

# Análisis fisicoquímico y estructural del polisacárido de la goma de semilla de *Leucaena leucocephala*

*Omaira Gutiérrez de Gotera\**, *Omaira Añez de Servodio*, *Gladys León de Pinto*,  
*Dina Abed El Kader y Edgar Molina*

<sup>a</sup>Centro en Investigaciones en Química de los Productos Naturales. Facultad de Humanidades y Educación, Universidad del Zulia. Apartado 526. Maracaibo, Venezuela

Recibido: 08-01-07 Aceptado: 10-10-07

## Resumen

Se determinaron parámetros fisicoquímicos de la goma presente en semillas de la especie *Leucaena leucocephala* (guaje o falso cuji) de la familia *Mimosaceae*: rendimiento, humedad, cenizas, composición de azúcares, % de proteína y rotación específica. La goma fue extraída de las semillas por el método húmedo con calentamiento y purificada por filtración, diálisis y liofilización. El polisacárido aislado de la goma contiene manosa (60%) y galactosa (40%) como componentes principales; se detectaron trazas de ácidos urónicos. La relación manosa /galactosa es de 1,5. El análisis químico y espectroscópico de R.M.N de C-13 sugieren que el polisacárido extraído de la goma es un galactomanan; los residuos de manosa están unidos por enlaces 1,4 mientras que los de galactosa se enlazan al C-6 de algunas unidades de manosa. Estos hallazgos estructurales son similares a los reportados para otras gommas de semilla.

**Palabras clave:** Estudio estructural; gommas de semilla; *Leucaena leucocephala*; *Mimosaceae*; R.M.N de C-13.

## Physicochemical and structural analysis of the seed gum polysaccharide from *Leucaena leucocephala*

### Abstract

Physicochemical parameters of the gum present in *Leucaena leucocephala* seeds (guaje or falso Cuji) of *Mimosaceae* family were determined: yield, humidity, ash content, sugar composition, % protein and specific rotation. The gum was extracted from the seeds, using humid method with heat, and purify by filtration, dialysis and freeze drying. The isolated polysaccharide from the gum contains manose (60%) and galactose(40%) as major components; trace of uroinic acids were detected. Chemical analysis and <sup>13</sup>C- N.M.R spectroscopy suggest that the polysaccharide isolated from the gum is a galactomannan; manose residues are 1,4-linked, while galactose is linked to C-6 of some manose residues. These structural findings are similar to that reported for other seed gums.

**Key words:** <sup>13</sup>C-N.M.R spectroscopy; *Leucaena leucocephala*; *Mimosaceae*; Seed gums; structural study.

\* Autor para la correspondencia. Telf: 0414-3688213. E-mail: gut\_omaira@latinmail.com

## Introducción

Las gomas o mucílagos vegetales son productos obtenidos de plantas a nivel de tallo y semilla o pueden ser producidas por acción de microorganismos. Las gomas, llamadas también hidrocoloides, son heteropolisacáridos acídicos constituidos principalmente por galactosa, arabinosa, ramnosa y ácidos urónicos (1,2). Recientemente, se ha evidenciado que las gomas además del polisacárido contienen un material proteínico que está probablemente relacionado con la funcionalidad de las gomas (3-5). Las gomas presentes en semillas son galactomananos preferentemente con diferentes proporciones de galactosa y manosa (6, 7).

Los hidrocoloides se usan como espesantes, por su gran capacidad de retener agua, estabilizantes y aglomerantes en diferentes industrias como: alimentaria (elaboración de productos lácteos, panes, productos cárnicos, jugos de frutas, aderezos, salsas), farmacéutica, cosmética (lociones y cremas), industria del papel, minera, textil, explosivos y potabilización del agua (8). Se ha demostrado además el efecto benéfico que tienen estas fibras solubles en enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes y obesidad (9, 10). Las gomas de mayor aplicación industrial provienen de semillas de *Cyamopsis tetragonolobus* (guar), *Ceratonia siliqua* (garrofin), *Caesalpinia spinosa* (tara) (11-13); y de los exudados gomosos de *Acacia senegal* (goma arábiga), *Astragalus gummifer* (goma tragacanto), *Sterculia ureas* (goma karaya) y *Prosopis sp.* (mesquita) (14-16).

