



BOLETÍN DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

ARTRÓPODOS Y HELMINTOS PARÁSITOS DE MAMÍFEROS SILVESTRES (MAMMALIA) DE VENEZUELA: CARNIVOROS (CARNIVORA). Israel Cañizales y Ricardo Guerrero.....	162
CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA GOMA DE SEMILLA DE <i>PROSOPIS JULIFLORA</i> OBTENIDA POR PRECIPITACIÓN CON ETANOL. Fernando Rincón, Carmen Clamens, Olga Beltrán, Rocío Guerrero y Lilian Sanabria.	185
AMPLIFICACIÓN DE GENES BLA_{TEM} Y BLA_{SHV} ASOCIADOS EN LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN AISLADOS CLÍNICOS DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> BLEE. Judith Chiquinquirá Castro Vargas, Carla Andreina Lossada González, Lenin Andrés González Paz, Lorena Beatriz Atencio de Guínez.....	194
INVENTARIO DE LAS AVES DEL RÍO LA GRITA (MICROCUCENCA SAN JOSÉ), EN LOS ANDES DE TÁCHIRA, VENEZUELA. Steffani C. Olivares, Rosanna Calchi, Daría Pirela, Luis Estela y Anderson Saras.....	210
INSTRUCCIONES A LOS AUTORES.....	220

Vol.51, Nº3, Diciembre 2017

UNA REVISTA INTERNACIONAL DE BIOLOGÍA
PUBLICADA POR LA
UNIVERSIDAD DEL ZULIA, MARACAIBO, VENEZUELA



Caracterización fisicoquímica de la goma de semilla de *Prosopis juliflora* obtenida por precipitación con etanol

Fernando Rincón*, Carmen Clamens, Olga Beltrán, Rocio Guerrero y Lilian Sanabria.

Centro de Investigaciones en Química de los Productos Naturales “Dra. Gladys León de Pinto”. Facultad de Humanidades y Educación. Universidad del Zulia; Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela. Apartado Postal 526. *frinconciqpn@gmail.com

Resumen

El objetivo de este trabajo es evaluar la caracterización fisicoquímica de la goma de semilla de *Prosopis juliflora* obtenida por precipitación con etanol absoluto. Se determinó el contenido de humedad, ceniza, grasa, proteína, carbohidratos totales, la rotación óptica, la composición de azúcares, la viscosidad intrínseca, y el peso molecular. El contenido de proteína (4,24 %) y los carbohidratos totales (99,89 %) son mayores a los valores publicados para la goma de semilla de *P. juliflora* obtenida por sucesivas extracciones acuosa. Los resultados obtenidos por cromatografía líquida (HPLC), revelaron la presencia de manosa y galactosa como componentes mayoritarios. La relación M/G de la goma estudiada (1.85), es similar a la reportada para la goma guar (1,80). La viscosidad intrínseca de la goma investigada (12,98 dL/g), es mayor al valor reportado previamente para esta especie (11,78 dL/g) y a los valores exhibido para otros galactomananos (GMs) no tradicionales. Las características fisicoquímicas exhibidas por el GMs obtenido del endospermo de la semilla de la goma de *P. juliflora* por precipitación con etanol, se encuentra en el rango reportado para GMs. Las variaciones observadas están relacionadas con el método de separación y el tratamiento químico aplicado para el procedimiento de extracción de los galactomananos y/o al origen botánico de las semillas.

Palabras clave: *Prosopis juliflora*, galactomanano, caracterización fisicoquímica, métodos de extracción, precipitación con etanol.

Physicochemical characterization of the *Prosopis juliflora* seed gum obtained by precipitation with ethanol.

