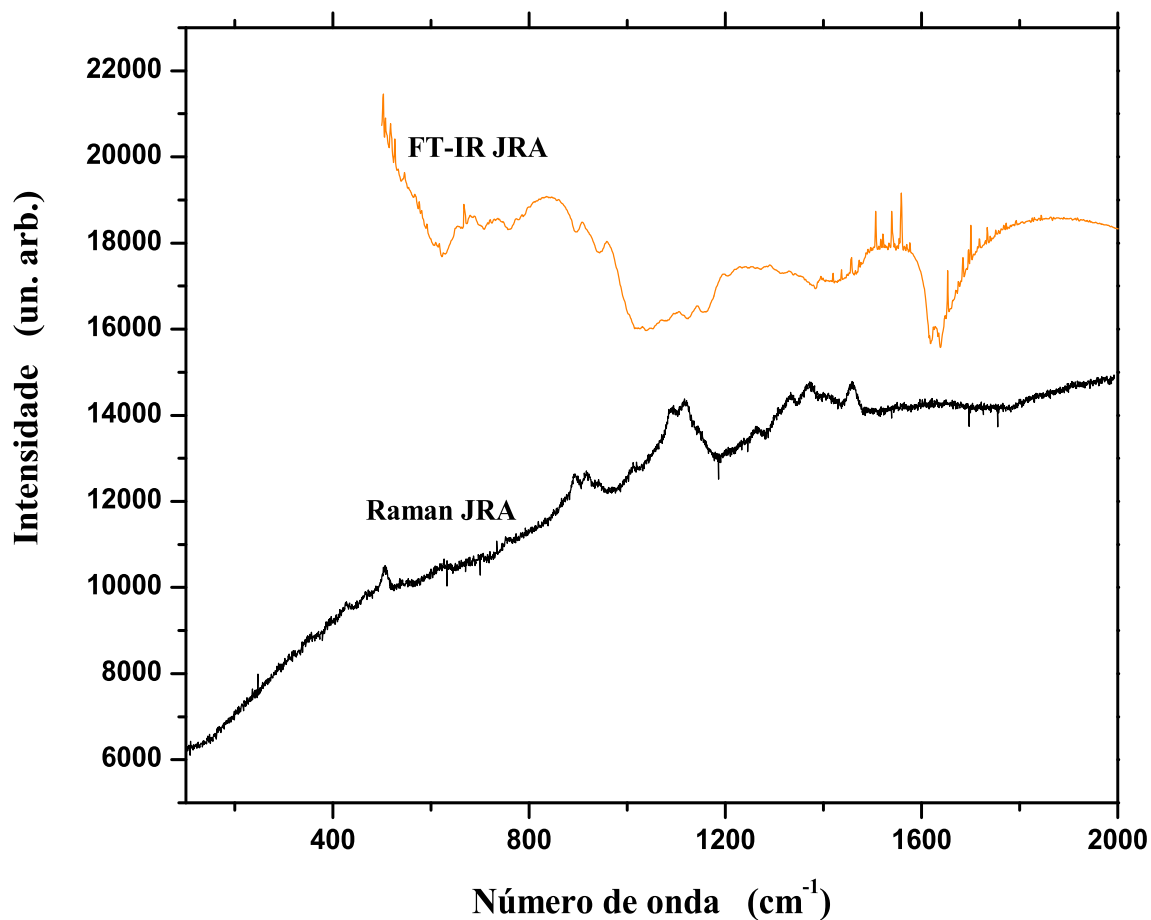


Figura 4.16: Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier da xiloglucana de jatobá, amostra JRA.

Notou-se ainda a existência de uma banda em  $518\text{ cm}^{-1}$ .

No espectro de infravermelho da figura 4.16 existem bandas na região abaixo de  $1000\text{ cm}^{-1}$ , presentes em  $624\text{ cm}^{-1}$ ,  $706\text{ cm}^{-1}$ ,  $765\text{ cm}^{-1}$ ,  $906\text{ cm}^{-1}$  e  $953\text{ cm}^{-1}$ . Na região entre  $1000\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$  verificou-se uma banda em  $1129\text{ cm}^{-1}$  e  $1165\text{ cm}^{-1}$ . Também foi identificada uma banda em  $1376\text{ cm}^{-1}$ ,  $1624\text{ cm}^{-1}$  e em  $1647\text{ cm}^{-1}$ .

As bandas coincidentes nos dois espectros são as presentes em  $906$

$\text{cm}^{-1}$ ,  $1129 \text{ cm}^{-1}$  e  $1376 \text{ cm}^{-1}$ .

Na figura 4.17 tem-se os espectros para a xiloglucana JRA purificada.