El consumo de gomas importadas por Venezuela, en especial, las provenientes de *Acacia senegal* y *Cyamopsis tetragonolobus* plantea la necesidad de buscar otras alternativas de productos naturales nativos. El desarrollo de investigaciones tendientes a conocer las propiedades fisicoquímicas y los rasgos estructurales de las gomas provenientes de especies altamente diseminadas en Venezuela tiene singular importancia.

*Leucaena leucocephala* (guaje o falso cují), conocida como kubabul o subabul en la India e ipil-ipil en Filipinas, es una leguminosa perteneciente a la familia Mimosaceae; originaria de la Península de Yucatán, México, y diseminada en otros países de Centroamérica, Islas del Caribe y Sudamérica. Es un árbol de rápido crecimiento, poco requerimiento nutricional del suelo y altamente diseminado en Venezuela (17). Sus semillas, vainas y hojas son muy utilizadas como alimento de rumiantes (ganado, búfalos y ovejas) y de consumo humano en algunos países, debido a su alto contenido de proteína y elementos minerales (18, 19). Se ha demostrado la presencia de mimosina en las hojas y semillas de *Leucaena* (20). El consumo por animales de este aminoácido en altas concentraciones es tóxico, provoca retardo del crecimiento, pérdida de pelo, bocio e infertilidad (18).

El objetivo de la presente investigación persigue indagar las propiedades fisicoquímicas del polisacárido aislado de la goma de semilla de *Leucaena leucocephala*.

## Materiales y Métodos

### Origen y purificación de la semilla

Las semillas de *Leucaena leucocephala* fueron recolectadas durante la época no lluviosa (Enero- Marzo, 2005) de especímenes ubicados en la ciudad de Maracaibo, Venezuela, Sur-América. La goma fue extraída manualmente después de agregar agua (60°C) con agitación constante por 24 h. La solución gomosa, de color ámbar claro, se filtró a través de gasa y papel filtro Whatman N° 1, luego se dializó contra agua de chorro circulante durante 24 h y posteriormente se liofilizó.

### Métodos analíticos

El contenido de humedad se obtuvo por pérdida de peso de las muestras puras, en una estufa a 105°C, por 18h aproximadamente. El contenido de cenizas se determinó por calentamiento a 550°C en una Mufla por

12 h. La composición de azúcares neutros fue determinada usando cromatografía de papel y el método de fenol-ácido sulfúrico (21). La cromatografía fue realizada en papel Wahtman Nº 1 y en 3MM en dos sistemas de solventes (v/v): (a) ácido acético, acetato de etilo, ácido fórmico, agua (8:18:3:9); (b) benceno, 1-butanol, piridina, agua (1:5:3:3), capa superior). El contenido de ácidos urónicos fue determinado por volumetría de neutralización con hidróxido de sodio, exhaustivamente electrodiálizada, y también por el método de *m*-hidroxibifenilo (22). El contenido de nitrógeno se determinó por el método de Kjeldhal (23). La rotación específica de la solución acuosa de la goma se midió a 25°C usando un polarímetro Perkin-Elmer 343.

#### Métodos espectroscópicos

Los espectros de R.M.N de C-13 se corrieron en un espectrómetro BRUKER AM-500. Los impulsos espectrales (6000-7000) fueron acumulados durante la noche a 37°C y con completo desacoplamiento de protón. El ancho espectral fue 5000 Hz y se calibró por la adición de d-metanol a las muestras. La muestra (100 mg) se disolvió en óxido de deuterio (1 mL).

## Resultados y Discusión

Los parámetros fisicoquímicos de la goma de semilla de *Leucaena leucocephala* y la comparación con los valores reportados para otras gomas de semilla aparecen en la Tablas 1 y 2, respectivamente.

La goma extraída en agua caliente del endospermo de la semilla mostró un rendimiento relativamente bajo (5,13%). La presencia en trazas de ácidos urónicos sugiere que el contenido de cenizas (5,86%) no está relacionado con la neutralización de los ácidos urónicos, como se ha observado para las estructuras de las gomas de plantas (24). Los óxidos metálicos constituyentes de la ceniza provienen de la semilla, como en el caso de la goma de *Ciamopsis tetragonolobus* (goma guar).