Abstract

The aim of this work is to evaluate the physicochemical characterization of the *Prosopis juliflora* seed gum obtained by precipitation with absolute ethanol. The moisture, ash, fat, protein, total carbohydrates, the optical rotation, sugar composition intrinsic viscosity and molecular weight were determined. The protein content (4,24 %) and the total carbohydrates (99,89 %) are higher than the values published from *P. juliflora* seed gum obtained by successive extractions with water. The results obtained by liquid chromatography (HPLC), revealed the presence of mannose and galactose as the major components. The (M/G) ratio was (1.85), which is quite similar to that of guar gum (1.80). The intrinsic viscosity of the gum seed investigated (12,98 dL/g) is higher than that previous reported (11,78 dL/g) and to the values exhibited for other not traditional GMs. The physicochemical characteristics exhibited of the galactomannans obtained from the endosperm *P. juliflora* seed, by precipitation with ethanol, was in the range of other reported GMs. The observed variations could be related to methods of separation and the chemical treatment applied for the extraction of galactomannans and/or to the botanical origin of the seeds.

Key words: *Prosopis juliflora*, galactomanano, physicochemical characterization, extraction procedure, precipitation with ethanol.

Introducción

Las gomas de semilla “galactomananos (GMs)”, son polisacáridos neutros constituidos por unidades de manosa y galactosa, que presentan una estructura molecular lineal formada por cadenas de D-manosa con enlaces en posición β -(1-4), en la cual se unen varias ramas de D-galactosa mediante enlaces α -(1-6) (Dakia et al. 2008). Los galactomananos de mayor importancia comercial son los obtenidos del endospermo de las semillas de los árboles de *Cyamopsis tetragonolobus* (goma guar) y *Ceratonia siliqua* (locust bean) (Seisun 2012), seguidos de la goma de fenugreek producida por *Trigonella foenum Graecum* L y de la goma tara producida por *Caesalpinia spinosa*, las cuales se utilizan en un grado mucho menor (Wielinga 2009).

Los galactomananos presentan diferentes aplicaciones tales como espesantes, estabilizadores de emulsión, formación de película, y como inhibidores de la cristalización en la fabricación de caramelos y del fenómeno de sinéresis en productos lácteos; adicionalmente, tienen aplicación en la industrias farmacéutica, cosmética, textil, minera, y petrolera (perforación de yacimientos) (Braun y Rosen 2010; Wielinga, 2009). Otra propiedad interesante de estos polímeros naturales es su capacidad para formar mezclas sinérgicas con otros polisacáridos tales como la goma xantán y kappa-carragenatos, debido a que forman soluciones altamente viscosas y geles más fuertes (Pinheiro et al. 2011).

La amplia aplicación y versatilidad de los galactomananos ha incentivado la búsqueda de nuevas especies productoras de goma a nivel de la semilla. Diversos estudios se han publicado acerca de la caracterización físico-química y las propiedades reológicas de fuentes no tradicionales de galactomananos, tales como: *Leucaena leucocephala* (Lombardi y Ramalho 2003), *Lallemania royleana* (Farahnaky et al. 2010), *Dimorphandra gardneriana* (Cunha et al. 2009), *Mucuna flagellipes* (Nwokocha y Williams 2009), *Gleditsia triacanthos*, *Sophora japonica*, *Adenanthera pavonina* y *Caesalpinia pulcherrima* (Sciarini et al. 2009; Cerqueira et al. 2009; Bourbon et al. 2010) y de *Prosopis* spp (López-Franco et al. 2013).

Prosopis juliflora es un árbol ampliamente diseminado en diferentes municipios del estado Zulia, Venezuela. El polisacárido obtenido mediante sucesivas extracciones acuosas del endospermo de la semilla de *P. juliflora*, es un galactomanano, con características fisicoquímicas similares a los comerciales (Rincón et al. 2014). Se ha evidenciado que el rendimiento, las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los galactomananos dependen en grado significativo del método de separación y tratamiento químico aplicado para la extracción y obtención de estos materiales (Lopes da Silva y Goncalves 1990; Azero y Andrade 2002; Ibañez y Ferrero 2003; Dakia et al. 2008).

El objetivo de este trabajo es evaluar la caracterización fisicoquímica de la goma de semilla de *Prosopis juliflora* obtenida por precipitación con etanol.