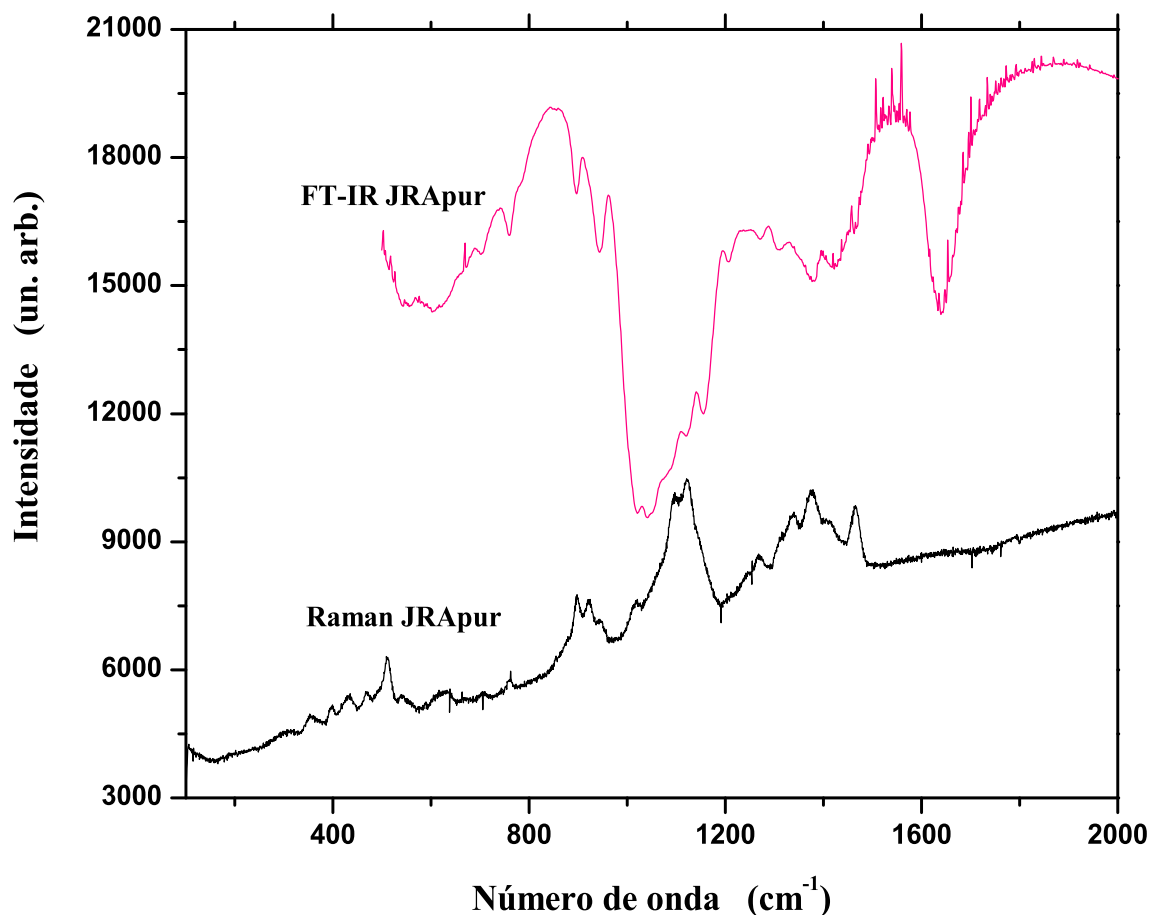


Figura 4.17: Espectros Raman e de infravermelho por transformada de Fourier da xiloglucana de jatobá purificada, amostra JRApur.

No espectro Raman da JRApur existem bandas em  $1471 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1388 \text{ cm}^{-1}$  e  $1341 \text{ cm}^{-1}$ . Observou-se uma banda em  $1282 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1129 \text{ cm}^{-1}$  e também uma banda em  $1012 \text{ cm}^{-1}$ . Houve também a constatação de uma banda em  $929 \text{ cm}^{-1}$  e  $906 \text{ cm}^{-1}$ . Há uma banda em  $765 \text{ cm}^{-1}$ , outra em  $635 \text{ cm}^{-1}$  e  $518 \text{ cm}^{-1}$ . Notou-se ainda a existência de uma banda em  $471 \text{ cm}^{-1}$ ,  $435 \text{ cm}^{-1}$ ,  $400 \text{ cm}^{-1}$  e  $353$

$\text{cm}^{-1}$ .

No espectro de infravermelho constataram-se bandas na região abaixo de  $1000 \text{ cm}^{-1}$ , presentes em  $600 \text{ cm}^{-1}$ ,  $718 \text{ cm}^{-1}$ ,  $765 \text{ cm}^{-1}$ ,  $906 \text{ cm}^{-1}$  e em  $953 \text{ cm}^{-1}$ . Na região entre  $1000\text{-}1200 \text{ cm}^{-1}$  verificaram-se bandas em  $1012 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1047 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1129 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1165 \text{ cm}^{-1}$  e  $1200 \text{ cm}^{-1}$ . Na região dos números de onda entre  $1250\text{-}1400 \text{ cm}^{-1}$  observaram-se bandas em  $1282 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1318 \text{ cm}^{-1}$  e  $1388 \text{ cm}^{-1}$ . Identificaram-se bandas em  $1429 \text{ cm}^{-1}$  e  $1647 \text{ cm}^{-1}$ .

No espectro da xiloglucana JRA purificada as bandas coincidentes nos dois espectros são as bandas em  $765 \text{ cm}^{-1}$ ,  $906 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1012 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1129 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1282 \text{ cm}^{-1}$  e  $1388 \text{ cm}^{-1}$ .

No caso das amostras TM, JRA e JRA purificada observou-se coincidência da maioria das bandas no espectro Raman, sendo que no caso da amostra purificada, estas são melhor resolvidas, em função da diminuição da fluorescência.

Comparando o espectro Raman das xiloglucanas com o da celulose publicado na literatura [31] verifica-se pouca coincidência das bandas. No entanto a maioria das bandas observadas coincidem com a da  $\alpha - (1 \rightarrow 6)\text{-xilose}$  [31], que é uma cadeia lateral da xiloglucana, principalmente na amostra purificada.

De acordo com a referência [32] os modos vibracionais da região entre  $1179\text{-}1286 \text{ cm}^{-1}$  e entre  $1607\text{-}1679 \text{ cm}^{-1}$  são devidos ao estiramento  $\text{C}=\text{O}$  e à flexão da ligação  $\text{N-H}$ , respectivamente, observada principalmente em proteínas, o que poderia explicar a forte fluorescência observada no espectro Raman das amostras JM e JMN.