Por otra parte, el contenido proteico de la goma es relativamente alto (7,30%) en comparación con el reportado para otras gomas de semilla como *Caesalpinia spinosa*, *C. africana* y *Prosopis africana* (25). Esta característica es un aspecto fundamental que puede ser aprovechado de la goma de semilla de *Leucaena leucocephala*. La rotación específica demuestra que el polímero es dextrógiro (+ 30°).

Tabla 1  
Parámetros fisicoquímicos de la goma de semilla de *Leucaena leucocephala*.

Rendimiento (%)	5,13
Humedad (%)	16,6
Ceniza (%)	5,86
Rotación específica	+ 30
Nitrógeno (%)	1,16
Proteína (%)	7,30
Composición de azúcares %, después de la hidrólisis	
Manosa (%)	60
Galactosa (%)	40
Acidos Urónicos (%)	Trazas

Tabla 2  
Comparación de la composición de azúcares de gomas provenientes de semilla

Familia	Especie	Relación Man/Gal
Mimosaceae	<i>Gleditsia triacanthos</i>	1,5-2,6 : 1
	<i>Mimosa scabrella</i>	1,1:1
	<i>Prosopis flexuosa</i>	2:1
	<i>Prosopis chilensis</i>	1,2-,6:1
	<i>Ciamopsis tetragonolobus</i>	2:1
Caesalpinaceae	<i>Parkinsonia aculeata</i>	2,66:1
	<i>Cassia angustifolia</i>	2,9:1
	<i>Caesalpinia spinosa</i>	3:1
	<i>Cassia grandis</i>	3,15:1
	<i>Caesalpinia pulcherrina</i>	2,83:1
	<i>Cassia javanica</i>	3,23:1
	<i>Cassia nodosa</i>	3,5:1

El polisacárido presente en la goma, contiene galactosa y manosa como componentes principales; se detectaron trazas de ácidos urónicos. Manosa es el residuo mayoritario, como se ha reportado para la mayoría de las gomas extraídas de semillas de plantas, Tabla 1. (5,26). La relación Manosa/galactosa de este polímero (1,5), es similar al de otras gomas de la familia *Mimosaceae* (*Gleditsia triacanthos*, *Ciamopsis tetragonolobus*, *Mimosa scabrella*, *Prosopis flexuosa*, *Prosopis chilensis*), Tabla 2; sin embargo la relación es mucho menor que la correspondiente a las especies *Caesalpinia spinosa*, *C. pulcherrina* y *Cassia angustifolia* (6, 27, 28).

El espectro de resonancia magnética nuclear de carbono 13 (R.M.N de C-13) del polisacárido, aislado de la semilla de *Leucaena leucocephala*, contiene las señales características de los azúcares involucrados en su estructura, Tabla 3, Figura 1. La región comprendida entre 0 a 60 p.p.m, no muestra señales, lo que sugiere que los grupos metilo provenientes de grupos acetilo y ramnosa no

están presentes en la estructura. Se observa en la región de 60 a 67 p.p.m los desplazamientos químicos asignables a los residuos de manosa y galactosa. La señal intensa (61,2 p.p.m) se atribuye al C-6 de galactosa y la de menor intensidad (60,4 p.p.m) puede ser asignada al C-6 no enlazado de la manosa. Se observa además, otra señal (66,4 p.p.m) que corresponde posiblemente al C-6 enlazado de residuos de manosa (29). La información espectral evidencia la presencia de dos tipos de residuos de manosa; libre y 6-O- enlazada, en la estructura del polisacárido de la goma de *Leucaena leucocephala*.

La señal asignable al C-4 de la galactosa (68,3 p.p.m) y el resto de los desplazamientos químicos de los otros carbonos hidroxilados del anillo tanto de manosa como de galactosa aparecen en el intervalo definido (69 a 75 p.p.m) (30, 31). La multiplicidad observada para el C-4 de la manosa sugiere la existencia de tres ambientes moleculares (76,4 p.p.m; 76,7 p.p.m y 76,9 p.p.m) en la estructura.