Materiales y métodos

Origen, extracción y procedimientos de purificación de la goma de semilla de *Prosopis juliflora*

La goma de *Prosopis juliflora* se obtuvo de las semillas de árboles ubicados en el Municipio Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela, Sur América. La identificación botánica fue realizada por la Doctora Carmen Clamens, especialista en Botánica, de la Universidad del Zulia. Las vainas se colectaron en el período no lluvioso (Enero-Marzo, 2013), se trasladaron al laboratorio, se secaron en una estufa Fisher a 80 °C por 1 h, seguidamente se separó la cubierta para extraer las semillas. Posteriormente, se quebró las semillas con un molino de café para luego separar en forma manual el endospermo del cotiledón.

El endospermo (60 g) se colocó en agua bidestilada con agitación constante durante 24 h, a 25 °C luego se filtró a través de un colador. La goma disuelta en el filtrado se precipitó con etanol en una proporción 1:1 La solución resultante se liofilizó (-40°C, 133x 10⁻³ mBar), LABCONCO, Freezone 6). La muestra liofilizada se disolvió en agua destilada, se filtró en una malla de poliéster (5 µm), y se centrifugó a 10000 rpm, durante 20 min y el sobrenadante se liofilizó y almacenó en frascos de vidrio cerrados herméticamente para su posterior uso.

Caracterización fisicoquímica de la goma de semilla de *Prosopis juliflora*.

Análisis composicional

El contenido de humedad se determinó según norma AOAC (1975). El contenido de ceniza se determinó incinerando la muestra en un horno mufla a 500 °C durante 8 h, hasta la determinación de peso constante. Se empleó el método de Kjeldahl para cuantificar el contenido de nitrógeno total; el factor de conversión de 5,87 se usó para calcular el contenido de proteína. El contenido de grasa se determinó con base al extracto etéreo obtenido a partir de 2 g de gomas de *Prosopis*, se usó un equipo de extracción Soxhlet System HT 1043 por 16 h, empleando como disolvente de extracción una mezcla de éter etílico: éter de petróleo en proporción 1:1. Los carbohidratos totales se determinaron por la diferencia entre 100 y la suma de todos los componentes. La rotación óptica de las soluciones acuosas de la goma de *P. juliflora* al 0.5 % (m/v) se midieron en un Polarímetro Perkin-Elmer (Modelo 343) a 589 nm.

Composición de azúcares por caracterización cromatográfica (HPLC).

La muestra (100 mg) se hidrolizó con ácido sulfúrico (1N, 10 mL), por 8 h a 100 °C. El hidrolizado se neutralizó con carbonato de bario, se filtró con papel Whatman N° 1, y se redujo en volumen. La composición de azúcar se determinó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se empleó un cromatógrafo Water 410, provisto con un detector de índice de refracción, y una columna Nova-Pack amino (4,6 mm x 250 mm). Se usó una mezcla de acetonitrilo: agua (85:15), como disolvente a un flujo determinado (1,0 mL / min). Se usaron patrones estándares de diferentes carbohidratos (arabinosa, glucosa, ramnosa, xilosa, manosa y galactosa).

Determinación de la viscosidad intrínseca y del peso molecular viscosimétrico

Se prepararon soluciones de goma de *P. juliflora* al 1 % en NaCl 0,1 M. Las mediciones se realizaron en un viscosímetro capilar Ubbelohde (Cannon Instruments, modelo I-71), a 25 ± 0,1 °C. El peso molecular viscosimétrico (M_v) se calculó a partir de los valores obtenidos de viscosidad intrínseca en la ecuación de Mark-Houwink: $\eta = (K \cdot M_v^\alpha)$, Donde K (5,13 x 10⁴) y α (0,72), constantes reportada para la goma guar (Beer et al. 1999).

Resultados y discusión.

Caracterización fisicoquímica de la goma de semilla de *P. juliflora* obtenida por precipitación con etanol

Análisis composicional

La data del análisis composicional de la goma de semilla de *Prosopis juliflora* obtenida por precipitación con etanol se muestra en la Tabla 1. Los contenidos de humedad, ceniza y grasa se encuentran en el rango de valores observados para diferentes especies de *Prosopis* (Chaires-Martínez et al. 2008; Azero y Andrade 2002). La goma de *P. juliflora* exhibe una rotación óptica de (+68,79), valor muy similar al descrito para la goma guar (+68,16) y mayor a los observado para otros galactomananos (López-Franco et al. 2013; Murwan et al. 2012; Tako et al. 1984). Los carbohidratos totales (99,89 %) son mayores a los valores publicados para la goma de esta especie obtenida a través de sucesivas extracciones acuosas (98,46%) (Rincón et al. 2014), y a la goma de semilla de *Prosopis* spp. obtenida por precipitación con etanol (95,40%) (López-Franco et al. 2013).