Todas as xiloglucanas apresentaram bandas em  $1165 \text{ cm}^{-1}$  e  $1647 \text{ cm}^{-1}$  nos seus espectros de infravermelho, fornecendo indícios que estas representam uma característica dessa classe de polissacarídeo. A presença da banda de absorção em  $1165 \text{ cm}^{-1}$  nas xiloglucanas era esperada, pois esta banda aparece no espectro de infravermelho da celulose [42] e a cadeia principal das xiloglucanas é idêntica à da celulose.

As tabelas 4.4 e 4.5 apresentam um resumo das propriedades vibra-

cionais obtidas com as espectroscopias Raman e de infravermelho, respectivamente.

Tipo de ligação	Modo vibracional (em $\text{cm}^{-1}$ )	Amostra
Alongamento da ligação C=C	1667	amilose
	ausente	amilo-pectina
	1659	A08
	ausente	A32
	fluorescência	PF
	ausente	GG
	fluorescência	JM
	fluorescência	JMN
	ausente	TM
	ausente	JRA
	ausente	JRApur
	Deformações envolvendo ligações tipo HCH e $\text{CH}_2\text{OH}$	1200, 1258, 1333, 1383, 1400, 1459
1200, 1258, 1383, 1400, 1459		amilo-pectna
1212, 1259, 1341, 1388, 1400, 1450		A08
1212, 1259, 1341, 1400, 1450		A32
fluorescência		PF
1259, 1376, 1471		GG
fluorescência		JM
fluorescência		JMN
1341, 1388, 1471		TM
1271, 1341, 1376, 1471		JRA
1282, 1341, 1388, 1471		JRApur

Tipo de ligação	Modo vibracional (em $\text{cm}^{-1}$ )	Amostra
Estiramento C-O com contribuições de C-C	1050, 1083, 1117, 1150	amilose
	1050, 1083, 1117, 1150	amilo-pectina
	953, 1059, 1082, 1129	A08
	953, 1059, 1082, 1129, 1165	A32
	fluorescência	PF
	976, 1000, 1082, 1118, 1141	GG
	fluorescência	JM
	fluorescência	JMN
	906, 929, 1106, 1129	TM
	906, 929, 1024, 1094, 1129	JRA
	906, 929, 1012, 1129	JRApur
Deformações de grupos laterais (COH, CCH, OCH)	717, 767, 867, 933	amilose
	717, 767, 867, 933	amilo-pectina
	718, 776, 871	A08
	718, 776, 871	A32
	fluorescência	PF
	706, 835, 882, 941	GG
	fluorescência	JM
	fluorescência	JMN
	765, 906, 929	TM
	906, 929	JRA
	765, 906, 929	JRApur



<b>Tipo de ligação</b>	<b>Modo vibracional (em <math>\text{cm}^{-1}</math>)</b>	<b>Amostra</b>
Deformações exocíclicas	533, 583, 617	amilose
	533, 583	amilo-pectna
	529, 576, 624	A08
	576	A32
	fluorescência	PF
	ausente	GG
	fluorescência	JM
	fluorescência	JMN
	518	TM
	518	JRA
	518, 635	JRApur
Deformações endocíclicas	317, 367, 400, 450, 483	amilose
	317, 367, 400, 450, 483	amilo-pectna
	306, 365, 412, 441, 494	A08
	306, 329, 365, 412, 441, 494	A32
	fluorescência	PF
	365, 424	GG
	fluorescência	JM
	fluorescência	JMN
	ausente	TM
	ausente	JRA
	353, 400, 435, 471	JRApur

Tabela 4.4: Bandas observadas nos espectros Raman dos polissacarídeos [29], [31], [32].

Tipo de ligação	Modo vibracional (em $\text{cm}^{-1}$ )	Amostra
Estiramento da ligação C-O	1250, 1375	amilose
	1250, 1375	amilo-pectna
	1306, 1365	A08
	1259, 1306, 1376	A32
	ausente	PF
	1318	GG
	1376	JM
	1376	JMN
	1388	TM
	1376	JRA
	1282, 1318, 1388	JRApur
Vibrações do anel, estiramento de grupos laterais C-OH e ligações glicosídicas C-O-C	1036, 1089, 1161	amilose
	1036, 1089, 1161	amilo-pectina
	1024, 1082, 1165, 1200	A08
	1024, 1082, 1129, 1165	A32
	1024, 1153	PF
	1035, 1082, 1165	GG
	1165, 1200	JM
	1165, 1200	JMN
	1047, 1129, 1165	TM
	1129, 1165	JRA
	1012, 1047, 1129 1165, 1200	JRApur

<b>Tipo de ligação</b>	<b>Modo vibracional (em <math>\text{cm}^{-1}</math>)</b>	<b>Amostra</b>
Impressões digitais do esqueleto e ligação C-O-C	533, 583, 717, 767, 867, 946	amilose
	533, 583, 717, 767, 867, 946	amilo-pectna
	529, 576, 600, 706, 718, 776, 859, 929	A08
	529, 588, 718, 765, 871, 935	A32
	765, 800, 871	PF
	776, 800, 835, 859, 894	GG
	718, 765, 894, 941	JM
	718, 765, 894, 941	JMN
	906, 953	TM
	624, 706, 765, 906, 953	JRA
	600, 718, 765, 906, 953	JRApur

Tabela 4.5: Bandas observadas nos espectros de infravermelho por transformada de Fourier dos polissacarídeos [32], [36].

# Capítulo 5

## Conclusão

Mediante a utilização das espectroscopias Raman e de infravermelho, foram identificadas regiões espectrais em termos dos modos vibracionais da amilose, amilo-pectina, amidos, galactomananas e xiloglucanas, o que permitiu a distinção entre os diferentes polissacarídeos, objetivo deste trabalho.

No caso das amostras de amilose e amilo-pectina não foram observadas diferenças nos seus espectros de infravermelho e seus espectros Raman indicam que a ramificação na estrutura da amilo-pectina não induz muitas mudanças nos seus espectros, uma vez que a única diferença observada foi a presença de duas bandas fracas em  $1550\text{ cm}^{-1}$  e  $1667\text{ cm}^{-1}$  no espectro da amilose. Além disso, os modos vibracionais desses materiais estão muito próximos ou coincidem com os da  $\alpha$ -D-glucana, fato esperado, pois a amilose e a amilo-pectina são polímeros da glucana citada.

Para as amostras dos amidos também não foram observadas diferenças nos seus espectros de infravermelho; e nos espectros Raman as diferenças foram a presença de duas bandas fracas na região entre  $1550\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$  e de duas bandas na região entre  $500\text{-}700\text{ cm}^{-1}$  somente no espectro do amido de milho, amostra nativa. Esse fato indicou que a pré-gelatinização do amido de mandioca para melhorar sua

solubilidade, produz poucas diferenças em seu espectro comparado ao da amostra nativa.

Nos espectros das galactomananas foram constatados modos vibracionais associados à proteínas, o que explica a fluorescência observada em seus espectros Raman.

Para as xiloglucanas somente por meio da utilização da espectroscopia de infravermelho foi possível obter os espectros de todas as amostras dessa classe de polissacarídeos, visto que os espectros Raman das amostras JM e JMN apresentaram forte fluorescência. Dessa maneira para essas duas amostras verificaram-se modos vibracionais observados principalmente em proteínas.

Nos espectros de infravermelho das xiloglucanas observou-se uma banda de absorção em  $1165\text{ cm}^{-1}$ , característica da celulose, e em seus espectros Raman constataram-se muitos modos vibracionais coincidentes com os da xilose, principalmente na amostra purificada. A celulose e a xilose são constituintes da cadeia principal e lateral, respectivamente, das xiloglucanas.

Verificou-se que o processo de purificação mostrou-se eficiente na diminuição da fluorescência observada nas amostras, pois este permitiu identificar um número maior de bandas e estas melhor resolvidas. A fluorescência é atribuída às proteínas e/ou compostos fenólicos que podem estar misturadas nas amostras ou ligadas à elas, em função do próprio processo de extração.

A metodologia empregada se mostrou adequada em comparação com outros métodos, por exemplo, espalhamento dinâmico da luz, que poderiam fornecer informações somente a respeito da distribuição de tamanho das moléculas presentes na amostra. A espectroscopia Raman é uma técnica não destrutiva e em geral não requer preparação das amostras, além disso tem se mostrado um método proeminente para determinar a relação entre estrutura, dinâmica e função de biomoléculas. A espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier se mostrou eficiente na determinação das propriedades vibracionais das amostras que apresentaram fluorescência, pois esta pode atrapalhar ou impedir a detecção de bandas no espectro

Raman.

Os resultados obtidos permitem formar uma espécie de banco de dados a respeito das amostras deste trabalho, algumas ainda em fase de caracterização e outras pouco estudadas na literatura.

Na continuidade deste trabalho novas medidas das amostras dos polissacarídeos devem ser obtidos, após a diminuição da fluorescência, mediante a eliminação ou diminuição de outros compostos presentes nas amostras.

Análise e identificação das proteínas presentes nas amostras através da espectroscopia de massa (TOF-MALDI).

Aquisição dos espectros dos polissacarídeos em solução, para verificar se há alguma mudança conformacional em relação aos espectros das amostras em forma de pó.

Obtenção dos espectros de Atividade Óptica Raman (ROA) dos polissacarídeos em solução, fornecendo informações detalhadas sobre a estrutura tridimensional, complementando as informações obtidas com os métodos espectroscópicos empregados neste trabalho.

Aquisição dos espectros de Espalhamento Raman Amplificado por Superfície (SERS). O conhecimento desse tipo de espectro é importante não apenas para a espectroscopia Raman, mas para a nanociência, visto que possibilita investigar o tipo de interação entre a molécula de polissacarídeo e o substrato, o local de adsorção da molécula e também as novas propriedades de tais moléculas adsorvidas.

# Bibliografia

- [1] SIERAKOWSKI, M. R. (Coord.). **Rede Nanoglicobiotecnologia**. Edital MCT/CNPq 29/2005 Redes Cooperativas em Nanociência, Nanotecnologia e Nanobiotecnologia, Fase II, 2005. 80 p. Projeto em andamento.
- [2] PRASAD, P. N. **Introduction to Biophotonics**, John Wiley & Sons, 2003. cap. 4.
- [3] RIBEIRO, E. Propriedades Ópticas de Nanoestruturas. In: ESCOLA DE INVERNO EM SISTEMAS NANOESTRUTURADOS, 4, 2003, Campinas: LNLS.
- [4] MEYER-ARENDET, J. R. **Introduction to Classical and Modern Optics**, 4.ed, New Jersey: Prentice-Hall, 1995, p. 366-371.
- [5] ATKINS, P. W. **Físico-Química**, 2, 6.ed., Editora LTC, 1997.
- [6] HARBECKE, B.; HEINZ, B.; OFFERMANN, V.; THEI $\beta$ , W. Far-Infrared Spectroscopy. In: BAUER, G.; RICHTER, W. (Ed). **Optical Characterization of Epitaxial Semiconductor Layers**, New York: Springer, 1996. p. 225-232.
- [7] GREENHAM, N. C. **Electroluminescence in Conjugated Polymers**. 204 f. Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy - Clare College, University of Cambridge, 1995.

- [8] CAREY, P. R. Raman Spectroscopy, the Sleeping Giant in Structural Biology, Awakes. **The Journal of Biological Chemistry**, Cleveland, 274, n. 38, p. 26625-26628, set. 1999.
- [9] BRILLOUIN, P. L. **Annalen der Physik**, Paris, 17, n. 88, 1922.
- [10] SMEKAL, A. **Naturwissenschaft**, 11, 873, 1923.
- [11] RAMAN, C. V. **Indian Journal of Physics**, 2, 387, 1928.
- [12] LANDSBERG, G.; MANDELSTAM, L. **Naturwissenschaft**, 16, 57, 1928.
- [13] <<http://www.kosi.com/raman/resources/tutorial>>. Acesso em: 20/08/2006.
- [14] YU, P. Y.; CARDONA, M. **Fundamentals of Semiconductors Physics and Materials Properties**, Springer, 1995.
- [15] MENTZEN, B. F. Spectroscopies Infrarouge et Raman. **Monographies du Centre D'Actualisation Scientifique et Technique**, n.9, Masson et Cie, 1974.
- [16] ALLINGER, N. L.; CAVA, M. P.; JONGH, D. C. de; JOHNSON, C. R.; LEBEL, N. A.; STEVENS, C. L. **Química Orgânica**, 2. ed., Editora Guanabara, 1978, p.621-641.
- [17] YALPANI, M. Polysaccharides Syntheses, Modifications and Structure/Property Relation. **Studies in Organic Chemistry**, n. 36, Elsevier, 1988.
- [18] <[http://www.anbio.org.br/pdf/24/tr06\\_biopolimeros.pdf](http://www.anbio.org.br/pdf/24/tr06_biopolimeros.pdf)>. Acesso em: 14/11/2007.
- [19] MARTIN, S. **Galactoxiloglucana de sementes de Hymenae courbaril: estrutura e propriedades**. 110 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.



- [20] JONES, J. K. N.; STOODLEY, R. J. Fractionation using copper complexes. **Methods Carbohydrate Chemistry**, 5, 1965.
- [21] WHISTLER, R. L.; SMART, C. L. **Polysaccharide Chemistry**, New York: Academic Press Inc, Publishers, 1953.
- [22] SITTIKIYOTHIN, W.; TORRES, D.; GONÇALVES, M. P. Modeling the rheological behaviour of galactomannan aqueous solution. **Carbohydrate Polymers**, Barking, 59, 2005, p. 339-350.
- [23] UMEMURA, M.; YUGUCHI, Y. Conformational folding of xyloglucan side chains in aqueous solution from molecular dynamics simulation. **Carbohydrate Research**, 340, 2005, p. 2520-2532.
- [24] FREITAS, R. A. **Estrutura e interação entre galactoxiloglucanas e amidos**. 143 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.
- [25] <[www.lcvn.univ-montp2.fr/instrumentation/Presentation\\_Appareils/Instruments/Raman\\_fiche/J\\_Y\\_T64000.html](http://www.lcvn.univ-montp2.fr/instrumentation/Presentation_Appareils/Instruments/Raman_fiche/J_Y_T64000.html)>. Acesso em: 19/11/2007.
- [26] <[http://www.biophysics.org/education/cathy\\_royer.pdf](http://www.biophysics.org/education/cathy_royer.pdf)>. Acesso em: 19/11/2007.
- [27] HSU, C. P. S. Infrared Spectroscopy. **Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry**, cap.15.
- [28] The Michelson Series FT-IR Spectrometer. **User's Guide**, Version 1.50, Bomem Inc. Québec, Canadá, 1992.
- [29] MROZEK, M. F.; WEAVER, M. J. Detection and Identification of Aqueous Saccharides by Using Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. **Analytical Chemistry**, 74, 2002, p. 4069-4075.
- [30] SCHMITT, M.; POPP, J. Raman Spectroscopy at the Beginning of the Twenty-First Century. **Journal of Raman Spectroscopy**, 37, 2006, p. 20-28.

- [31] GELDER, J. de; GUSSEM, K. de; VANDENABEELE, P.; MOENS, L. Reference database of Raman spectra of biological molecules. **Journal of Raman Spectroscopy**, 38, 2007, p. 1133-1147.
- [32] THYGESEN, L. G.; LOKKE, M. M.; MICKLANDER, E.; ENGELSEN, S. B. Vibrational microspectroscopy of food. Raman vs. FT-IR. **Trends in Food Science Technology**, 14, 2003, p. 50-57.
- [33] BARRON, L. D.; HECHT, L.; BLANCH, E. W.; BELL, A. F. Solution structure and dynamics of biomolecules from Raman optical activity. **Progress in Biophysics & Molecular Biology**, 73, 2000, p. 1-49.
- [34] ATKINS, P. W. **Físico-Química**, 2, 6.ed., Editora LTC, 1997.
- [35] SARDELLA, A. **Química**, 5.ed., Ática, 2003. cap. 76-79.
- [36] KACURÁKOVÁ, M.; CAPEK, P.; SASINKOVÁ, V.; WELLNER, N.; EBRINGEROVÁ, A. FT-IR study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses.
- [37] LEVINE, I. N. **Physical Chemistry**, 4.ed., Mc Graw-Hill, 1995. cap. 21.
- [38] COLTHUP, N. B.; DALY, L. H.; WIBERLEY, S. E. **Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy**, 2.ed., Academic Press, 1975.
- [39] DUPUY, N.; LAUREYNS, J. Recognition of starches by Raman Spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, 49, 2002, p. 83-90.
- [40] SANTHA, N.; SUDHA, K. G.; VIJAYAKUMARI, K. P., et al. Raman and Infrared-spectra of starch samples of sweet-potato and cassava. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences (Chemical Science)**. 102 (5), oct. 1990, p. 705-712. **Carbohydrate Polymers**, Elsevier, 43, 2000, p. 195-203.
- [41] CEREDA, M.P.; VILPOUX, O.; DEMIATE, I. M. **Tecnología, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas**, v.3, cap. 12, p. 1-44.