Tabla 3  
 Datos espectrales<sup>a</sup> de <sup>13</sup>C- R.M.N. de la goma de *L. leucocephala*

Tipo de enlace	Polímero	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
$\beta$ -Gal (1 $\rightarrow$ ) <sup>b</sup>		103,0	71,1	72,6	68,6	75,4	61,1
	g.o	98,7	69,2	71,2	68,3	74,9	61,2
$\beta$ -Manosa <sup>c</sup> $\rightarrow$ 4) -Man1 $\rightarrow$ <sup>c</sup>		95,2	72,8	74,7	68,5	77,7	62,7
		101,7	72,2	73,8	78,8	78,8	62,1
	g.o	99,9	70,4	73,2	76,4	-	60,4
		100,2			76,7		76,9

<sup>a</sup> Valores relativos a la señal de 1,4-dioxano (66.67p.p.m) . <sup>b</sup> Ref. 29 <sup>c</sup> Ref. 30 g.o.= goma original.

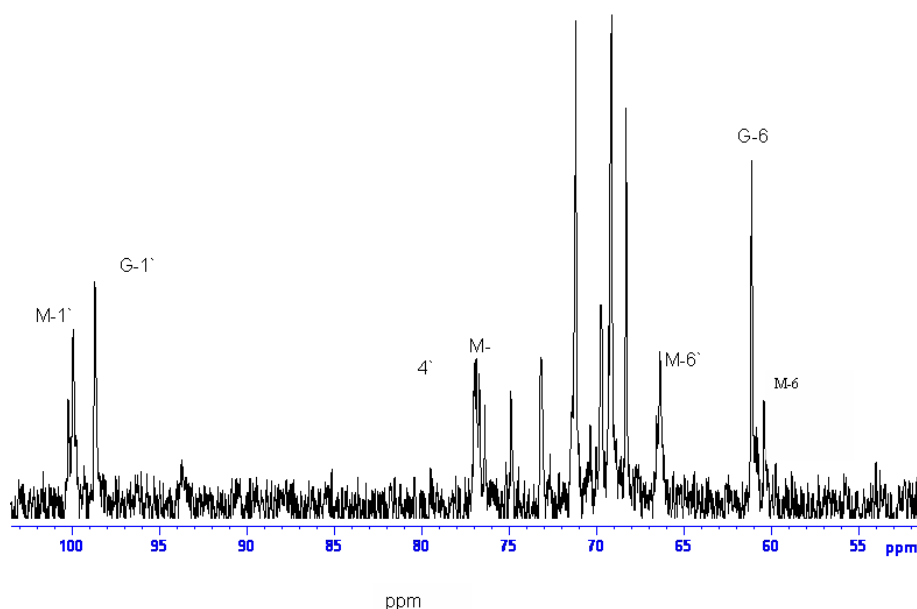


Figura 1. Espectro de Resonancia magnética nuclear de carbono-13 (<sup>13</sup>C- R.M.N) de la goma de semilla de *L. leucocephala*. M-1': carbono anomérico de manosa. G-1': carbono anomérico de galactosa. M-4': C-4 enlazado de manosa. G-6: C-6 libre de galactosa. M-6': C-6 enlazado de manosa.

La región anomérica contiene tres tipos de señales, las cuales deben corresponder a los carbonos anoméricos de galactosa y manosa. La señal más apantallada (98,7 p.p.m) es asignable al C-1 de galactosa, mientras que la menos apantallada (99,9 y 100,2 p.p.m) corresponden a manosa en dos posibles ambientes químicos. Esta diversidad de

ambientes se atribuye a la presencia de residuos de manosa libre y 6-O enlazada como se discutió anteriormente.

Los resultados de esta investigación obtenidos por vía química y por resonancia magnética nuclear sugieren que el polisacárido de la goma extraído de la semilla de *Leucaena leucocephala* es un galactomanán.

Los residuos de manosa están unidos por enlaces 1,4 mientras que los de galactosa se enlazan al C-6 de algunas unidades de manosa. Estos hallazgos concuerdan con los reportados previamente para otras gomas de semillas (7, 26).

### Referencias Bibliográficas

1. LEÓN DE PINTO G., GUTIÉRREZ O., MARTÍNEZ M., OCANDO E., RIVAS C. **Carbohydrate Polymers** 35: 205-213, 1998.
2. GUTIÉRREZ O., MARTÍNEZ M., SANABRIA L., LEÓN DE PINTO G., IGARTUBURU M. **Food Hydrocolloids** 19: 37-43, 2005.
3. ANDERSON D.M.W., WANG W.P., LEWIS G.P. **Biochemical Systematics and Ecology** 18: 39-42, 1990.
4. PEREZ G.R.M., SANCHEZ A.J., PEREZ G.S., VARGAS S.R. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 68: 39-41, 1995.
5. IBANEZ M.C., FERRERO C. **Food Research International** 36: 455-460, 2003.
6. CHAUBEY M., KAPOOR V.P. **Carbohydrate Research** 332(4): 439-444, 2001.
7. MANJOOSHA S., KAPOOR V.P. **Chemistry and Biodiversity** 2(3): 295-317, 2005.
8. GONZÁLEZ G., CHAVEZ M., MEJÍAS D., MAS Y RUBÍ M., FERNÁNDEZ N., LEÓN DE PINTO G., **Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia** 29:1, 14-22, 2006.
9. CHERBUT C., MICHEL C., RAISON V., KRAUTCHENKO T., SEVERINE M. **Microbial Ecology in Health and diseases** 15(1): 43-50, 2003.
10. BASTIN S. **Agro Food industry Hi-Tech** 15(1): 48-49, 2004.
11. WISTLER R.L. **Industrial gums** 36(2): 195-202, 1973.
12. HABER B. **Cereal Foods World** 47(8): 365-369, 2002.
13. GARCÍA E., CARBALLO G., CASTELLANO A. **Ciencia y Tecnología Farmaceutica** 15(1): 3-21, 2005.
14. WANG W., ANDERSON D. **Chemistry and Industry of Forest Products** 14(3): 67-76, 1994.
15. SONI P. **Indian Forester** 121(8): 754-759, 1995.
16. ESTEVEZ A., SAENZ C., HURTADO M., ESCOBAR B., ESPINOZA S., SUAREZ C. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 84(12): 1487-1492, 2004.
17. ARGENTI P., ESPINOZA F. **Fonaiap- Ceniap. Instituto de Investigaciones Zootécnicas** Maracay (Venezuela), 5-20, 1993.
18. SETHI P., KULKARNI P. **Food and Nutrition Bulletin** 16(3): 224-237, 1995.
19. NGWA A., NSAHLAI I., BONSI M. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 82(1): 98-106, 2002.
20. SETHI P., KULKARNI P. **International Journal of Food Sciences and Nutrition** 45(1): 35-39, 1994.
21. DUBOIS M., GILLES K., HAMILTON J., REBERS P., SMITH F. **Analytical Chemistry** 28: 350-356, 1956.
22. BLUMENKRANTZ N., ASBOE-HANSEN G. **Analytical Biochemistry** 54: 481-484, 1973.
23. Association of official and Analytical Chemist. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 17 th. Ed. Washington, DC. chapter 45, p. 58-59, 1995.
24. CLAMENS C., RINCÓN F., VERA A., LEÓN DE PINTO G. **Food Hydrocolloids** 14: 253-257, 2000.
25. ACHI O., OKOLO N. **International Journal of Food Science and Technology** 39(4): 431-436, 2004.



- 
26. KAILASH T., VANDANA S., GUPTA P. **Carbohydrate Polymers** 59(3): 393-396, 2005.
  27. KAPOOR V., TARAVEL F., JOSELEAU J. MILAS M., CHANZY H., RINAUDO M. **Carbohydrate Research** 306: 231-241, 1998.
  28. ANDRADE C., AZERO E., LUCIANO L. GONCALVES M. **International Journal of Biological Macromolecules**. 26:(2/3): 181-185, 1999.
  29. CYRILLE R., FRANCOIS R., TRISTAN T. **International Biology Macromolecules** 12: 353-358, 1990.
  30. BOCK K., PEDERSEN CH., PEDERSEN H. **Advances in Carbohydrate Chemistry and biochemistry** 42: 193-225, 1984.
  31. GORIN P. **Advance Carbohydrate Chemistry and Biochemistry** 38: 13-104, 1980.