El contenido de proteína de la goma estudiada (4,28 %), es mayor al valor reportado previamente para esta especie en Venezuela (0,60 %) (Rincón et al. 2014), y a los valores observados para las especies de *P. juliflora* (Azero y Andrade, 2002; 2006), *P. pallida* (1.02 %) (Chaires-Martínez et al. 2008), y *Diomorphandra gardneriana* Tul (1.75 %) (Cunha et al. 2009); pero comparable a los valores publicados para las gomas de semilla de *Prosopis* spp (4,50 %) (López-Franco et al. 2013), *Cyamopsis tetragonolobus* (4,46 %) y *Ceratonia siliqua* (4,57 %) (Wu et al. 2009). El alto contenido de proteína exhibido por la goma en estudio, probablemente, está vinculado a la no detección de residuos de los cotiledones presentes en el proceso de extracción de la goma (López-Franco et al. 2013).

Tabla 1. Análisis composicional de la goma de semilla de *Prosopis juliflora* obtenida por precipitación con etanol.

Parámetros	
Humedad (%)	10.19 ± 1.01
Ceniza (%)	0.70 ± 0.12
Grasa (%)	0.006 ± 0.002
Carbohidratos totales (%) ^a	99,89 ± 4.23
Rotación óptica ([α] _D)	+68,79
Proteína (%)	4,28 ± 0.99

Los resultados se presentan como medias más o menos la desviación estándar.

^aEl contenido total de carbohidratos se calculó por diferencia 100% sobre base seca.

Composición de azúcares.

Los resultados obtenidos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), Tabla 2, revelaron la presencia de manosa y galactosa como componentes mayoritarios. Estos resultados confirman que el polisacárido aislado del endospermo de la semilla de *P. juliflora* es un galactomanano (99,89 % m/v de galactosa más manosa). No se evidenció la presencia de glucosa, como se reportó previamente para la goma obtenida de esta especie (Rincón et al. 2014), lo que sugiere que el método aplicado (precipitación con etanol) es más eficiente para la obtención del galactomanano puro. La relación manosa/galactosa (M/G) de la goma estudiada (1.85), es similar a la reportada para la goma guar (1.80) (Pinheiro et al. 2011), y se encuentra en el rango de los valores publicados para las gomas de semilla de *P. juliflora* (1,74 - 1,64), *P. pallida* (1.02), *Prosopis* spp (1,54) y *P. fleuxosa* (2,1) (Rincón et al. 2014; López-Franco et al. 2013; Chaires-Martínez et al. 2008; Azero y Andrade, 2006).

Tabla 2. Composición de azúcares y la relación M/G de la goma de semilla de *P. juliflora* obtenida por precipitación con etanol.

Composición de Azúcares (%)	
Manosa	64,89 ± 2.62
Galactosa	35,00 ± 1.56
Glucosa	ND
Galactomanano (M + G)	99,89 ± 3.85
Relación M/G	1.85 ± 0.78

Los resultados se presentan como medias más o menos la desviación estándar
La determinación se realizó por duplicado en un HPLC. ND: No detectado

Viscosidad intrínseca y peso molecular viscosimétrico.