- [42] NIKONENKO, N.A.; BUSLOV, D.K.; SUSHKO, N.I.; ZHBANKOV, R.G. Spectroscopic manifestation of stretching vibrations of glycosidic linkage in polysaccharides. **Journal of Molecular Structure**, Elsevier, 752, 2005, p. 20-24.

# Anexo

## Glossário

**Aldeído:** composto orgânico que se caracteriza pela presença em sua estrutura, do grupamento  $\text{H-C=O}$  (formila), ligado a um radical alifático ou aromático. A fórmula bruta dos aldeídos corresponde a um álcool com dois átomos de hidrogênio a menos.

**Amido:** polímero composto de muitas unidades de glicose repetidas. As plantas utilizam o amido como principal reserva de energia, armazenando carboidratos na forma de grânulos nas sementes, frutos, tubérculos e raízes, dependendo da planta. É uma mistura de dois polissacarídeos diferentes: amilose (cerca de 20%) e amilopectina (cerca de 80 %).

**Amilo-pectina:** polissacarídeo ramificado constituído de cadeias de D-glicose em ligações  $\alpha - (1 \rightarrow 4)$ -D-glucana. A molécula de amilo-pectina tem uma ramificação a cada 25 unidades de glicose. Pode conter entre 1000 até  $10^6$  unidades de glicose, o que a torna uma das maiores moléculas encontradas na natureza.

**Amilose:** polissacarídeo não ramificado constituído de cerca de 250-300 cadeias de

D-glicose em ligações  $\alpha - (1 \rightarrow 4)$ -D-glucana.

**Aminoácidos:** são ácidos orgânicos que encerram em sua molécula um ou mais grupamentos amina. Existem vários tipos de aminoácidos, sendo os mais importantes os alfa-aminoácidos. Qualquer molécula de aminoácido tem um grupo carboxila (COOH) e um grupo amina ligados a um átomo de carbono. Nesse mesmo carbono ficam ligados ainda um átomo de hidrogênio e um radical. Os aminoácidos são as estruturas fundamentais das proteínas. Cada variação no número ou na seqüência de aminoácidos produz uma proteína diferente.

**Carboidrato:** classe de substâncias mais abundante no mundo biológico, que per-

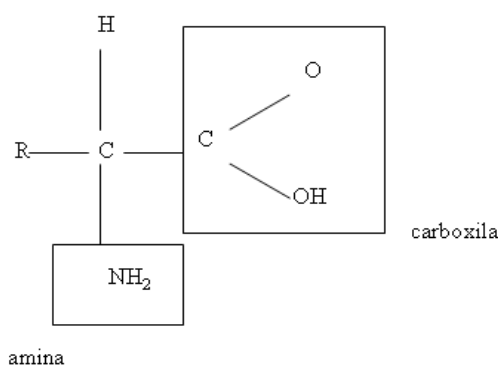


Figura 5.1: Estrutura geral de um aminoácido.

faz mais de 50% do peso seco da biomassa da Terra. Os carboidratos são constituintes importantes de todos os organismos vivos e têm várias funções, como por exemplo, funções de energia e estrutura da matéria viva. Receberam este nome pelo fato da fórmula empírica geral de muitos deles ser  $C_n(H_2O)_n$ , isto é, carbono hidratado.

**Carbono anomérico:** único carbono na molécula que está ligado a dois oxigênios.

**Carboxila:** é um grupamento orgânico ( $-COOH$ ), presente em ácidos carboxílicos, derivado da união do grupamento carbonila com o grupamento hidroxila.

**Celulose:** polímero de glicose encontrado nas plantas. Este polímero é insolúvel em água e tem função estrutural nas plantas. As propriedades físicas deste material resultam do peso molecular muito alto (cerca de 3000 unidades de glicose) e do fato de que não há ramificações. A celulose comum é um polímero formado pela con-

densação de moléculas de  $\beta$ -glicose com eliminação de água.

**Cetona:** composto orgânico caracterizado pela presença do grupamento  $-C=O$ ,

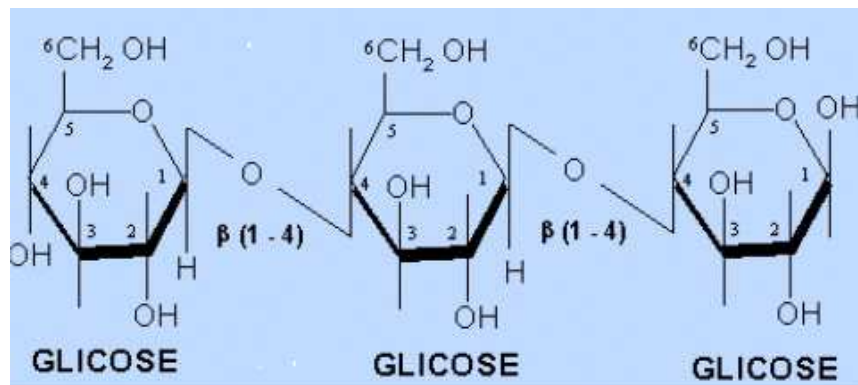


Figura 5.2: Estrutura parcial da celulose.

carbonila, ligado a dois radicais orgânicos.

**Compostos fenólicos:** possuem em comum um anel aromático rodeado por um ou mais grupos hidroxila. A maioria é solúvel em água.

**Configuração  $\alpha$ :** indica que os grupos hidroxila  $-OH$  dos carbonos 1 e 2 estão em posição cis.

**Configuração  $\beta$ :** indica que os grupos hidroxila  $-OH$  dos carbonos 1 e 2 estão em

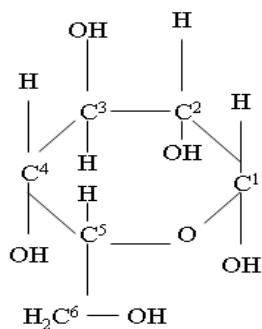


Figura 5.3: Configuração alfa.

posição trans.

**Deformações endocíclicas:** deformações que acontecem dentro de um anel.

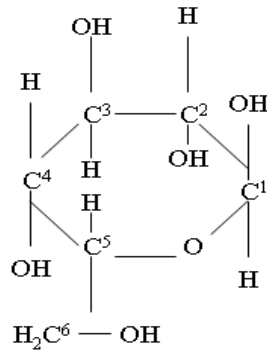


Figura 5.4: Configuração beta.

**Deformações exocíclicas:** deformações que acontecem fora de um anel.

**Galactomanana:** polissacarídeos compostos por unidades monossacarídeas de D-galactose e D-manose. Desempenham papel de reserva. Estruturalmente a maioria dessas moléculas é constituída por uma cadeia principal formada por unidades  $\beta - (1 \rightarrow 6)$ -D-manose, às quais estão ligadas grupos laterais de D-galactose.

**Glicose:** é o carboidrato mais abundante na natureza. Ocorre na forma condensada em quase todos os oligossacarídeos e polissacarídeos, sendo que em alguns casos ela é a única constituinte, por exemplo, o amido e a celulose. Apresenta forma molecular  $C_6H_{12}O_6$  e recebe o nome de dextrose, por ocorrer somente na forma dextrógira.

**Glicoproteínas:** proteínas que tem um ou mais açúcares ligados covalentemente à estrutura peptídica da mesma, sem repetição de unidades em série.

**Glucana:** é um polissacarídeo no qual a unidade de repetição é a D-glicose.

**Hemicelulose:** literalmente "meia celulose". São polissacarídeos que juntamente com a celulose, a pectina e as glicoproteínas formam a parede celular das células vegetais.

**Impressões digitais:** região do espectro associada às vibrações que tendem ser específicas para uma molécula em particular. Tais vibrações envolvem fortes acoplamentos entre modos de estiramento ou flexão em cadeias lineares ou anéis.

**Ligação  $\alpha - (1 \rightarrow 4)$ -D-glucana:** envolve as hidroxilas que estão situadas à direita na projeção de Fischer e embaixo nas representações de Haworth e conformacional,

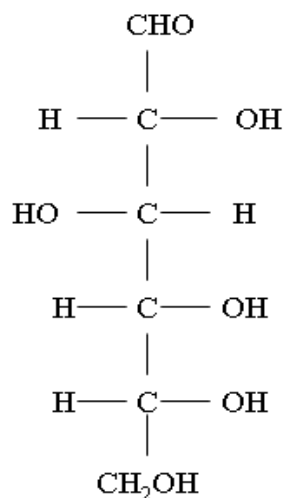


Figura 5.5: Projeção de Fischer da D-glicose.

nos carbonos C-1 e C-4 e cuja unidade de repetição é a D-glicose.

**Ligação  $\alpha - (1 \rightarrow 6)$ -D-glucana:** envolve as hidroxilas que estão situadas à direita

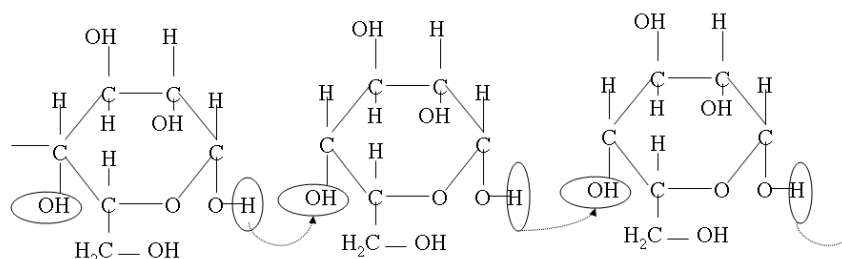


Figura 5.6: Ligação do tipo  $\alpha - (1 \rightarrow 4)$ .

na projeção de Fischer e embaixo nas representações de Haworth e conformacional, nos carbonos C-1 e C-6 e cuja unidade de repetição é a D-glicose.

**Ligação  $\alpha - (1 \rightarrow 2)$ -L-fucose:** envolve as hidroxilas que estão situadas à direita na projeção de Fischer e embaixo nas representações de Haworth e conformacional, nos carbonos C-1 e C-2 e cuja unidade de repetição é a L-fucose.

**Ligação  $\alpha - (1 \rightarrow 6)$ -D-xilose:** envolve as hidroxilas que estão situadas à direita



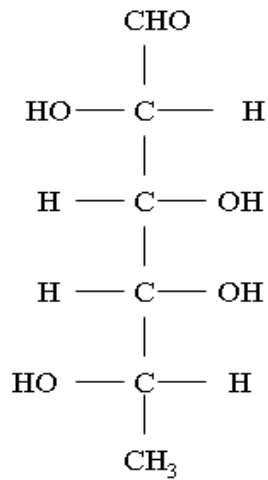


Figura 5.7: Projeção de Fischer da L-fucose.

na projeção de Fischer e embaixo nas representações de Haworth e conformacional, nos carbonos C-1 e C-6 e cuja unidade de repetição é a D-xilose.

**Ligação  $\beta - (1 \rightarrow 2)$ -D-galactose:** envolve as hidroxilas que estão situadas à

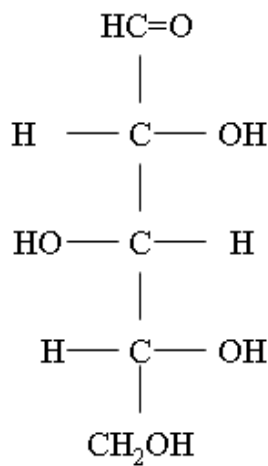


Figura 5.8: Projeção de Fischer da D-xilose.

esquerda na projeção de Fischer e em cima nas representações de Haworth e conformacional, nos carbonos C-1 e C-2 e cuja unidade de repetição é a D-galactose.

**Ligação  $\beta - (1 \rightarrow 4)$ -D-glucana:** envolve as hidroxilas que estão situadas à

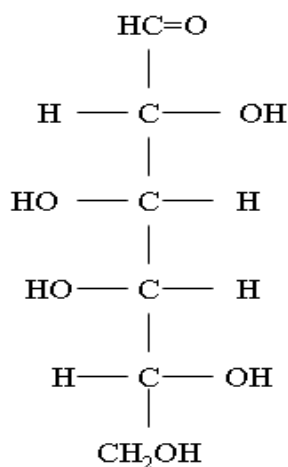


Figura 5.9: Projeção de Fischer da D-galactose.

esquerda na projeção de Fischer e em cima nas representações de Haworth e conformacional, nos carbonos C-1 e C-4 e cuja unidade de repetição é a D-glicose.

**Ligação  $\beta - (1 \rightarrow 6)$ -D-manose:** envolve as hidroxilas que estão situadas à esquerda na projeção de Fischer e em cima nas representações de Haworth e conformacional, nos carbonos C-1 e C-6 e cuja unidade de repetição é a D-manose.

**Ligações glicosídicas:** ocorre entre o carbono anomérico de um monossacarídeo e qualquer outro carbono do monossacarídeo seguinte, através de suas hidroxilas e com a saída de uma molécula de água.

**Ligações peptídicas:** ligações químicas que ocorrem entre duas moléculas quando o grupo carboxila de uma molécula reage com o grupo amina de outra molécula, liberando uma molécula de água. Isto é uma reação de síntese por desidratação que ocorre entre moléculas de aminoácidos.

**Monossacarídeos:** carboidratos simples (açúcares simples) e incluem os açúcares de quatro, cinco e seis átomos de carbono.

**Oligossacarídeos:** carboidratos que têm de três a dez subunidades de açúcar interligadas.

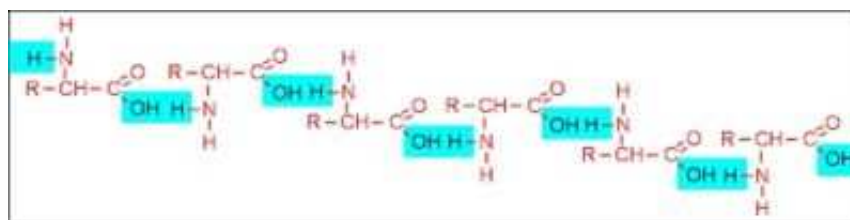


Figura 5.10: Parte de uma cadeia proteica mostrando as ligações peptídicas.

**Pectina:** polissacarídeo ramificado constituído principalmente de polímeros de ácido galacturônico, rannose, arabinose e galactose. É um dos principais componentes da parede celular das plantas. As suas ramificações servem para aprisionar água em redor a fim de tornar o meio mais gel.

**Polissacarídeos:** carboidratos que têm mais de dez subunidades de açúcar interligadas. Podem ser hidrolisados a um grande número de monossacarídeos.

**Pré-gelatinização:** processo que ocorre por aquecimento com agitação contínua em um mínimo de água, suficiente para garantir a gelificação do amido e visa melhorar a solubilidade deste.

**Proteínas:** compostos orgânicos de estrutura complexa e massa molecular elevada (de 5000 a 1000000 ou mais unidades de massa atômica) e são sintetizadas pelos organismos vivos através da condensação de um grande número de alfa-aminoácidos, através de ligações denominadas ligações peptídicas.

**Região anomérica:** região do espectro na qual os anômeros são detectados, ou seja, ocorre a distinção entre as configurações  $\alpha$  ou  $\beta$  da molécula.

**Solução de Fehling:** usada para diferenciar entre os grupos funcionais cetona e aldeído, e também para diferenciar açúcares.

**Xiloglucanas:** polissacarídeos hemicelulósicos encontrados principalmente na parede celular primária de plantas dicotiledôneas, plantas floridas e gimnospermas. Podem atuar também como polissacarídeos de reserva, sendo encontradas em algumas sementes.