La viscosidad intrínseca de la goma de semilla de *P. juliflora* investigada (12,98 dL/g), Tabla 3, es significativamente mayor que el valor publicado previamente para esta especie (11,78 dL/g) (Rincón et al. 2014), y al valor exhibido para las gomas de semilla de *Caesalpinia pulcherrima* (11.34 dL/g) (Cerqueira et al. 2009), *Gleditsia triacanthos* (10.42 dL/g) y *Adenantha pavonina* (10.42 dL/g) (Cerqueira et al., 2009), pero comparable a los valores reportados *Prosopis* spp (12.36 dL/g) (López-Franco et al. 2013). Las gomas comerciales derivadas de las especies *Cyamopsis tetragolobus*, *Ceratonia siliqua* y *Caesalpinia spinosa*, exhiben valores significativamente mayores de viscosidad intrínseca 15.08 dL/g, 14.20 dL/g y 14.55 dL/g, respectiva-

mente (Wu et al. 2009). El peso molecular viscosimétrico, Tabla 3, es similar a los publicados para gomas de semillas de diferentes especies de *Prosopis* (Azero y Andrade, 2006; López-Franco et al. 2013).

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos de la goma de semilla de *Prosopis juliflora* obtenida por precipitación con etanol.

Parámetros	
Viscosidad intrínseca (dL/g)	12,98 ± 2.02
Peso molecular viscosimétrico ($M_v \times 10^6$)	1.41 ± 0.76

Los resultados se presentan como medias más o menos la desviación estándar

Conclusión

Las características fisicoquímicas exhibidas por el galactomanano obtenido del endospermo de la semilla de la goma de *P. juliflora* por precipitación con etanol, se encuentra en el rango reportado para GMs. Las variaciones observadas están relacionadas con el método de separación y el tratamiento químico aplicado para el procedimiento de extracción del galactomanano, y/o al origen botánico (anatomía y morfología de las semillas).

Literatura citada.

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (A.O.A.C). 1975. Official Methods of Analysis. 15th Ed. Washington, DC. 1298 pp.
- AZERO, E. Y C. ANDRADE. 2002. Testing procedures for galactomannan purification. *Polymer Testing*. 21: 551-556.
- AZERO, E. Y C. ANDRADE. 2006. Characterization of *Prosopis juliflora* seed gum and the effect of its addition to k-carrageenan systems. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 17: 844-850.
- BEER, M., P.J. WOOD Y J. WEISZ. 1999. A simple and rapid method for evaluation of Mark-Houwink-Sakurada constants of linear random coil polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*. 39: 377-380.
- BOURBON, A. I., A. C. PINHEIRO, C. RIBEIRO, C. MIRANDA, J. M. MAIA, J. A. TEIXEIRA Y A. A. VICENTE. 2010. Characterization of galactomannans extracted from seeds of *Gleditsia triacanthos* and *Sophora japonica* through shear and extensional rheology: Comparison with guar gum and locust bean gum. *Food Hydrocolloids*. 24: 184-192.
- BRAUN D.B. Y M.R. ROSEN. 2010. *Rheology Modifiers Handbook. Practical Use and Applications*. New York: William Andrew Publishing.

- CERQUEIRA, M. A., A. C. PINHEIRO, B. W. S SOUZA, A. M. P. LIMA, C. RIBEIRO, C. MIRANDA, J. A. TEIXEIRA, R. A. MOREIRA, M. A. COIMBRA, M. P. GONÇALVES Y A. A. VICENTE. 2009. Extraction, purification and characterization of galactomannans from non-traditional sources. *Carbohydrate Polymers*. 75: 408-414.
- CHAIRES-MARTÍNEZ, I., J. A. SALAZAR-MONTOYA Y E. G. RAMOS-RAMÍREZ. 2008. Physicochemical and functional characterization of the galactomannan obtained from mesquite seeds (*Prosopis pallida*). *European Food Research and Technology*, 227: 1669-1676.
- CUNHA, P. L. R., I. G. PINTO-VIEIRA, A. M. C. ARRIAGA, R. C. M. DE PAULA Y J. P. A. FEITOSA. 2009. Isolation and characterization of galactomannan from *Diormorphandra gardneriana* Tul. Seeds as a potential guar gum substitute. *Food Hydrocolloids*, 23: 880-885.
- DAKIA, P. A., C. BLECKER, C. ROBERT, B. WATHELET Y M. PAQUOT. 2008. Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid or water dehulling pre-treatment. *Food Hydrocolloid*. 22: 807-818.
- FARAHNAKY, A., H. ASKARI, Y M. BAKHTIYARI, 2010. Rheology of Balangu Shirazi (*Lallemantia royleana*) seed gum: a high viscosity thickening agent. In P.A. Williams & G.O. Phillips (Eds.), *Gums and Stabilisers for the Food Industry 15* (pp. 190-200). Cambridge: Royal Society of Chemistry Publishing
- IBAÑEZ, M.C. Y C. FERRERO. 2003. Extraction and characterization of the hydrocolloid from *Prosopis flexuosa* DC seeds. *Food Research International*. 36: 455-460.
- LOMBARDI, S. C. Y A. L. RAMALHO-MERCÊ. 2003 Properties of complexes of galactomannan of *Leucaena leucocephala* and Al²⁺, Cu²⁺ and Pb²⁺. *Bioresource Technology*. 89: 63-73.
- LOPES DA SILVA, J. A. Y M. P. GONÇALVES. 1990. Studies on a purification method for locust bean gum by precipitation with isopropanol. *Food Hydrocolloids*. 4: 227-287
- LÓPEZ-FRANCO, Y.L., C.I. CERVANTES-MONTAÑO, K.G. MARTÍNEZ-ROBINSON, LIZARDI-MENDOZA Y L.E. ROBLES-OZUNA. 2013. Physicochemical characterization and functional properties of galactomannans from mesquite seeds (*Prosopis* spp.). *Food Hydrocolloids*. 30: 656-660.
- MURWAN, K. S., A. H. ABDALLA Y S. NOURI. 2012. Quality Assessment of guar gum (Endosperm) of guar (*Cyamopsis tetragonoloba*). *Journal of Biological Sciences*. 1(1): 67-70.
- NWOKOCHA, L.M. Y P. A. WILLIAMS. 2009. Isolation and rheological characterization of *Mucuna flagellipes* seed gum. *Food Hydrocolloids*. 23 (5): 1394-1397.
- PINHEIRO, A. C., A. I. BOURBON, C. ROCHA, C. J. RIBEIRO, M. MAIA, M. P. GONÇALVES, J. A. TEIXEIRA Y A. A. VICENTE. 2011. Rheological characterization of k-carrageenan/galactomannan and xanthan/galactomannan gels: Comparison of galactomannans from non-traditional sources with conventional galactomannans. *Carbohydrate Polymers*. 83: 392-399.

- RINCÓN, F., J. MUÑOZ, P. RAMÍREZ, H. GALÁN, Y M. C. ALFARO. 2014. Physicochemical and rheological characterization of *Prosopis juliflora* seed gum aqueous dispersions. *Food Hydrocolloids*. 35: 348-357.
- SCIARINI, L.S., F. MALDONADO, P. D. RIBOTTA, G. T. PÉREZ Y A. E. LEÓN, 2009. Chemical composition and functional properties of *Gleditsia triacanthos* gum. *Food Hydrocolloids*, 23: 306-313.
- SEISUN, D. 2012. Over view of the food hydrocolloids market. In P.A. Williams & G.O. Phillips (Eds.), *Gums and Stabilisers for the Food Industry 16* (pp. 3-8). Cambridge: Royal Society of Chemistry Publishing.
- TAKO, M., A. ASATO Y S. NAKAMURA. 1984. Synergistic interaction between deacetylated xanthan and locust bean gum in aqueous media. *Agricultural and Biological Chemistry*. 48: 2995-3000.
- WIELINGA, W.C. 2009. Galactomannans. In G.O. Phillips, & P.A. Williams (Eds.), *Handbook of hydrocolloids* (2nd ed.). (pp. 228-251). Cambridge: Woodhead Publishing.
- WU, Y., W. CUI, N. A. M. ESKIN Y H. D. GOFF. 2009. An investigation of four commercial galactomannans on their emulsion and rheological properties. *Food Research International*. 42: 1141-1146.



UNIVERSIDAD
DEL ZULIA

**BOLETÍN DEL CENTRO DE
INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS**

Vol.51 N° 3_____

*Esta revista fue editada en formato digital y publicada
en diciembre de 2017, por el **Fondo Editorial Serbiluz,**
Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela*