

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

**Estudo da hidrólise de carboidratos em meio neutro, utilizando uma  
mistura de ésteres derivados do óleo de mamona.**

**Juliana Ribeiro Gabriel**

Tese apresentada ao Instituto de Química de  
São Carlos, da Universidade de São Paulo,  
para a obtenção do título de Doutor em  
Ciências (Química Analítica).

**Orientador: Prof. Dr. Gilberto Orivaldo Chierice**

São Carlos

2009

## Dedicatória

### **A Deus:**

“Mas se Deus é as flores e as árvores  
E os montes e sol e o luar,  
Então acredito nele,  
Então acredito nele a toda a hora,  
E a minha vida é toda uma oração e uma missa,  
E uma comunhão com os olhos e pelos ouvidos.”

Alberto Caeiro, heterônimo de Fernando Pessoa

### **Aos meus pais, José Lázaro e Ana Maria:**

que me ensinaram a ver nas pequenas coisas de cada dia o verdadeiro significado de felicidade, amizade e amor.

### **Aos meus irmãos, Paulo Henrique e Mariana:**

nossa eterna união, em todos os momentos, não importando a distância.

### **A minha tia, Maria Catharina:**

por todo apoio que recebi e por sempre desejar sucesso em meus estudos.

### **Ao Gustavo:**

pois sempre estive ao meu lado, com um sorriso no rosto, e me ensinou a nunca desistir.

## Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Gilberto Orivaldo Chierice, por confiar a mim um trabalho tão importante, por ter me recebido de portas abertas, por contribuir com meu crescimento profissional e pessoal; pois foi com a liberdade que eu tive dentro do laboratório é que pude entender o valor da responsabilidade. Obrigada!

Ao Prof. Dr. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro, agradeço pela confiança ao deixar em minhas mãos o uso de um equipamento que foi de grande importância para a realização desse trabalho;

Ao Prof. Dr. Artur de Jesus Motheo e ao Prof. Dr. Fernando Mauro Lanças, por cederem espaço em seus laboratórios para a realização das minhas primeiras análises;

Ao Prof. Dr. George Jackson de Moraes Rocha (USP-Lorena), por fornecer as amostras e por auxiliar no método de identificação da celulose;

A todos do laboratório 14, aos que já foram embora e aos que vão ficar: Puff, Márcio, Jô, Sandra, Carol, Graziela, Royal (Gê), Rafael, Toni, Avaré, Tia Lu, Lucinéia, Roberta, Ana Paula, Gilbert, Isabel, Érica, Pardal, Júnia, Ivana, Milena, Priscila, Tio Lu, Seu Glimaldo, Gisele, Mariá (credo!), Marly, Toninho e Salvador.

Aos meus queridos amigos da vida toda: Rita, Amanda e Felipe, que fizeram dos meus dias de trabalho, dias especiais.

Aos meus ICs, Erik e Gabriel, pela amizade e pela confiança; minha maior alegria foi ter vocês trabalhando ao meu lado;

A minha amiga Gabi, que me ajudou a começar e entender esse trabalho;

Ao Douglas, Geoff e Sandra, do Laboratório de Eletroquímica Interfacial, por toda a ajuda e amizade;

A Elaine e a Odete do Laboratório de Cromatografia (Croma) pela ajuda prestada;

Aos amigos que fiz no Instituto de Química de São Carlos: Milena, Alessandra, Carlinhos, Erlon, Josy (do tempo do colegial), Túlio, Morcego e Tortuguita;

Aos amigos da graduação, Angerson, Daniel, Paula, Samantha, Laís, Thais, Renata, Ju Cothy e Carol, pois mesmo longe ainda mantemos contato.

As secretárias da pós-graduação, Andréia e Sílvia pela grande ajuda em todos os momentos;

A todos do Instituto de Química de São Carlos, que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho;

A CAPES pela bolsa concedida.

“Sede como os pássaros que, ao pousarem um instante sobre os ramos muito leves, sentem-nos ceder, mas cantam! Eles sabem que possuem asas.”

Victor Hugo

## Sumário

**Lista de Figuras**

**Lista de Tabelas**

**Resumo**

**Abstract**

<b>Introdução</b>	<b>12</b>
<b>1. Carboidratos</b>	<b>13</b>
1.1. A glicose	15
1.2. A frutose	16
1.3. Dissacarídeos	17
1.3.1. A sacarose	17
1.4. Polissacarídeos	19
1.4.1. A celulose	20
1.5. A importância dos carboidratos	22
<b>2. Métodos para a identificação de açúcares</b>	<b>24</b>
2.1. Espectroscopia de ultravioleta/visível	24
2.2. Cromatografia líquida de alta eficiência	26
<b>3. Força iônica</b>	<b>29</b>
<b>4. Óleo de mamona</b>	<b>32</b>
<b>Objetivos</b>	<b>36</b>
<b>Procedimento experimental</b>	<b>38</b>
<b>1. Preparo das soluções</b>	<b>39</b>
1.1. Diluições da mistura de ésteres derivados do óleo de mamona	39
1.2. Soluções de sacarose para as análises cromatográficas	39
1.3. Soluções de celulose para as análises espectrofotométricas	40
1.4. Soluções de sacarose e cloreto de sódio (NaCl) para as análises espectrofotométricas	40

1.5. Reagente de DNS	41
2. Análise cromatográfica	42
2.1. Quantificação dos produtos de hidrólise da sacarose	42
2.2. Verificação da etapa intermediária da reação de hidrólise	43
3. Análise espectrofotométrica	44
3.1. Hidrólise da celulose	44
3.2. Hidrólise das soluções de sacarose com NaCl	45
<b>Resultados e Discussão</b>	<b>47</b>
1. Análise cromatográfica	48
1.1. Quantificação dos produtos de hidrólise da sacarose	48
1.2. Verificação da etapa intermediária da reação	53
2. Análise espectrofotométrica	56
2.1. Hidrólise da celulose	56
2.1.1. Estudo cinético da decomposição da celulose	62
2.2. Hidrólise das soluções de sacarose com NaCl	64
2.2.1. Cálculo da constante de equilíbrio das reações de hidrólise da sacarose e NaCl	68
<b>Conclusões e sugestões para trabalhos futuros</b>	<b>72</b>
<b>Referências bibliográficas</b>	<b>76</b>

## Lista de Figuras

<b>Figura 1:</b> Projeções de Fischer para as D-aldoses até 6 átomos de carbono.....	14
<b>Figura 2:</b> Formação do hemiacetal.....	15
<b>Figura 3:</b> Estrutura química da D-glicose.....	15
<b>Figura 4:</b> Estrutura química da D-frutose.....	16
<b>Figura 5:</b> Estrutura química da sacarose.....	18
<b>Figura 6:</b> Mecanismo de hidrólise da sacarose em meio ácido.....	19
<b>Figura 7:</b> Estrutura química da celulose.....	20
<b>Figura 8:</b> Mecanismo de hidrólise da celulose em meio ácido.....	21
<b>Figura 9:</b> Importância da glicose em processos biológicos.....	23
<b>Figura 10:</b> Estrutura química dos antígenos A, B e H.....	24
<b>Figura 11:</b> Estrutura química do triglicerídeo do ácido ricinoléico.....	32
<b>Figura 12:</b> Transesterificação do óleo de mamona com glicóis.....	33
<b>Figura 13:</b> Gráfico da curva analítica da sacarose.....	48
<b>Figura 14:</b> Cromatogramas com os valores correspondentes à concentração de sacarose: a) 0,1 mol L <sup>-1</sup> e b) 0,085 mol L <sup>-1</sup> .....	50
<b>Figura 15:</b> Cromatograma correspondente ao oitavo dia de reação da sacarose com a mistura de ésteres.....	51
<b>Figura 16:</b> Gráfico correspondente ao décimo terceiro dia de reação da sacarose com a mistura de ésteres.....	52
<b>Figura 17:</b> Tempos de retenção correspondentes à: éster 0,1%, glicose, frutose e sacarose.....	53
<b>Figura 18:</b> Comparação entre a solução de éster 0,1% e a solução de sacarose preparada com éster 0,1%.....	54
<b>Figura 19:</b> Comparação entre os tempos de retenção das soluções de éster 0,1%, sacarose e éster (t <sub>0</sub> ) e sacarose e éster (t <sub>9</sub> ).....	55

<b>Figura 20:</b> Comparação entre o padrão de glicose e a solução de sacarose com éster 0,1% no nono dia de reação.....	56
<b>Figura 21:</b> Gráfico da curva analítica da glicose.....	57
<b>Figura 22:</b> Espectro eletrônico correspondente à reação de hidrólise da celulose com a mistura de ésteres 0,1% (primeiro dia de reação).....	58
<b>Figura 23:</b> Espectros correspondentes ao primeiro ( $t_0$ ) e ao oitavo dia ( $t_8$ ) de reação da celulose com a mistura de ésteres 0,1%.....	59
<b>Figura 24:</b> Comparação dos valores de absorvância do primeiro ( $t_0$ ), oitavo ( $t_8$ ) e nono dia ( $t_9$ ) da reação da celulose com a mistura de ésteres 0,1%.....	60
<b>Figura 25:</b> Trigésimo dia de reação da celulose ( $t_{30}$ ) com a mistura de ésteres em relação ao primeiro ( $t_0$ ), oitavo ( $t_8$ ) e nono ( $t_9$ ) dias.....	60
<b>Figura 26:</b> Mudança de coloração de diferentes soluções com o reagente de DNS: 1) água destilada; 2) celulose e éster 0,1% ( $t_0$ ); 3) celulose e éster 0,1% ( $t_{30}$ ) e 4) solução padrão de glicose.....	61
<b>Figura 27:</b> Gráfico dos valores de $1/[celulose]$ versus tempo, para a verificação de uma reação de segunda ordem.....	63
<b>Figura 28:</b> Gráfico correspondente aos valores de absorvância em 485 nm, indicando a formação de glicose e frutose a partir de diferentes soluções de sacarose e NaCl....	65
<b>Figura 29:</b> Gráfico correspondente as concentrações de glicose e frutose ( $\text{mol L}^{-1}$ ) pelos respectivos valores de força iônica ( $\mu$ ).....	66
<b>Figura 30:</b> Gráfico correspondente as concentrações de açúcares redutores ( $\text{mol L}^{-1}$ ) e constantes de equilíbrio $K'$ em função dos valores de força iônica ( $\mu$ ).....	68
<b>Figura 31:</b> Valores das constantes de equilíbrio, $K'$ e $K$ , com relação aos valores de força iônica ( $\mu$ ).....	70



## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1</b> - Valores de força iônica ( $\text{mol L}^{-1}$ ) para cada solução de sacarose.....	41
<b>Tabela 2</b> - Concentração ( $\text{mol L}^{-1}$ ) dos açúcares com relação ao tempo de hidrólise (dias).....	53
<b>Tabela 3</b> – Concentração de celulose em solução e o tempo de decomposição.....	62
<b>Tabela 4</b> - Concentração de glicose e frutose em $\text{g L}^{-1}$ e em $\text{mol L}^{-1}$ .....	66
<b>Tabela 5</b> – Valores de constantes de equilíbrio experimentais ( $K'$ ) e os respectivos valores de constantes de equilíbrio termodinâmicas ( $K$ ).....	69
<b>Tabela 6</b> – Valores das constantes de equilíbrio ( $K$ ) e energias livre ( $\Delta G$ ).....	71

## Resumo

A sacarose é o dissacarídeo mais abundante na natureza, encontrado na forma pura. É formada pela ligação da hidroxila do C<sub>1</sub> da  $\alpha$ -D-glicose com a hidroxila do C<sub>2</sub> da  $\beta$ -D-frutose. Sua hidrólise em meio ácido produz 1 mol de glicose e 1 mol de frutose. O mecanismo envolve a presença de um intermediário, que corresponde à etapa lenta da reação de hidrólise. A sacarose foi hidrolisada em meio neutro, utilizando-se uma mistura de ésteres derivados do óleo de mamona, produzida pelo Laboratório de Química Analítica e Tecnologia de Polímeros (GQATP). O mecanismo da hidrólise em meio neutro, se assemelhou com o mecanismo da hidrólise ácida, apresentando também um complexo aquoso, que determinou a velocidade da reação.

Uma solução de sacarose 0,1 mol L<sup>-1</sup> foi hidrolisada pela mistura de ésteres dando como produtos finais 0,019 mol L<sup>-1</sup> de glicose e 0,017 mol L<sup>-1</sup> de frutose. Verificou-se que a produção dos monossacarídeos foi possível depois do oitavo dia de reação.

Soluções de sacarose com diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) também foram hidrolisadas, uma vez que este estudo foi importante para se observar a influência da força iônica na velocidade da reação de decomposição. Uma solução de sacarose 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>, que apresenta força iônica igual a 5,0 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>, ao reagir com a mistura de ésteres, apresentou uma quantidade igual a 9,99 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de açúcares redutores formados, ou seja, 99% de sacarose foi hidrolisada. Mesmo com uma maior velocidade de reação, ainda houve a formação de um complexo aquoso, pois a reação não foi instantânea. Com valores de forças iônicas maiores, houve uma menor produção de glicose e frutose.

Já a celulose é um polissacarídeo composto de moléculas de D-glicose, unidas por ligações glicosídicas  $\beta$ -1,4, sendo o principal material estrutural das plantas. O mecanismo da hidrólise da celulose em meio ácido assemelha-se à hidrólise ácida da sacarose, em que, antes de se chegar aos produtos finais da reação, ocorre a formação de um complexo intermediário. A celulose também foi hidrolisada em meio neutro utilizando-se a mistura de ésteres, e foi possível observar a presença de um complexo aquoso, antes de se chegar aos produtos finais de sua decomposição, ou seja, celobiose e/ou glicose. Partindo-se de uma solução 0,2 g L<sup>-1</sup> de celulose, chegou-se a formação de 0,14 g L<sup>-1</sup> de açúcares redutores. Isso corresponde a 70% de celulose hidrolisada. Com relação ao estudo cinético de decomposição da celulose, comprova-se que se trata de uma reação de segunda ordem, e que o tempo de meia-vida da celulose na mistura de ésteres é de 15,29 dias. Como não se sabe a proporção da mistura de ésteres que reage com a celulose, tanto o tempo de meia-vida quanto a lei de velocidade, foram calculadas somente com relação à celulose.

## Abstract

Sucrose is the most abundant disaccharide in nature, found in pure form. It is formed by binding the C<sub>1</sub> hydroxyl of the  $\alpha$ -D-glucose with the hydroxyl of the C<sub>2</sub> of  $\beta$ -D-fructose. Hydrolysis in acid produces 1 mol of glucose and 1 mol of fructose. The mechanism involves the presence of an intermediary, which is the slow step of the hydrolysis reaction. Sucrose was hydrolyzed in neutral, using a mixture of esters derived from castor oil, produced by the Laboratory of Analytical Chemistry and Technology of Polymers (GQATP). The mechanism of hydrolysis in neutral medium, resembled the mechanism of acid hydrolysis, and also provides an aqueous complex, which determined the rate of reaction.

A solution of sucrose 0,1 mol L<sup>-1</sup> was hydrolyzed by the mixture of esters giving as final products 0,019 mol L<sup>-1</sup> glucose and 0,017 mol L<sup>-1</sup> of fructose. It was found that the production of monosaccharides was possible after the eighth day of reaction. Sucrose solutions with different concentrations of sodium chloride (NaCl) were also hydrolysed, since this study was important to observe the influence of ionic strength on reaction rate of decomposition. A sucrose solution 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>, which represents the ionic strength equal to 5,0 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> and reacted with a mixture of esters, showed a count of 9,99 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> of reducing sugars formed, ie, 99% sucrose was hydrolyzed. Even with a higher speed of reaction, there was still the formation of an aqueous complex, because the reaction was not instantaneous. With values higher ionic strengths, there was a lower production of glucose and fructose.

Since cellulose is a polysaccharide composed of molecules of D-glucose, linked by glycosidic  $\beta$ -1,4, and the main structural material of plants. The mechanism of hydrolysis of cellulose in an acid similar to the acid hydrolysis of sucrose, in which, before reaching the final products of the reaction causes the formation of an intermediate complex. Cellulose was also hydrolyzed in neutral solution using a mixture of esters, and we observed the presence of an aqueous complex, before we get to the final products of decomposition, ie, cellobiose and/or glucose. Starting from a solution of 0,2 g L<sup>-1</sup> of cellulose, it was the formation of 0,14 g L<sup>-1</sup> of sugars. This corresponds to 70% of hydrolyzed cellulose. Regarding the kinetics of decomposition of cellulose, we find that it is a second-order reaction, and that the half-life of the mixture of cellulose esters is 15,29 days. As we do not know the proportion of mixed esters which reacts with the cellulose, both the half-life as the rate law, were calculated only with respect to cellulose.

# Introdução

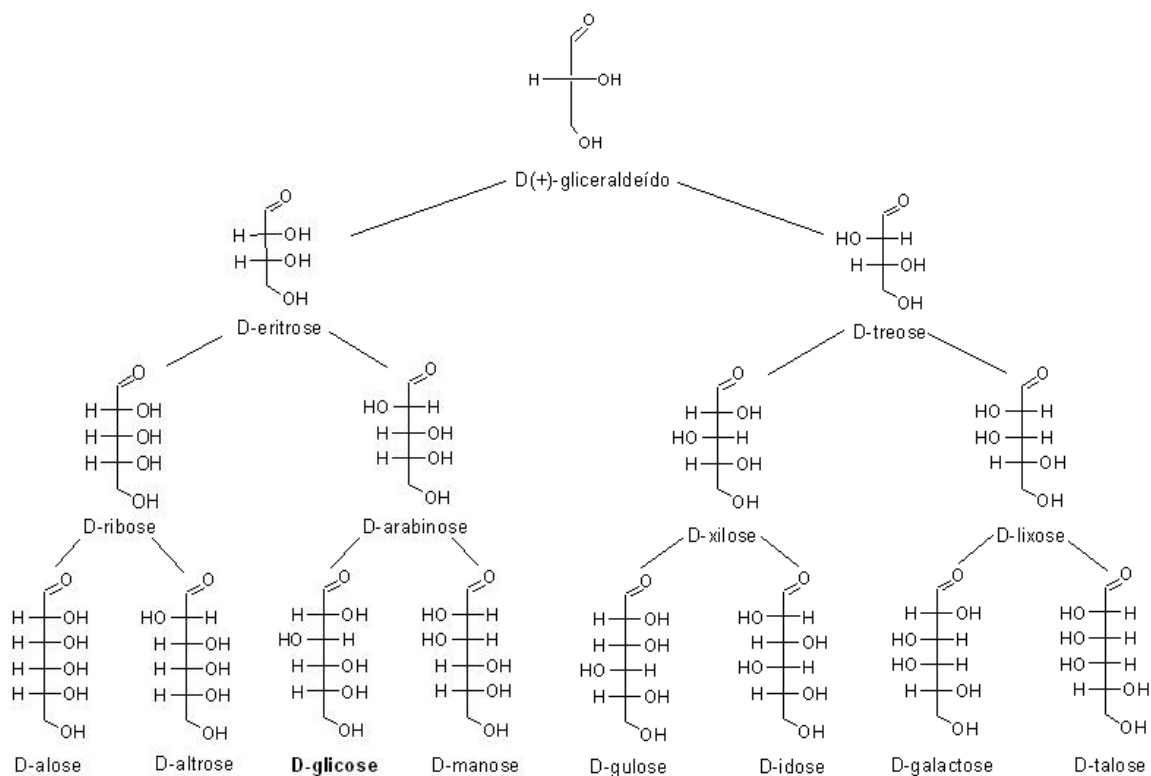
## 1. Carboidratos

Carboidratos são compostos que ocorrem em todos os organismos vivos, sendo essenciais para a vida. O açúcar da cana, o amido e a celulose são todos constituídos de carboidratos. O termo deriva do fato de a glicose, o primeiro carboidrato a ser purificado, possuir forma molecular  $C_6H_{12}O_6$ . Originalmente se pensava que ela era formada por carbono hidratado [ $C_6(H_2O)_6$ ], e o termo perdurou até os dias de hoje <sup>1</sup>. O termo *glicídeo* também pode ser usado para designar os carboidratos <sup>2</sup>.

Nos vegetais e em alguns animais, os carboidratos são constituintes importantes dos tecidos de suporte <sup>3</sup>. Toda a energia consumida nos sistemas biológicos procede da energia luminosa que é transformada mediante os processos de fotossíntese <sup>3,4</sup>. Os carboidratos, quando ingeridos, são metabolizados proporcionando grande quantidade de energia, ou são estocados na forma de glicogênio <sup>1</sup>.

Os carboidratos também podem ser denominados *sacarídeos*, palavra de origem latina (*saccharum*, açúcar). Os mais simples são chamados monossacarídeos, que significa 'um açúcar'. Estruturalmente os monossacarídeos são aldeídos ou cetonas poli-hidroxiladas, de modo que se subdividem em aldoses e cetoses <sup>1,5</sup>. A terminação *ose* indica que o composto é um carboidrato, e os prefixos *ald* e *cet* designam a natureza da carbonila (aldeído e cetona, respectivamente). O número de átomos de carbono dos monossacarídeos é indicado pelos prefixos tri, tetra, penta, hexa, etc. Por exemplo, a glicose é uma aldose e a frutose é uma cetose <sup>5</sup>.

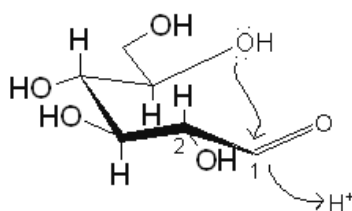
A Figura 1 mostra as fórmulas de projeções de Fischer das D-aldoses até 6 átomos de carbono.



**Figura 1:** Projeções de Fischer para as D-aldoses até seis átomos de carbono.

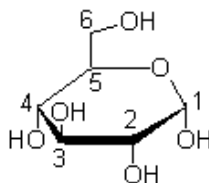
Apesar das estruturas acíclicas, mostradas anteriormente estarem corretas, elas não descrevem os monossacarídeos de uma maneira precisa.

Aldeídos e cetonas reagem com alcoóis formando hemiacetais e hemicetais, respectivamente. O grupo hidroxila em C<sub>5</sub> da glicose (Figura 2), e de outras pentoses e hexoses, pode se aproximar facilmente do carbono da carbonila a uma distância que permite a formação de uma ligação, podendo ocorrer a ciclização, formando um hemiacetal cíclico.



**Figura 2:** Formação do hemiacetal.

O  $C_1$ , que era aquiral na estrutura acíclica, se torna quiral na estrutura cíclica. O novo centro quiral é chamado de **centro anomérico** e se localiza sempre no  $C_1$  das aldoses (Figura 3). As configurações do carbono anomérico ( $\alpha$  ou  $\beta$ ) podem ser definidas de forma mais facilmente evidenciada nas fórmulas de projeção de Haworth. Para os açúcares da série D, o  $-OH$  do carbono anomérico está para baixo no isômero  $\alpha$  e está para cima no isômero  $\beta$ <sup>2</sup>.



**Figura 3:** Estrutura química da D-glicose.

### 1.1. A glicose

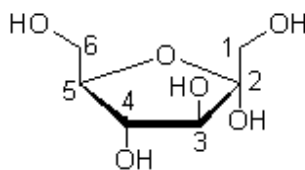
A glicose (Figura 3) é extremamente solúvel em água. A adição de ácido acético a esta solução é responsável pela precipitação lenta dos cristais<sup>6, 7</sup>. A glicose é a

principal fonte de energia para a maioria dos organismos e o monômero primário básico dos polissacarídeos mais abundantes, tais como amido e celulose <sup>5</sup>.

Também conhecida como dextrose ou açúcar do sangue, possui peso molecular igual a 180,16 e ponto de fusão 146 °C. Um grama de glicose dissolve-se aproximadamente em 1 mL de água <sup>7</sup>.

## 1.2. A frutose

A frutose (Figura 4) é, biologicamente, a cetose mais importante. É encontrada junto com a glicose e a sacarose em muitas frutas. O mel é uma mistura de glicose e frutose, além de ser um intermediário importante na fotossíntese <sup>2, 7</sup>. É conhecida também como levulose ou açúcar das frutas. Ocorre em grande quantidade nas frutas, no mel e no sêmen bovino e humano. É extremamente solúvel em água <sup>7</sup>.



**Figura 4:** Estrutura química da D-frutose.



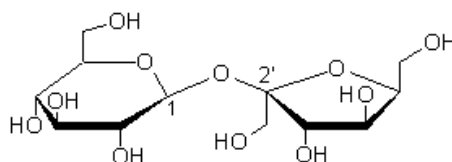
### 1.3. Dissacarídeos

A combinação de dois monossacarídeos resulta nos dissacarídeos, a combinação de três forma um trissacarídeo, e assim por diante <sup>1</sup>. Esses açúcares são denominados oligossacarídeos e geralmente apresentam a fórmula  $C_nH_{2n}O_n$ , onde n varia principalmente de 3 a 8 <sup>2</sup>. Quando a união de dois monossacarídeos é formada entre o centro anomérico de uma unidade e a hidroxila de outra, o dissacarídeo é redutor, e dando positivo frente ao teste de Fehling ou ao teste de Tollens <sup>2, 8</sup>. Quando a união glicosídica é formada por ambos os centros anoméricos, o dissacarídeo é não redutor <sup>8</sup>.

#### 1.3.1. A sacarose

O dissacarídeo mais conhecido e o mais importante da classe de açúcares não redutores é a sacarose, que é produzida comercialmente a partir da cana de açúcar ou da beterraba <sup>8</sup>. É o composto orgânico mais abundante na forma pura. Apresenta-se na forma de cristais, blocos, ou em pó. Possui sabor adocicado; um grama se dissolve e, 0,5 mL de água. Seu peso molecular é de 342,30 e é resistente à decomposição bacteriana a altas temperaturas <sup>7</sup>.

A sacarose (Figura 5) é formada pela ligação da hidroxila do C<sub>1</sub> da  $\alpha$ -D-glicose com a hidroxila do C<sub>2</sub> da  $\beta$ -D-frutose. No processo de formação, ocorre a eliminação de uma molécula de água.



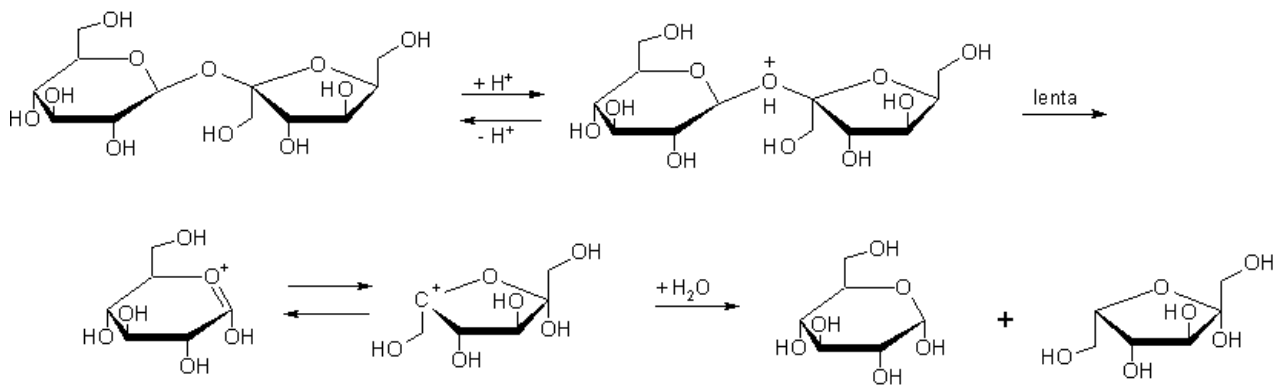
**Figura 5:** Estrutura química da sacarose.

A sacarose é dextrógira, apresentando rotação específica igual a + 66,5°. Quando ela é hidrolisada, obtém-se uma mistura com quantidade iguais de glicose (+ 52,5°) e frutose (- 92°), cuja rotação específica é aproximadamente -20°. Em virtude da direção de rotação do plano da luz polarizada, essa mistura é conhecida como *açúcar invertido*. O açúcar invertido é o principal constituinte do mel, que hidrolisam a sacarose presente no néctar por meio de enzimas existentes em seu organismo, Como o açúcar invertido é mais doce que a sacarose, e tem menor tendência a se cristalizar, é largamente utilizado na indústria de alimentos na produção de sorvetes, balas, etc <sup>1,7</sup>.

A sacarose, em solução aquosa, pode ser hidrolisada por ácidos. O mecanismo envolve a presença de um intermediário, formado pela protonação do oxigênio da ligação glicosídica, evoluindo lentamente para a formação de um carbânion, que por sua vez, sofre uma substituição por uma molécula de água\* (Figura 6) <sup>6</sup>.

---

\* EDWARD, J. T.; Chem Ind. London. P. 1102, 1955.



**Figura 6:** Mecanismo de hidrólise da sacarose em meio ácido.

#### 1.4. Polissacarídeos

Os polissacarídeos são carboidratos de alto peso molecular, variando entre dezenas de milhares a milhões. São geralmente insolúveis na maioria dos solventes, e mesmo quando puros, são constituídos de moléculas de variados comprimentos de cadeias e pesos moleculares. Alguns polissacarídeos, como o amido e a celulose dão apenas um único monossacarídeo quando hidrolisados. Outros como a goma arábica, são formados por muitos tipos de monossacarídeos. A quitina é um polissacarídeo responsável pela formação do exoesqueleto dos crustáceos e dos insetos. A dextrana por sua vez, é usada como dispersante de plasma sanguíneo, e a algina, está presente nas paredes celulares de algas <sup>2</sup>.

Os polissacarídeos são encontrados em plantas, animais e microorganismos, nos quais cumprem diversas funções. A celulose e a quitina, por exemplo, são polissacarídeos estruturais, já o amido e o glicogênio são polissacarídeos de reserva de

energia. Os polissacarídeos de paredes celulares bacterianas conferem às mesmas, especificidade imunológica <sup>8</sup>.

### 1.4.1. A celulose

A celulose é um polímero de alto peso molecular, composta de moléculas de D-glicose, unidas por ligações glicosídicas  $\beta$ -1,4 (Figura 7). A celulose nativa é composta por mais de 10.000 moléculas de D-glicose anidra. Isso significa que o peso molecular da celulose nativa é próximo de 1,5 milhões <sup>9</sup>.

É o principal material estrutural das plantas, e o ingrediente principal do algodão, madeira, linho, palha e folhas de milho. A celulose é insolúvel em água podendo, entretanto, ser hidrolisada <sup>2</sup>.

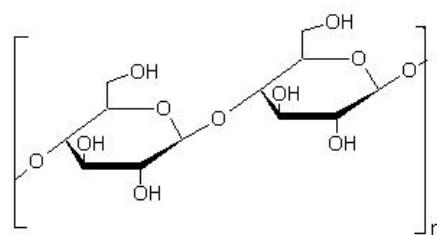
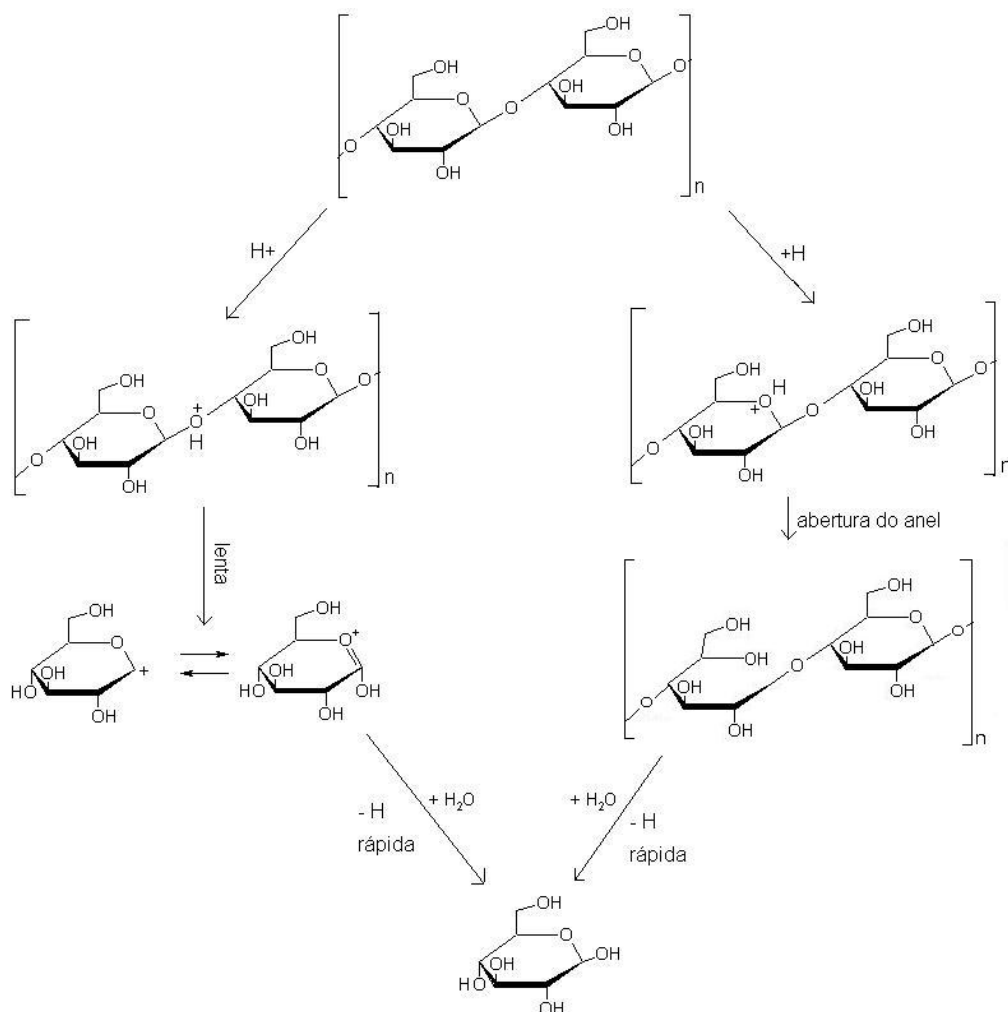


Figura 7: Estrutura química da celulose.

Quando a celulose é hidrolisada em meio ácido, as ligações glicosídicas  $\beta$ -1,4 são rompidas, dando origem às moléculas de glicose. Com a utilização de ácido concentrado, ocorre a formação, primeiramente, de um complexo ácido, onde a

estrutura cristalina da celulose é destruída, e finalmente chega-se a unidade fundamental do polissacarídeo, ou seja, D-glicose.

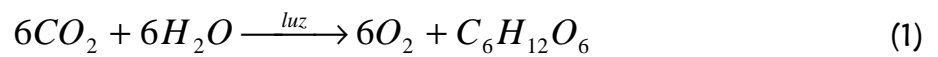
O mecanismo da hidrólise ácida é mostrado na Figura 8. Primeiramente, ocorre a rápida protonação do oxigênio da ligação glicosídica, formando um complexo intermediário entre o próton e o oxigênio glicosídico. Posteriormente, ocorre lentamente a quebra da ligação glicosídica, seguida da adição de água. Pode ocorrer também, a protonação do oxigênio que se encontra na molécula cíclica, ou de ambos os oxigênios, tanto o cíclico quanto o da ligação glicosídica, simultaneamente <sup>9</sup>.



**Figura 8:** Mecanismo de hidrólise da celulose em meio ácido.

### 1.5. A importância dos carboidratos

A fotossíntese, realizada pelas plantas, é um processo no qual o dióxido de carbono reage com a água sob ação de luz, resultando na formação da glicose. A glicose, uma vez formada, polimeriza-se, formando amido e celulose <sup>1, 4</sup>.



Por outro lado, os carboidratos são reconvertidos em CO<sub>2</sub>, durante o processo de respiração, combustão e decomposição <sup>2</sup>. Estes processos fornecem a principal fonte de energia para o trabalho da célula (Figura 9).

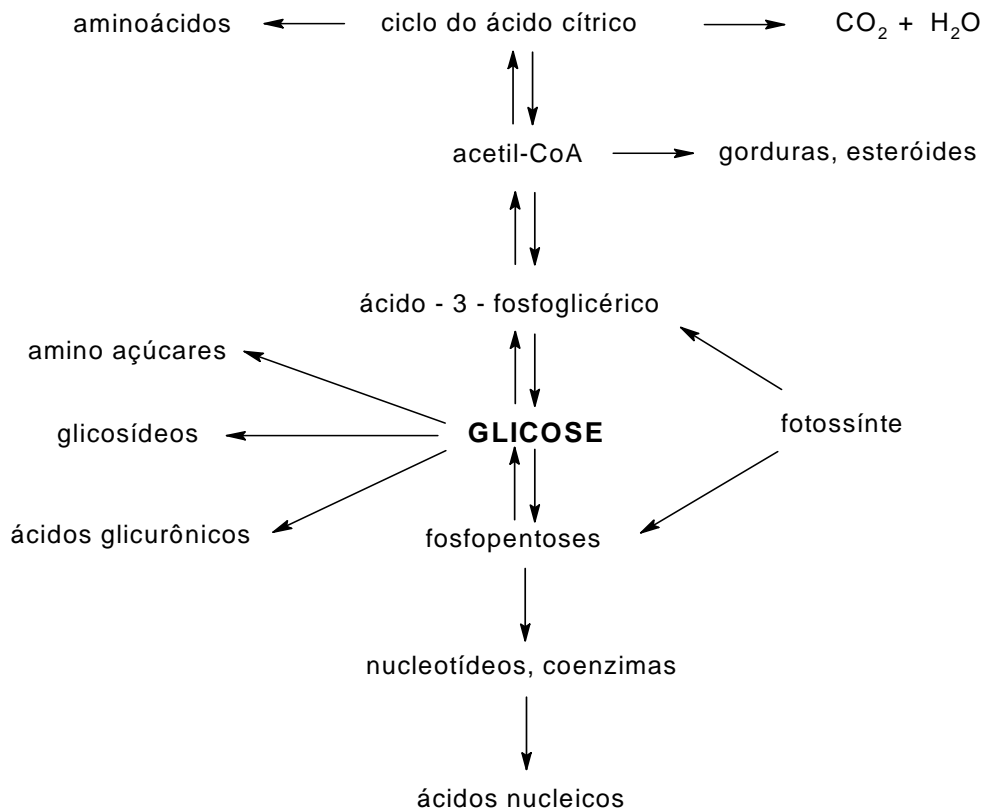
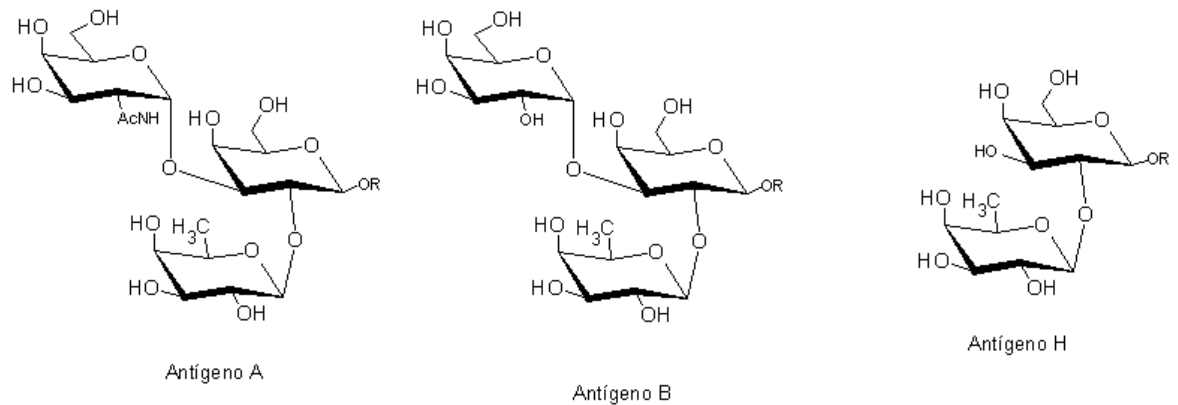


Figura 9: Importância da glicose em processos biológicos.

Os aminoaçúcares são aldoses ou cetoses onde um grupo  $-\text{OH}$  está substituído por um grupo amino <sup>2</sup>. Um dos mais comuns é a N-acetil-glicosamina, componente da parede celular de bactérias Gram – negativas, combinada com ácidos graxos <sup>8</sup>.

Os antígenos de grupos sanguíneos correspondem a dois tipos de trissacarídeos, denominados A e B, e a um dissacarídeo denominado H (Figura 10). Nota-se que os açúcares A e B são formados, respectivamente, pela adição de uma molécula de N-acetilgalactosamina e uma molécula de galactose no dissacarídeo H <sup>6</sup>.



**Figura 10:** Estrutura química dos antígenos A, B e H.

## 2. Métodos para a identificação de açúcares

### 2.1. Espectroscopia molecular na região do ultravioleta/visível

A espectroscopia molecular baseada na radiação ultravioleta/visível é comumente utilizada na identificação e determinação de muitos compostos orgânicos e inorgânicos. É usada principalmente na análise quantitativa e é o principal método aplicado em laboratórios químicos <sup>10</sup>.

Quando uma radiação contínua passa através de um material transparente, uma parte dela é absorvida. A radiação residual, por sua vez, produz um espectro chamado espectro de absorção. Como resultado, átomos ou moléculas passam de um estado de baixa energia (estado fundamental) para um estado de energia mais alta (estado excitado). A radiação que é absorvida tem exatamente o mesmo valor da diferença de energia entre o estado excitado e o estado fundamental.



Como a molécula absorve energia, um elétron é promovido de um orbital ocupado para um orbital não ocupado de energia potencial maior. Para a maioria das moléculas, os orbitais moleculares de energia mais baixa são os orbitais  $\sigma$ , correspondentes às ligações  $\sigma$ . Os orbitais antiligantes ( $\sigma^*$  e  $\pi^*$ ) são os orbitais de maior energia.

Nas moléculas, a absorção ultravioleta, geralmente ocorre em um extenso intervalo de comprimentos de onda, pois as moléculas possuem muitos estados excitados de vibração e rotação à temperatura ambiente. Observa-se, portanto, num espectro de UV, uma larga banda de absorção em um comprimento de onda correspondente à maior parte das transições. Quanto maior o número de moléculas capazes de absorver luz em um dado comprimento de onda, maior será a extensão de absorção da luz. Seguindo essa idéia, chega-se à expressão empírica, conhecida como

**Lei de Beer-Lambert:**

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon cl \quad (2)$$

O termo  $\log(I_0/I)$  é conhecido como *absorbância* e pode ser representado por  $A$ . A *absortividade molar* ( $\epsilon$ ) é uma propriedade da molécula que sofre uma transição eletrônica e não depende de parâmetros envolvidos no preparo da solução. O termo  $c$  corresponde à *concentração molar do soluto* e  $l$  representa o tamanho da cela (cm) que contém a amostra <sup>11</sup>.

Usa-se a técnica de espectroscopia de UV/Vis para a análise de carboidratos, quando estes reagem com o reagente de DNS <sup>12</sup>. Este método baseia-se na redução do ácido 3,5 dinitro-salicílico a ácido 3-amino-5-nitrosalicílico ao mesmo tempo em que

o grupo aldeído do açúcar é oxidado a grupo carboxílico, com o desenvolvimento de coloração avermelhada, lida espectrofotometricamente em 600 nm <sup>13</sup>.

A formação de um complexo de coloração azul entre uma solução de iodo e as ligações  $\alpha$ -1,4 do amido também pode ser analisada espectroscopicamente num comprimento de onda de 570 nm <sup>14, 15</sup>. Amostras de amido também podem ser analisadas por espectroscopia, utilizando-se fenol e ácido sulfúrico com a finalidade de degradar a  $\alpha$ -amilose e sua banda de absorção ser observada em 490 nm <sup>16</sup>.

## 2.2. Cromatografia líquida de alta eficiência

A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, realizada pela distribuição destes componentes entre duas fases. Uma das fases permanece estacionária enquanto a outra se move através dela. Durante a passagem da fase móvel pela fase estacionária, os componentes da mistura são distribuídos entre as duas fases, de tal forma que cada componente é seletivamente retido pela fase estacionária, resultando em migrações diferenciais destes componentes <sup>17</sup>. Os mecanismos de separação utilizados em cromatografia líquida são:

- Adsorção;
- Partição (fase normal e fase reversa);
- Troca iônica;
- Exclusão por tamanho.

Esses mecanismos estão associados a processos químicos e físicos que atuam durante a separação. Dentre as principais forças químicas atuantes entre o analito e a fase estacionária destacam-se as forças iônicas, ligações de hidrogênio, interações do tipo dipolo-dipolo, dipolo-dipolo induzido e dipolo induzido-dipolo induzido (forças de dispersão).

O mecanismo de adsorção é utilizado principalmente na separação de compostos polares. As fases estacionárias mais empregadas são a sílica e a alumina. A sílica possui uma superfície ligeiramente ácida, que permite a retenção de compostos básicos, enquanto que a superfície básica da alumina é apropriada para a adsorção de compostos de caráter ácido.

O mecanismo de partição surgiu para evitar problemas de adsorção irreversível que podem ocorrer na utilização de sílica, alumina e outras fases polares na análise de compostos altamente polares. No mecanismo de partição usa-se o termo *fase normal* para descrever o modo cromatográfico no qual a fase estacionária é mais polar que a fase móvel (similar ao que ocorre em adsorção). De forma análoga, quando a fase estacionária é menos polar que a fase móvel, o termo empregado é *fase reversa*.

A troca iônica é, geralmente, empregada em cromatografia para o isolamento de analitos de caráter ácido ou básico presentes em soluções aquosas. Os compostos básicos são usualmente retidos por intermédio de uma fase sólida, consistindo em um trocador de cátions, aprisionado à estrutura básica da sílica, enquanto os compostos ácidos são retidos por trocadores de ânions. Desta forma, ocorrerá uma forte atração entre o analito e o trocador de íons de carga oposta. Os principais fatores que influenciam uma separação envolvendo troca iônica são: pH, seletividade do contra-íon, força iônica, solvente e fluxo.

A exclusão por tamanho tem sido utilizada para eliminar da amostra compostos indesejáveis, por intermédio de um mecanismo físico de separação, similar a uma filtração. A fase estacionária é formada por um polímero, cujo tamanho dos poros é bem controlado, de forma a permitir a entrada de moléculas pequenas do analito e excluir as maiores indesejáveis <sup>18</sup>.

Devido ao grande emprego da cromatografia, essa técnica é muito utilizada na análise de açúcares, principalmente os oligossacarídeos.

A cromatografia em papel, por exemplo, foi utilizada para a identificação de açúcares na geléia real. Uma pequena amostra do xarope de geléia real foi colocada em um papel cromatográfico, e os componentes foram separados por partição, durante 33 horas pelos solventes: piridina, acetato de etila e água <sup>19</sup>.

Já a cromatografia em camada delgada foi utilizada para a identificação de rafinose, maltose e sacarose em extratos vegetais <sup>20</sup>, e na identificação de oligossacarídeos e maltodextrinas em fluidos biológicos e leite humano <sup>21</sup>.

Na cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) empregam-se pequenas colunas fechadas e reutilizáveis e uma fase móvel que é eluída sob altas pressões. Ela tem a capacidade de realizar separações e análises quantitativas de uma grande quantidade de compostos presentes em vários tipos de amostras, em escala de tempo de poucos minutos, com alta resolução, eficiência e sensibilidade <sup>17</sup>. No caso das análises de carboidratos, a coluna amino é a mais utilizada e com ela, a fase móvel acetonitrila: água, geralmente na proporção 80: 20 (v:v), e o detector de índice de refração <sup>22, 23, 24, 25</sup>. Esse método é válido para determinação de açúcares em sucos de frutas <sup>26</sup>, rafinose <sup>27, 28</sup> e grande parte dos monossacarídeos, dentre os principais: xilose, frutose e glicose <sup>29</sup>.

Polissacarídeos como o amido, podem ser separados e identificados por cromatografia de exclusão por tamanho. Pode-se separar, por exemplo, a amilose, a amilopectina (dois componentes do amido) <sup>5</sup>, assim como a dextrana e o glicogênio <sup>30</sup>.

### 3. Força iônica

A *força iônica*,  $\mu$ , é uma medida da concentração total de íons em solução. Quanto mais carregado for um íon, maior será sua participação no cálculo da força iônica.

$$\mu = \frac{1}{2} (c_1 z_1^2 + c_2 z_2^2 + \dots) = \frac{1}{2} \sum_i c_i z_i^2 \quad (3)$$

Onde  $c_i$  é a concentração da  $i$ -ésima espécie e  $z_i$  é a sua carga. A soma se aplica a todos os íons em solução.

O NaCl é conhecido como um eletrólito 1:1 porque o cátion e o ânion possuem carga igual a 1. Para os eletrólitos 1:1, a força iônica é igual à molaridade (concentração molar). Para qualquer outra estequiometria (como o eletrólito 2:1, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), a força iônica é maior que a molaridade.

Para se considerar o efeito da força iônica nas reações químicas, as concentrações são substituídas por *atividades*:

$$A_c = [C]\gamma_c \quad (4)$$

Onde  $A_c$  é a atividade da espécie C,  $[C]$  é a concentração de C e  $\gamma_c$  é o coeficiente de atividade de C. A atividade da espécie C é a sua concentração multiplicada pelo seu *coeficiente de atividade*. O coeficiente de atividade mede o desvio do comportamento ideal. Portanto, a forma correta da constante de equilíbrio é:

$$K = \frac{A_C^c A_D^d}{A_A^a A_B^b} = \frac{[C]^c \gamma_C^c [D]^d \gamma_D^d}{[A]^a \gamma_A^a [B]^b \gamma_B^b} \quad (5)$$

A equação 5 leva em conta o efeito da força iônica no equilíbrio químico, pois os coeficientes de atividade dependem da força iônica<sup>31</sup>. De acordo com a Lei Limite de Debye-Hückel, para um eletrólito  $A_m B_n$ , o coeficiente de atividade é determinado pela carga e pela força iônica total da solução:

$$-\log \gamma_{\pm} = 0,5\sqrt{\mu} \frac{mZ_A^2 + nZ_B^2}{m+n} \quad (6)$$

Na prática, a constante de equilíbrio é determinada experimentalmente em termos de concentração:

$$K' = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b} \quad (7)$$

Substituindo os valores de concentração por  $K'$  na equação 5, tem-se:

$$K = K' \frac{\gamma_C^c \gamma_D^d}{\gamma_A^a \gamma_B^b} \quad (8)$$

Pode-se distinguir  $K$ , dado em termos de atividades (também chamado de constante de equilíbrio termodinâmica), e  $K'$ , dado em termos de concentração. Se o valor da constante de atividade  $\gamma$ , se aproximar da unidade, em infinitas diluições, extrapola-se o valor experimental de  $K'$  para diferentes forças iônicas e obtém-se o valor de  $K$ , o qual atinge seu valor limite em diluições infinitas<sup>32</sup>.

Uma estimativa da magnitude do efeito de um sal pode ser obtida pela teoria de Debye-Hückel. Sabendo-se que:

$$pK = -\log K \quad (9)$$

$$pK' = -\log K' \quad (10)$$

Pode-se reescrever a equação 8:

$$pK' = pK + c \log \gamma_C + d \log \gamma_D - a \log \gamma_A - b \log \gamma_B \quad (11)$$





A presença acentuada de um único tipo de ácido graxo na composição dos triglicerídeos é uma característica marcante do óleo de mamona <sup>34, 35</sup>.

O óleo de mamona pode ser transesterificado com compostos poli-hidroxilados como a glicerina, trimetilolpropano, trietanolamina, dietanolamina, etc. (Figura 12) <sup>36</sup>.

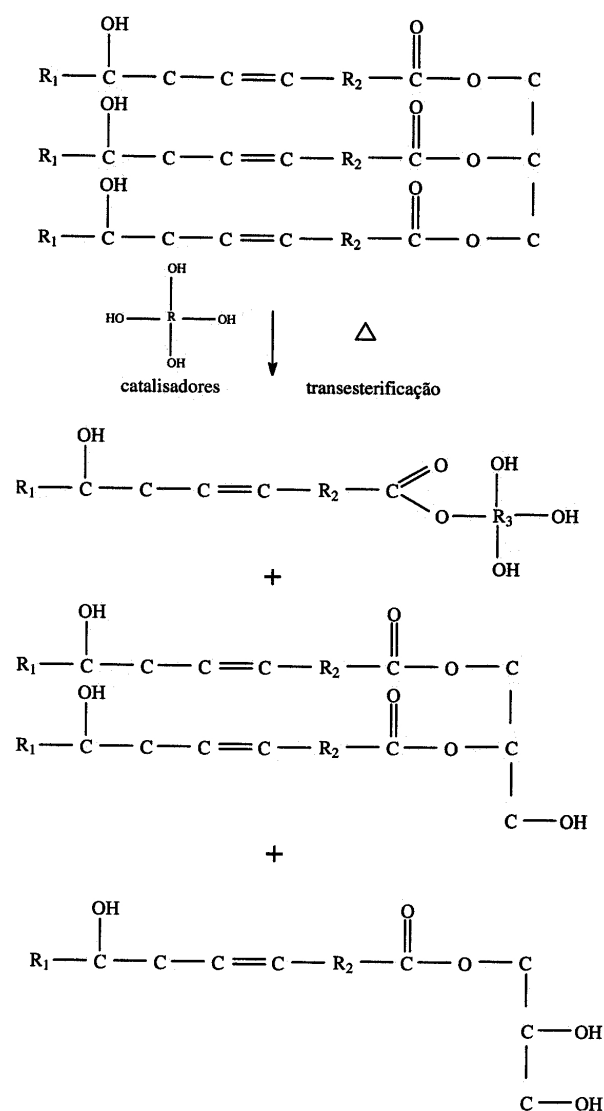


Figura 12: Transesterificação do óleo de mamona com glicóis.

Dessa forma, o óleo de mamona pode dar origem a diversos tipos de ésteres, como:

- Ésteres secundários, resultantes da esterificação da hidroxila livre do carbono 12, com ácidos graxos e outros ácidos orgânicos, especialmente o acético;
- Ésteres primários, resultantes da esterificação de carboxilas terminais na molécula do ácido ricinoléico com outros alcoóis;
- Ésteres duplos, por reação da hidroxila livre e da carbonila terminal;
- Inter-ésteres, resultantes da esterificação da hidroxila livre com carboxilas da mesma ou de outras moléculas de ácido ricinoléico;
- Mono e diglicerídeos, resultantes da reação parcial do óleo ou ácidos graxos do mesmo com polióis, especialmente com glicerol <sup>37</sup>.

Em alguns estudos realizados com a mistura de ésteres derivados do óleo de mamona, pode-se comprovar sua capacidade antimicrobiana. Em endodontia, foram testados e comparados quatro agentes antimicrobianos, tais como: hidróxido de cálcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), digluconato de clorexidina, paramonoclorofenol canforado e a mistura de ésteres derivados do óleo de mamona. Os testes foram realizados em colônias de *Prevotella migrescens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Clostridium perfringens* e *Bacteróides fragilis*. De acordo com os resultados obtidos, a mistura de ésteres foi o segundo melhor agente antimicrobiano utilizado em menor concentração, sendo que o primeiro foi a clorexidina <sup>38</sup>. Estudos semelhantes utilizando tanto o gluconato de clorexidina e o a mistura de ésteres em gel, mostraram resultados positivos com relação à assepsia do canal radicular, em comparação com o uso do hipoclorito de sódio 1% que é comumente utilizado <sup>39</sup>.

A atividade antimicrobiana da mistura de ésteres também foi comprovada nos organismos anaeróbicos *streptococci* e *S. mutans*, em comparação com o hipoclorito de sódio e a papaína em gel. A mistura de ésteres, para esse caso, mostrou-se mais eficiente, sendo que a papaína em gel não mostrou resultados confiáveis para os microorganismos estudados <sup>40, 41</sup>.

Com relação a estudos realizados com a bactéria *Escherichia coli*, a mistura de ésteres foi responsável pela severa inibição no crescimento das culturas sem diluição da sua concentração. Porém, quando altamente diluído (1: 1.000.000), a bactéria *E. coli* apresentou crescimento, porém com uma diminuição significativa com relação ao controle <sup>42</sup>.

Verificou-se, também, o efeito microbiostático da mistura de ésteres em culturas da bactéria *Cândida albicans*, onde foi observada a diminuição do número de células, atingindo 90% de inibição de células e brotos vivos <sup>43</sup>.

O efeito cicatrizante da mistura de ésteres também já foi comprovado, uma vez que o mesmo atua em diversas fases do processo, como por exemplo, aumentando a permeabilidade da membrana celular, e no processo de mitose <sup>44</sup>.

# Objetivos

Este trabalho teve como objetivos:

Estudar a decomposição da sacarose em meio neutro utilizando uma mistura de ésteres derivados do óleo de mamona, a fim de quantificar os produtos oriundos da hidrólise, ou seja, glicose e frutose, e verificar também, a etapa intermediária dessa reação de hidrólise, que consiste na formação de um complexo aquoso, cuja formação é considerada a etapa lenta da hidrólise;

Estudar a decomposição da sacarose em meio neutro, porém com a alteração da força iônica do meio, utilizando NaCl como eletrólito, podendo, dessa maneira, calcular as constantes de equilíbrio da reação de hidrólise e a energia livre de Gibbs, com a finalidade de observar se a reação é espontânea para a formação dos produtos;

Verificar, se ocorre, a decomposição da celulose utilizando-se a mistura de ésteres, e a formação de açúcares redutores, provenientes dessa reação de hidrólise. A partir desse estudo, pode-se observar também, a cinética de decomposição do polissacarídeo em questão, calculando-se o tempo de meia-vida e a lei de velocidade.

# **Procedimento experimental**

## 1. Preparo das soluções

### 1.1. Diluições da mistura de ésteres derivados do óleo de mamona

Todas as diluições da mistura de ésteres foram realizadas a partir de uma solução concentrada. As concentrações obtidas após as diluições e utilizadas nas hidrólises dos oligossacarídeos foram: 1%, 0,2% e 0,1% (v/v). Nesse trabalho, entretanto, foram apresentados os resultados obtidos com a mistura de ésteres na diluição 0,1% (v/v).

### 1.2. Soluções de sacarose para as análises cromatográficas

Inicialmente, foram preparadas soluções de sacarose (Synth) com concentração igual a 10 g/L. Em seguida, o éster diluído foi adicionado à essas soluções para a realização dos testes qualitativos e as análises cromatográficas <sup>37</sup>.

No entanto, esse procedimento, apesar de válido, tem caráter qualitativo, e com o objetivo de quantificar os produtos da hidrólise dos oligossacarídeos, foram necessárias algumas alterações.

Preparou-se, portanto, uma solução de sacarose de concentração igual a 0,1 mol L<sup>-1</sup>, a qual foi denominada “solução padrão”. Em seguida, foi preparada outra

solução de sacarose  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , porém utilizando-se o éster diluído na proporção 0,1%, com a finalidade de se observar a decomposição da sacarose em glicose e frutose e comparar a quantidade de sacarose hidrolisada com a solução padrão.

As soluções de sacarose  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  foram utilizadas para análise cromatográfica em coluna amino ( $\text{NH}_2$ ) e detector de índice de refração. Para as análises utilizando-se a coluna  $\text{C}_{18}$  e detector de UV, a concentração das soluções de sacarose foi de  $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , devido ao fato desse último detector possuir maior sensibilidade.

### **1.3. Soluções de celulose para as análises espectrofotométricas**

O preparo das soluções para análise espectrofotométrica foi o mesmo das soluções preparadas para a análise cromatográfica, porém utilizando-se uma concentração igual a  $0,2 \text{ g/L}$ . Foi utilizado o padrão de celulose (Sigmacell type 100). As mesmas soluções foram utilizadas para a realização do estudo da cinética de decomposição da celulose.

### **1.4. Soluções de sacarose e cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ ) para as análises espectrofotométricas**



Foram preparadas sete soluções de sacarose (Synth) e NaCl (J. T. Baker) utilizando a mistura de ésteres 0,1%. A concentração de sacarose manteve-se fixa para todas as soluções, correspondendo a um valor de  $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>. Já, a concentração de NaCl foi variada para cada solução. Como o NaCl é um eletrólito 1:1, sua concentração, em mol L<sup>-1</sup>, equivale ao valor da força iônica. A Tabela 1 mostra os valores das forças iônicas para cada solução de sacarose (numeradas de 1 a 7).

**Tabela 1** - Valores de força iônica (mol L<sup>-1</sup>) para cada solução de sacarose.

Solução de sacarose $10^{-3}$ (mol L <sup>-1</sup> )	Força iônica ( $\mu$ ) do NaCl (mol L <sup>-1</sup> )
1	0
2	$1,0 \times 10^{-4}$
3	$5,0 \times 10^{-4}$
4	$1,0 \times 10^{-3}$
5	$2,0 \times 10^{-3}$
6	$5,0 \times 10^{-3}$
7	$1,0 \times 10^{-2}$

### 1.5. Reagente DNS

Em 1L de água destilada, adicionou-se 10,6 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico (Vetec), 19,8 g de hidróxido de sódio (Nuclear) e 306 g de tartarato de sódio e potássio (Reagen). Após a dissolução dos reagentes citados, adicionou-se 7,6 mL de

fenol (Vetec) e 8,3 g de metabissulfito de sódio (Merck). Para a utilização do fenol, o mesmo foi aquecido à 50° C.

## 2. Análise cromatográfica

### 2.1. Quantificação dos produtos de hidrólise da sacarose

O procedimento descrito a seguir foi realizado a fim de se obter os produtos oriundos da decomposição da sacarose, ou seja, glicose e frutose. Utilizou-se o cromatógrafo Waters (510 HPLC pump, 717 Autosampler, 410 Differential Refractometer). Como fase estacionária, foi utilizada a coluna amino (Techsphere NH<sub>2</sub> 25 mm x 4,6 mm x 5 μm) e como fase móvel uma mistura de acetonitrila (Mallinckodt): água 85:15 (v/v). O fluxo foi de 1mL/min<sup>45, 46, 47</sup>. O volume injetado foi de 10 μL, e o tempo total de cada análise foi de 30 minutos. A temperatura do forno foi ajustada em 30 °C e a pressão do sistema manteve-se constante em 750 psi.

Primeiramente foi injetada uma solução aquosa de sacarose 0,8 mol L<sup>-1</sup> e a mesma foi diluída em mais cinco soluções de concentração 0,5 mol L<sup>-1</sup>, 0,3 mol L<sup>-1</sup>, 0,1 mol L<sup>-1</sup>, 0,05 mol L<sup>-1</sup> e 0,02 mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Dessa maneira, obteve-se a curva analítica da sacarose.

Em seguida, injetou-se a solução de sacarose  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  preparada em éster 0,1%. Esta foi injetada imediatamente após o seu preparo e, assim, pode-se determinar o tempo inicial ( $t_0$ ) da reação da sacarose com o éster 0,1%.

Essa mesma solução foi analisada durante um período de 15 dias para observar o tempo de decomposição da sacarose e a respectiva produção de glicose e frutose.

## 2.2. Verificação da etapa intermediária da reação de hidrólise

O procedimento descrito a seguir foi realizado com a finalidade de se observar a presença da etapa intermediária da reação de decomposição da sacarose, uma vez que esse intermediário não pode ser detectável utilizando-se o detector de índice de refração na análise cromatográfica <sup>37</sup>.

Utilizou-se o cromatógrafo Shimadzu (Detector SPD-10 A, SCL-10 A, Bomba LC-64 D). Como fase estacionária, fez-se uso da coluna  $C_{18}$  (Supelcosil LC-18 15 cm x 4,6 mm x 5  $\mu\text{m}$ ) e como fase móvel uma mistura de água: acetonitrila (Mallinckrodt) 80:20 (v/v) previamente desaerada <sup>48, 49</sup>. O fluxo foi de 0,5mL/min. O volume injetado foi de 20  $\mu\text{L}$  e o tempo total de cada análise foi de 10 minutos. O estudo foi realizado no comprimento de onda igual a 274 nm.

Primeiramente, foi injetada água destilada para verificar seu tempo de retenção nas condições acima citadas. Logo em seguida, injetou-se a solução de éster diluído 0,1% também com a finalidade de se observar seu tempo de retenção.

Posteriormente, injetou-se uma solução de sacarose, glicose (Synth) e frutose (Synth), todas de concentração igual a  $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>.

Finalmente, injetou-se uma solução de sacarose preparada em éster 0,1%. Esta foi injetada imediatamente após o seu preparo e, assim, determinou-se o tempo inicial ( $t_0$ ) da reação. Essa mesma solução foi analisada num período de 30 dias para se observar a formação do intermediário da reação de hidrólise.

### 3. Análise espectrofotométrica

#### 3.1. Hidrólise da celulose

Para a análise da decomposição da celulose, utilizou-se o método de determinação de açúcares redutores com o uso do reagente de DNS <sup>12</sup>.

Primeiramente, preparou-se, em triplicata, soluções de glicose (Synth) de concentrações iguais a 0,08, 0,10, 0,20, 0,30, 0,40 e 0,50 g L<sup>-1</sup> respectivamente. Para 1,0 mL de cada solução, adicionou-se 1 mL do reagente de DNS num tubo de ensaio. As soluções de glicose + DNS de cor amarela foram aquecidas em água fervente por exatos 5 minutos e logo após resfriadas. Adicionou-se 10 mL de água destilada em cada tubo e essa solução resultante, que passou a ter coloração marrom, foi analisada espectrofotometricamente num equipamento Shimadzu Multispec - 1501 abrangendo

uma faixa de 470 a 700 nm. A banda de absorção correspondente à glicose situou-se próximo a 520 nm.

Após a análise das seis soluções de glicose, obteve-se a curva analítica das concentrações de glicose com relação ao valor da absorbância.

Posteriormente, o mesmo procedimento foi utilizado para a análise de uma solução de celulose em éster 0,1%, também preparada em triplicata, e de concentração igual a 0,2 g/L. Essa solução foi analisada num período de 30 dias com a finalidade de se observar a presença de glicose, oriunda da hidrólise da celulose, e também, para observar o comportamento da cinética de decomposição da celulose.

### **3.2. Hidrólise das soluções de sacarose com NaCl**

Para a análise das sete soluções de sacarose com NaCl, também foi utilizado o método de determinação de açúcares redutores utilizando o reagente de DNS <sup>12</sup>.

Para 1 mL de cada solução de sacarose  $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> com a respectiva concentração de NaCl, foi adicionado 1 mL do reagente de DNS em um tubo de ensaio. As soluções de sacarose - NaCl + DNS de cor amarela foram aquecidas em água fervente por exatos 5 minutos e logo após resfriadas. Adicionou-se 10 mL de água destilada em cada tubo e essas soluções resultantes, que passaram a ter coloração laranja, foram analisadas espectrofotometricamente no mesmo equipamento Shimadzu Multispec - 1501 abrangendo uma faixa de 470 a 700 nm. Todas as soluções

foram analisadas num período de 60 dias, para observar a presença de açúcares redutores, nesse caso, glicose e frutose.

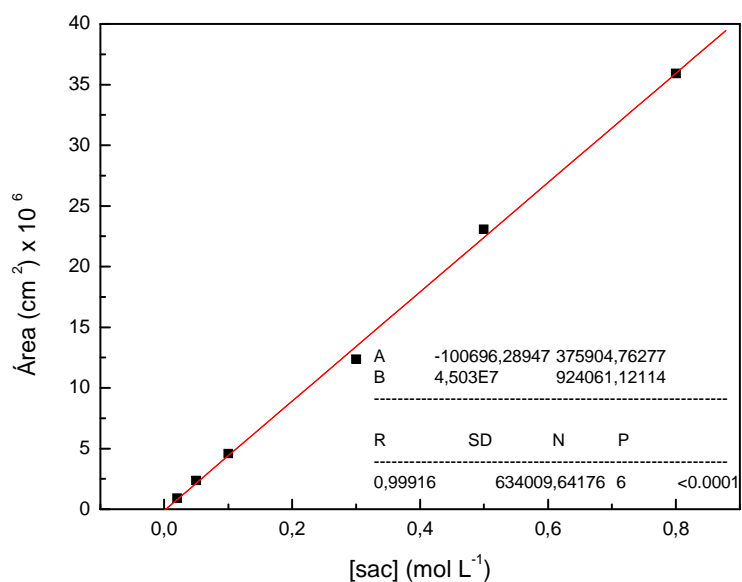
Esse experimento foi realizado com a finalidade de se obter uma quantidade maior de glicose e frutose a partir da decomposição da sacarose, e para isso, foi necessária a alteração da força iônica do meio reacional. Foi utilizado o NaCl por ser um eletrólito 1:1, e com isso, facilitando os cálculos e por ser de baixo custo.

# **Resultados e discussão**

## 1. Análise Cromatográfica

### 1.1. Quantificação dos produtos de hidrólise as sacarose

A curva analítica mostrada abaixo (Figura 13) foi obtida preparando-se cinco soluções a partir de uma solução estoque de sacarose de concentração 0,8 mol L<sup>-1</sup>. A curva é dada pela concentração de sacarose (mol L<sup>-1</sup>) pela área do pico correspondente à sacarose (cm<sup>2</sup>). O valor da área varia conforme o aumento da concentração de sacarose (0,02 a 0,8 mol L<sup>-1</sup>).



**Figura 13:** Gráfico da curva analítica da sacarose.



O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) são mostrados abaixo:

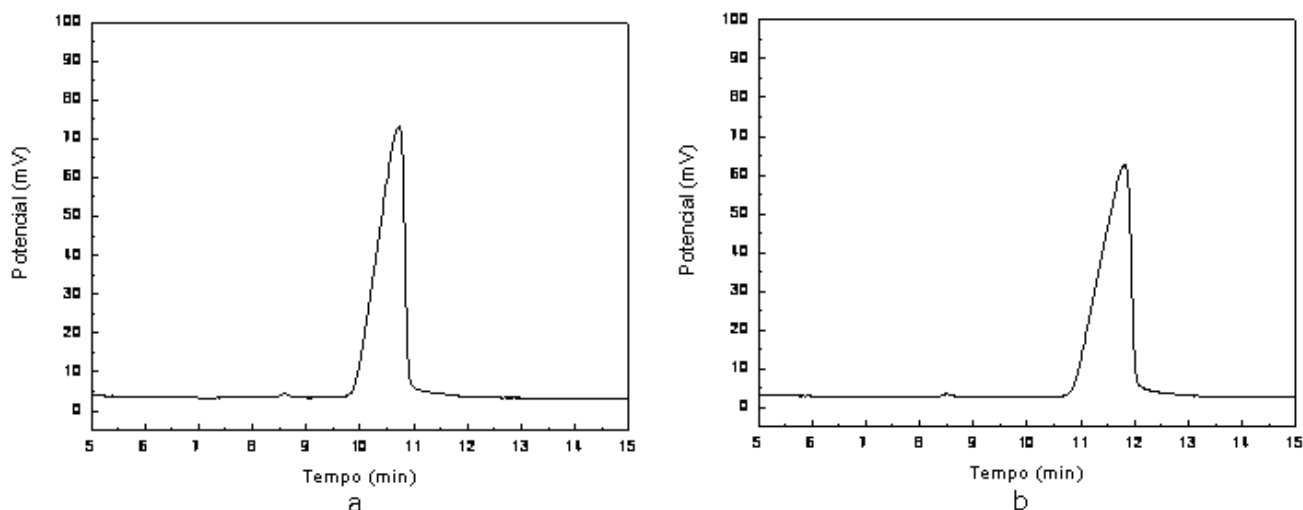
$$LD = \frac{3,3xDP}{B} \quad (12)$$

$$LQ = \frac{10xDP}{B} \quad (13)$$

Onde DP = desvio padrão e B = coeficiente angular da reta  $Y = A + BX$ .

No caso da curva analítica da Figura 13, LD e LQ são iguais a 0,0465 mol L<sup>-1</sup> e 0,1471 mol L<sup>-1</sup>, respectivamente, uma vez que o valor de A foi de  $-1,00696 \times 10^{-5}$ , o valor de B foi de  $4,503 \times 10^7$  e o desvio padrão apresentou valor igual a  $6,3401 \times 10^4$  com R = 0,99916.

Ao se injetar uma solução de sacarose preparada com a mistura de ésteres de concentração igual a 0,1 mol L<sup>-1</sup>, notou-se uma pequena diminuição do valor do potencial (mV), com relação ao valor obtido correspondente à solução padrão de sacarose de igual concentração (Figura 14).

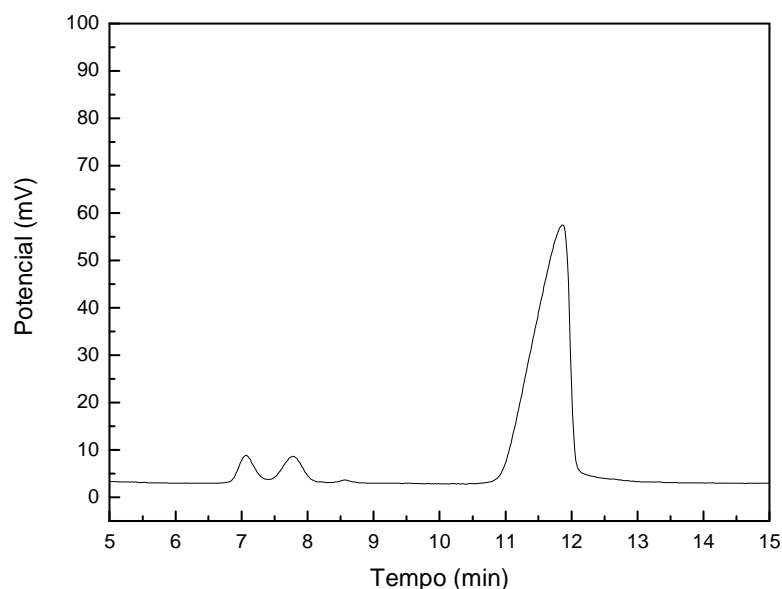


**Figura 14:** Cromatogramas com os valores correspondentes à concentração de sacarose: a)  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e b)  $0,085 \text{ mol L}^{-1}$ .

O valor do potencial antes de sacarose ser hidrolisada era de  $73,18 \text{ mV}$ . Logo no início da reação da sacarose com a mistura de ésteres, o valor obtido foi de  $62,25 \text{ mV}$ . Houve uma diminuição de  $14,93\%$  do valor. Isso, conseqüentemente, corresponde a uma diminuição da concentração de sacarose, logo após a mesma ter sido preparada com a mistura de ésteres. Desse modo, pode-se afirmar que a concentração inicial de sacarose na mistura de ésteres, que era igual a  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , passa a ter um valor igual a  $0,085 \text{ mol L}^{-1}$ .

Mesmo com a diminuição da concentração de sacarose, não se pode notar no primeiro dia de reação, a formação de glicose e frutose. Isso, portanto, mostra indícios de que a reação de hidrólise da sacarose em meio neutro apresenta uma etapa intermediária antes da formação dos produtos, semelhante à hidrólise em meio ácido<sup>6</sup>.

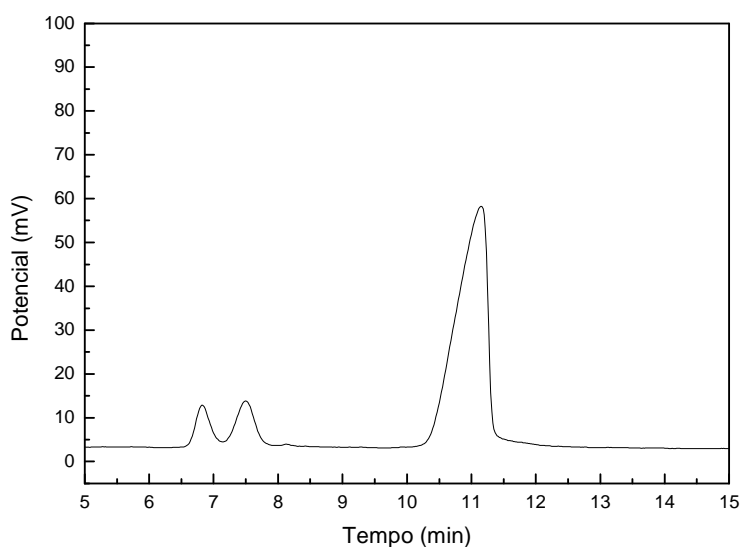
A mesma solução de sacarose com a mistura de ésteres foi analisada num período de 15 dias, e somente após o oitavo dia de reação, observou-se os picos correspondentes à frutose, e glicose, respectivamente (Figura 15).



**Figura 15:** Cromatograma correspondente ao oitavo dia de reação da sacarose com a mistura de ésteres.

Sabendo-se que o valor de sacarose, antes da formação de glicose e frutose era de  $0,085 \text{ mol L}^{-1}$ , o valor obtido para sua concentração após a formação dos monossacarídeos foi igual a  $0,078 \text{ mol L}^{-1}$ . Isso corresponde a uma diminuição da concentração de 8,24%, com relação à concentração antes da formação de glicose e frutose. Os valores encontrados para as concentrações de glicose e frutose, foram ambas iguais a  $0,012 \text{ mol L}^{-1}$  no oitavo dia de reação. Isso está de acordo com a estequiometria da reação, onde 1 mol de sacarose, produz 1 mol de glicose e 1 mol de frutose <sup>2</sup>.

Durante os dias que se procedeu a reação, houve aumento da concentração de glicose e frutose (Figura 16) e o valor encontrado da concentração foi de  $0,019 \text{ mol L}^{-1}$  e  $0,017 \text{ mol L}^{-1}$ , respectivamente.



**Figura 16:** Gráfico correspondente ao décimo terceiro dia de reação da sacarose com a mistura de ésteres.

Com esses resultados, observa-se que a reação de hidrólise se faz sem a quebra dos anéis glicosídicos da sacarose, pois ocorre a formação dos seus respectivos monossacarídeos, frutose e glicose.

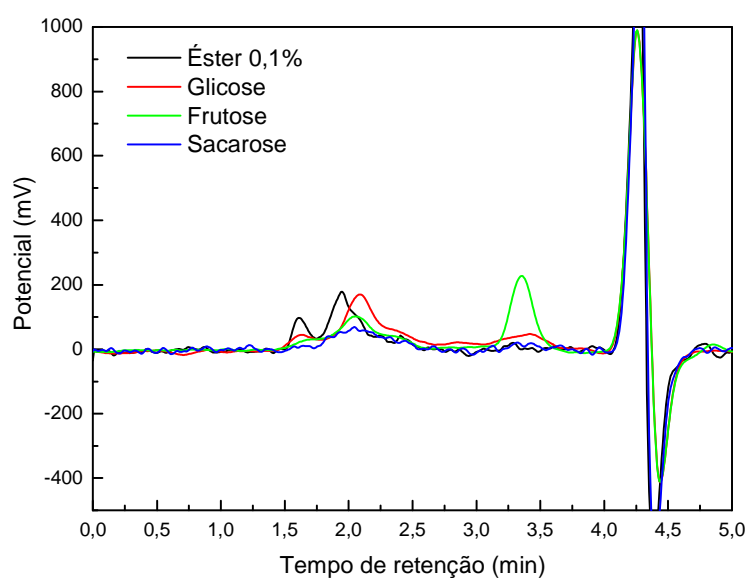
A Tabela 2 mostra os resultados obtidos de acordo com o tempo de hidrólise, resumindo o que foi descrito anteriormente.

**Tabela 2** - Concentração (mol L<sup>-1</sup>) dos açúcares com relação ao tempo de hidrólise (dias)

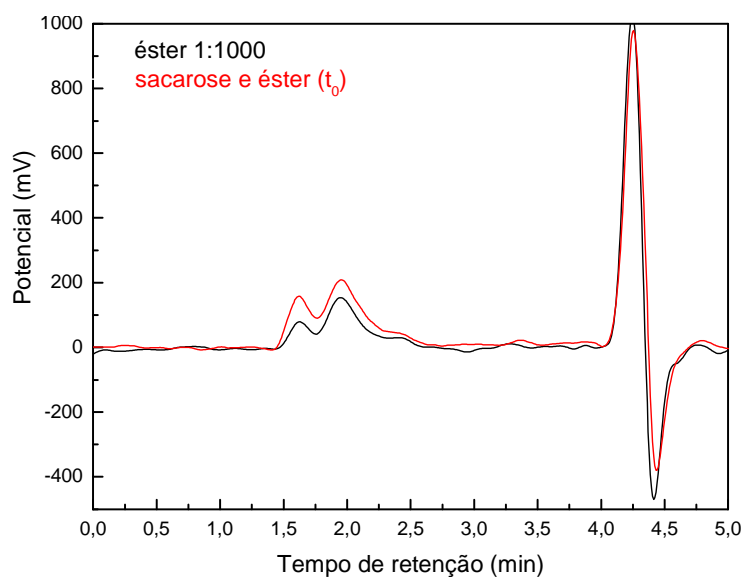
Tempo (dias)	Concentração (mol L <sup>-1</sup> )		
	Sacarose	Glicose	Frutose
1	0,085	0	0
8	0,078	0,012	0,012
13	0,074	0,019	0,017

### 1.2. Verificação da etapa intermediária da reação

Para comprovar que a reação da hidrólise da sacarose em meio neutro possui um intermediário, verificou-se primeiramente o tempo de retenção da mistura de ésteres 0,1%, e dos padrões de sacarose, glicose e frutose. O gráfico correspondente a esses tempos de retenção, são mostrados na Figura 17.

**Figura 17:** Tempos de retenção correspondentes à: éster 0,1%, glicose, frutose e sacarose.

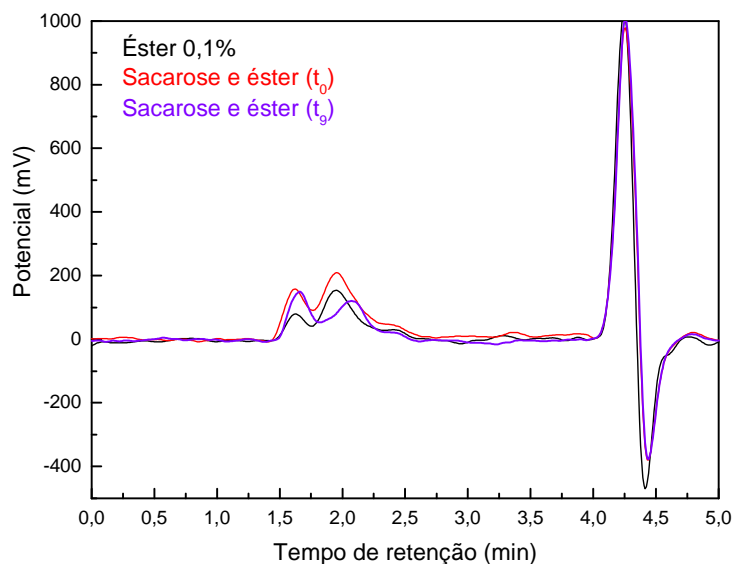
A partir do comportamento de cada padrão visto na Figura 17, pode observar as diferenças ocorridas quando se analisa uma solução de sacarose preparada com a mistura de ésteres. Logo após o preparo da solução, a mesma foi injetada e comparada com a solução de éster 0,1% (Figura 18).



**Figura 18:** Comparação entre a solução de éster 0,1% e a solução de sacarose preparada com éster 0,1%.

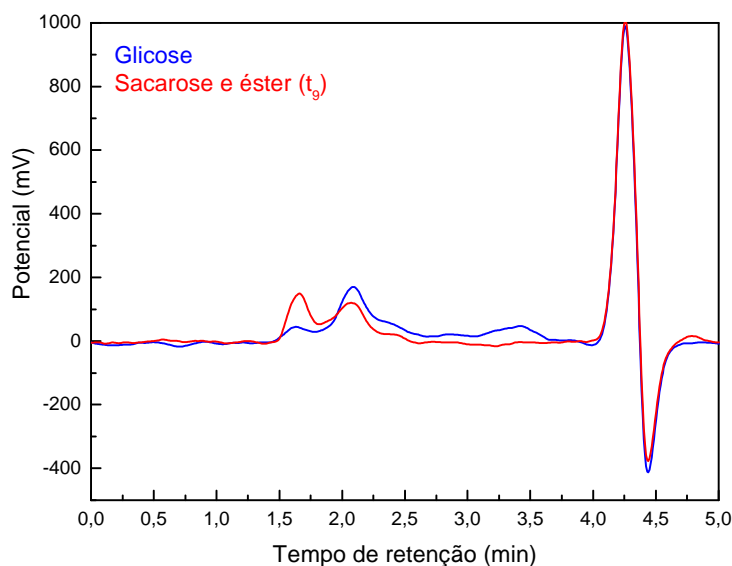
Nota-se no início da reação de hidrólise (tempo  $t_0$ ) que ocorre um aumento nos picos correspondentes aos picos de éster 0,1%, entre 1,5 e 2,5 minutos. Como visto anteriormente, não se observa a formação de glicose e frutose. Pode-se dizer que esse aumento se deve a formação de um complexo aquoso, formado pela sacarose e pela mistura de ésteres ligada à ligação glicosídica. Esse tempo de retenção permaneceu o mesmo até o oitavo dia de reação, o mesmo tempo visto anteriormente para o início da formação de glicose e frutose. A partir do nono dia de reação, o tempo de retenção da solução de sacarose preparada com a mistura de

ésteres, difere-se tanto do tempo de retenção do éster 0,1% quanto do tempo de retenção do primeiro dia de reação (Figura 19).



**Figura 19:** Comparação entre os tempos de retenção das soluções de éster 0,1%, sacarose e éster ( $t_0$ ) e sacarose e éster ( $t_9$ ).

O gráfico correspondente ao nono dia de reação comprova que houve a formação de glicose. É possível observar essa afirmação, comparando-se o gráfico do padrão de glicose, com o gráfico do nono dia de reação (Figura 20).



**Figura 20:** Comparação entre o padrão de glicose e a solução de sacarose com éster 0,1% no nono dia de reação.

Esse experimento, assim como seus resultados, apesar de terem um caráter qualitativo, soa de grande importância, pois se verifica a formação de um complexo, antes da formação de glicose e frutose. A formação da frutose, não foi observada durante a reação de hidrólise, porém houve a formação da mesma como mostrado no item 1.1.. Conseqüentemente, pode-se afirmar que não há a quebra do anel glicosídico, mas somente da ligação glicosídica.

## 2. Análise espectrofotométrica

### 2.1. Hidrólise da celulose



A Figura 21 mostra a curva analítica da sacarose, que mostra a concentração de glicose ( $\text{g L}^{-1}$ ) com relação à absorbância. O gráfico mostra que quanto mais concentrada a solução, que por sua vez reagiu com a solução de DNS, maior o valor da absorbância. Os valores de concentração variam de 0,08 a  $0,5 \text{ g L}^{-1}$ .

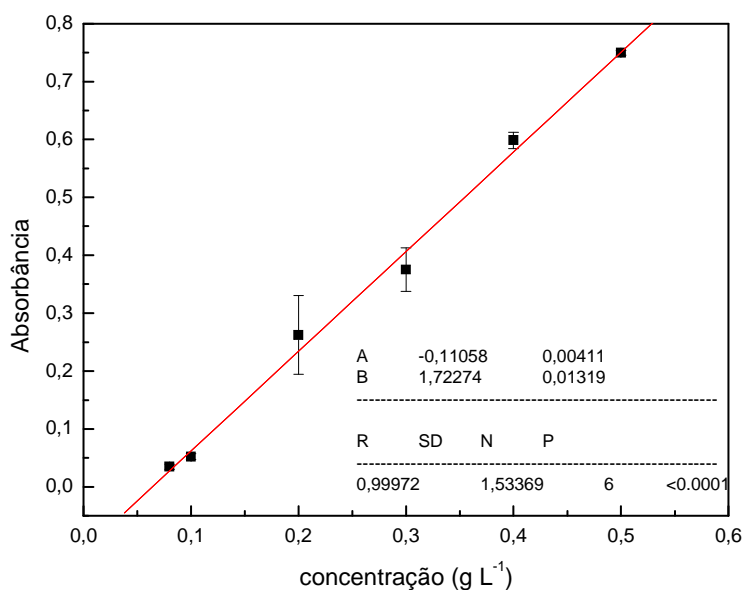
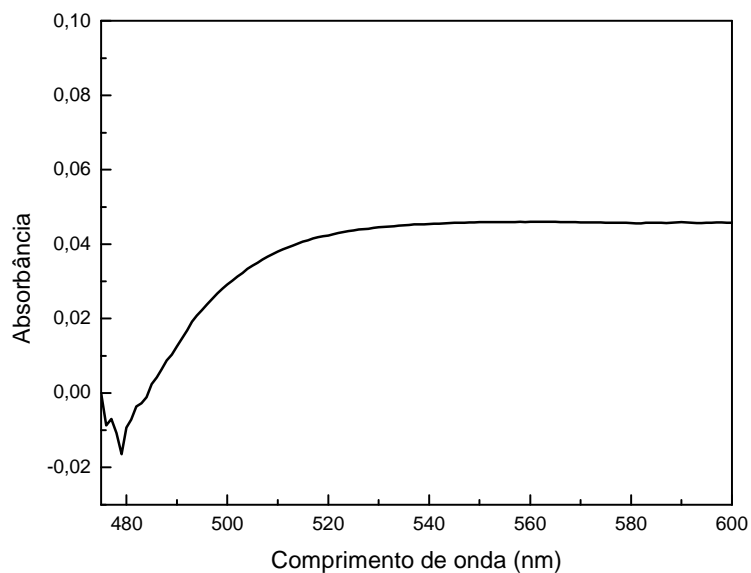


Figura 21: Gráfico da curva analítica da glicose.

De acordo com as equações 12 e 13, obteve-se os valores de LD e LQ, iguais a  $2,94 \text{ g L}^{-1}$  e  $8,91 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente, uma vez que o valor de A foi igual a  $-0,11058$  e o valor de B foi igual a  $1,72274$ . O desvio padrão (DP) apresentou valor de  $1,53369$  e R igual a  $0,99972$ .

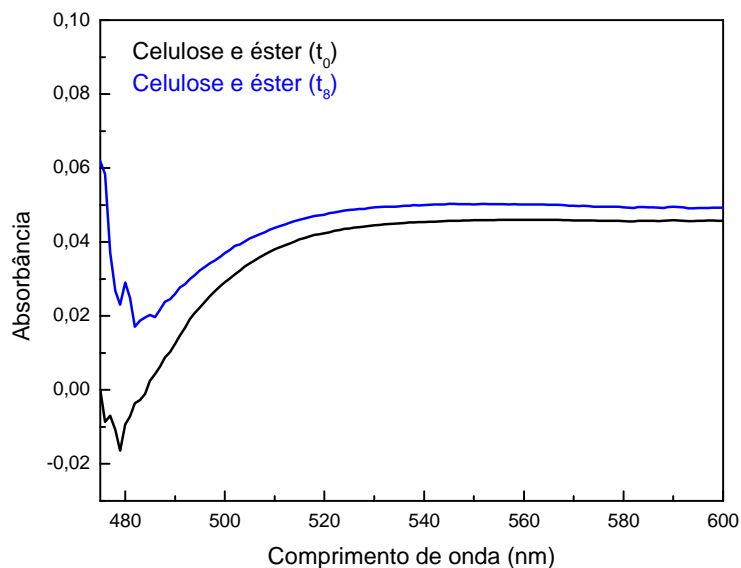
A solução de celulose, de concentração  $0,2 \text{ g L}^{-1}$  foi analisada durante um período de 30 dias. Logo no início da reação, ou seja, após o seu preparo, a solução foi analisada espectrofotometricamente, e como ocorreu com a hidrólise da sacarose, não se observou a formação de glicose (Figura 22). Portanto, a hidrólise da celulose

em meio neutro, também gera um complexo intermediário, semelhante a sua reação em meio ácido.



**Figura 22:** Espectro eletrônico correspondente à reação de hidrólise da celulose com a mistura de ésteres 0,1% (primeiro dia de reação).

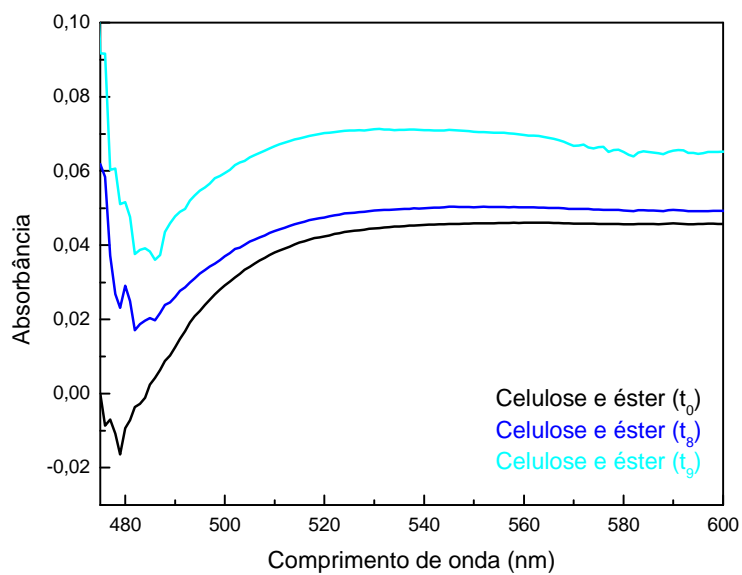
A solução só foi apresentar mudanças, tanto na cor ao reagir com o reagente de DNS quanto no valor da absorvância, a partir do oitavo dia de reação. A solução, que na ausência de açúcares redutores, possui coloração amarela, passou a ter coloração laranja. O valor da absorvância aumentou, com relação ao valor obtido no primeiro dia de reação (Figura 23).



**Figura 23:** Espectros correspondentes ao primeiro ( $t_0$ ) e ao oitavo dia ( $t_8$ ) de reação da celulose com a mistura de ésteres 0,1%.

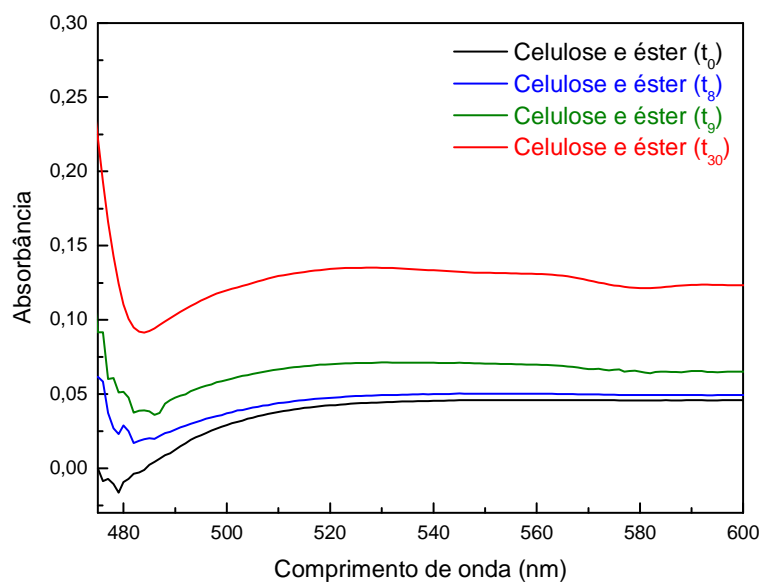
O valor da absorvância, em 520 nm que no início da reação era de 0,043, passou para 0,048 no oitavo dia de reação. Mesmo essa mudança sendo muito pequena, os gráficos mostram indícios de que a celulose está sendo hidrolisada pela mistura de ésteres em açúcares redutores. Utilizando a técnica espectrofotométrica, não se sabe se o açúcar redutor formado é a glicose, ou se a celulose está sendo decomposta em celobiose, que é um dissacarídeo formado por duas moléculas de glicose unidas por uma ligação  $\beta$ -1,4<sup>1, 2, 3, 8</sup>.

Um aumento maior do valor da absorvância se dá no nono dia de reação (Figura 24). Esse valor corresponde a 0,070 e equivale a um valor de 0,11 g L<sup>-1</sup> de açúcares redutores formados.



**Figura 24:** Comparação dos valores de absorvância do primeiro ( $t_0$ ), oitavo ( $t_8$ ) e nono dia ( $t_9$ ) da reação da celulose com a mistura de ésteres 0,1%

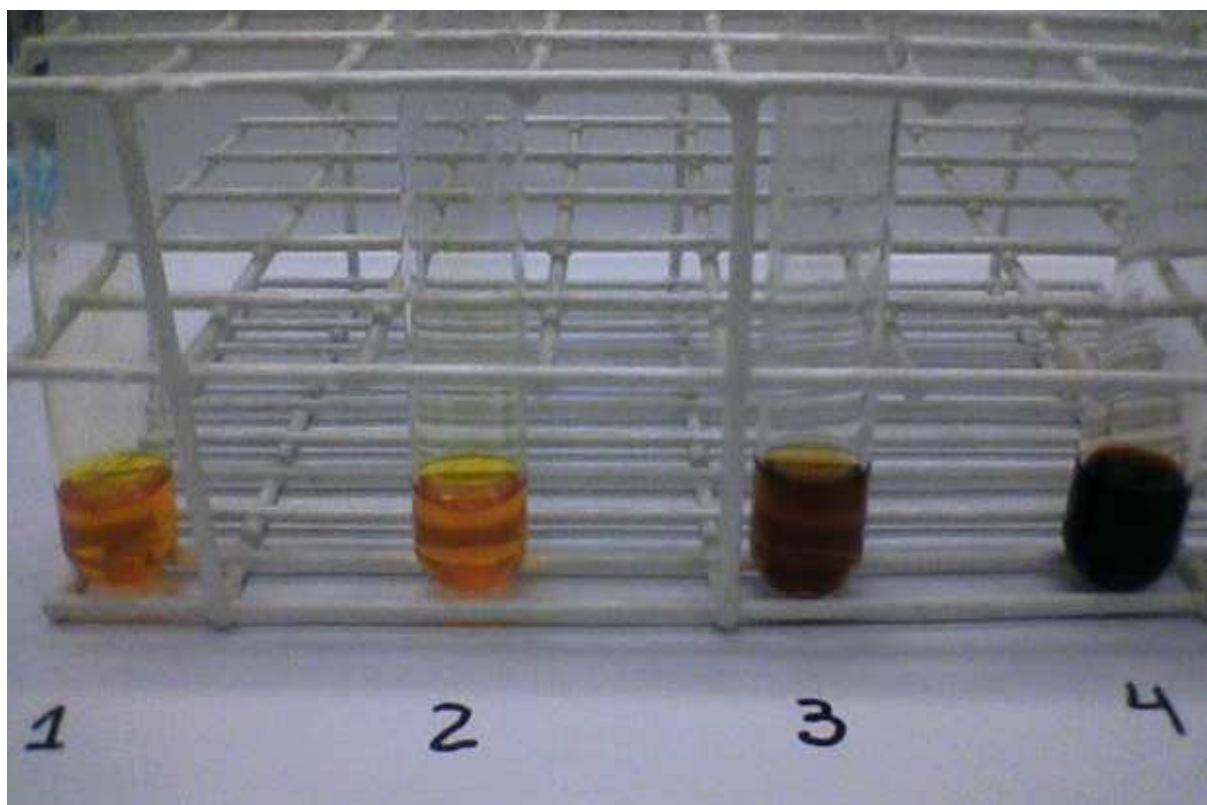
No décimo segundo dia da reação, a absorvância apresentou o seu valor máximo e assim permaneceu até o trigésimo dia (Figura 25). Esse valor foi igual a 0,134 correspondendo, portanto a um valor de  $0,14 \text{ g L}^{-1}$  de açúcares redutores.



**Figura 25:** Trigésimo dia de reação da celulose ( $t_{30}$ ) com a mistura de ésteres em relação ao primeiro ( $t_0$ ), oitavo ( $t_8$ ) e nono ( $t_9$ ) dias.

Pode-se dizer que, partindo de uma solução de  $0,2 \text{ g L}^{-1}$  de celulose, chegou-se a formação de  $0,14 \text{ g L}^{-1}$  de açúcares redutores (celobiose e/ou glicose), ou seja, 63% da celulose foi hidrolisada em 30 dias.

A Figura 26 destaca as mudanças nas colorações de diferentes soluções após a reação com o reagente DNS. Nota-se que, na presença de açúcares redutores, as soluções apresentam coloração mais escura. As soluções foram numeradas de 1 a 4, indicando respectivamente: 1) Água destilada; 2) Celulose ( $0,2 \text{ g L}^{-1}$ ) e éster  $0,1\%$  ( $t_0$ ); 3) Celulose ( $0,2 \text{ g L}^{-1}$ ) e éster  $0,1\%$  ( $t_{30}$ ); 4) Padrão de glicose.



**Figura 26:** Mudança de coloração de diferentes soluções com o reagente de DNS: 1) água destilada; 2) celulose e éster  $0,1\%$  ( $t_0$ ); 3) celulose e éster  $0,1\%$  ( $t_{30}$ ) e 4) solução padrão de glicose.

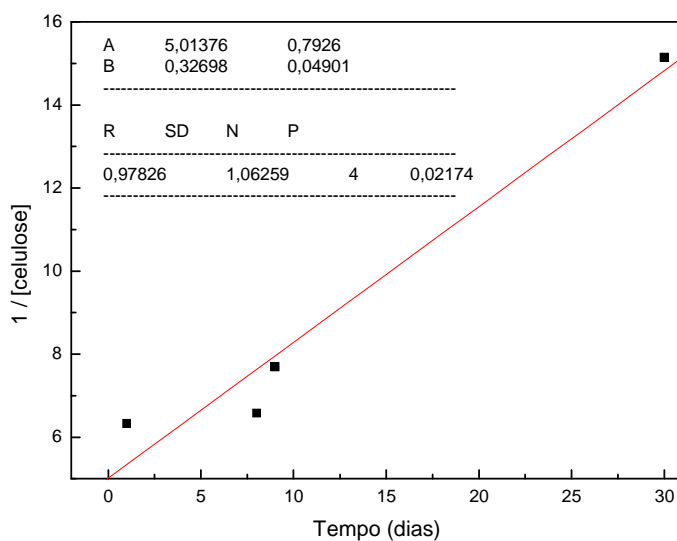
### 2.1.1. Estudo cinético da decomposição da celulose

Para o estudo cinético, construiu-se a Tabela 3 relacionando a concentração de celulose em solução ( $\text{g L}^{-1}$ ) e o respectivo tempo de decomposição (dias). Esses valores foram calculados com base na curva da Figura 27.

**Tabela 3** – Concentração de celulose em solução e o tempo de decomposição.

Concentração de celulose ( $\text{g L}^{-1}$ )	Tempo (dias)
0,158	1
0,152	8
0,13	9
0,066	30

Supondo a hidrólise da celulose como sendo uma reação de segunda ordem, uma vez que as análises espectrofotométricas indicam a presença de um intermediário na reação, também chamado de complexo aquoso, construiu-se um gráfico de  $1/[\text{celulose}]$  versus  $t$  (tempo) e fez-se uma interpolação linear (Figura 27) <sup>50</sup>.



**Figura 27:** Gráfico dos valores de  $1/[celulose]$  versus tempo, para a verificação de uma reação de segunda ordem.

Como não se sabe como a concentração da mistura de ésteres está relacionada com a concentração de celulose, fez-se o gráfico acima somente levando em consideração a concentração de celulose em  $g L^{-1}$ . Logo, assume-se que a expressão da lei de velocidade para essa reação é:

$$v = k[celulose]^2 \quad (14)$$

Onde  $v$  é a velocidade da reação, nesse caso dada em  $g L^{-1} dia^{-1}$ ,  $k$  é a constante de velocidade e  $[celulose]$  é a concentração da celulose em  $g L^{-1}$ .

Na interpolação linear, onde a equação da reta é dada por  $Y = A + BX$ ,  $B$  é o coeficiente angular da reta, e no caso do estudo cinético, assume o valor de  $k$ , o qual corresponde a um valor de  $0,327 g L^{-1} dia^{-1}$ . Tendo o valor de  $k$ , e a concentração

inicial de celulose, pode-se obter o tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) da reação de hidrólise. Assumindo a lei de velocidade dada pela equação 2.1., o valor de  $t_{1/2}$  é dado por:

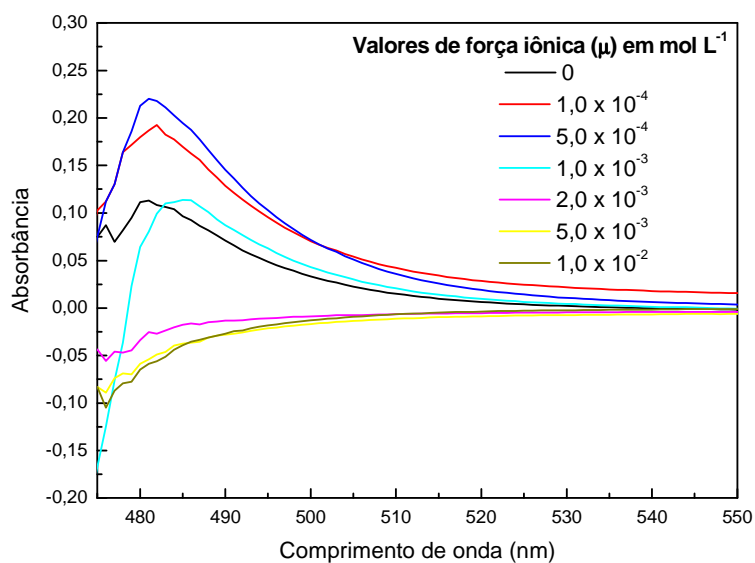
$$t_{1/2} = \frac{1}{k[\text{celulose}]_0} \quad (15)$$

Uma vez que a concentração inicial de celulose é de  $0,2 \text{ g L}^{-1}$ , o valor de  $t_{1/2}$  é igual a 15,29 dias. Como a celulose se decompõe por uma reação de segunda ordem, a mesma pode ainda existir durante longos períodos em concentrações muito baixas, pois o valor da meia-vida aumenta à medida que a celulose fica mais diluída.

## 2.2. Hidrólise das soluções de sacarose com NaCl

O gráfico da Figura 28 mostra os valores de absorvância em 485 nm, que correspondem as soluções de sacarose e NaCl hidrolisadas pela mistura de ésteres 0,1%. As bandas observadas indicam a presença de açúcares redutores, nesse caso, glicose e frutose, para diferentes valores de força iônica.





**Figura 28:** Gráfico correspondente aos valores de absorbância em 485 nm, indicando a formação de glicose e frutose a partir de diferentes soluções de sacarose e NaCl.

Tomando-se os valores de absorbância da Figura 28 e comparando com os valores de concentração de glicose ( $\text{g L}^{-1}$ ), apresentados na curva analítica da Figura 21, sabe-se a quantidade de açúcares redutores ( $\text{g L}^{-1}$ ) que foram formados a partir da reação de sacarose e NaCl com a mistura de ésteres. Sabendo-se que um mol de glicose e um mol de frutose possuem peso molecular de  $180,16 \text{ g mol}^{-1}$ , a Tabela 4 mostra os valores de concentração de glicose e frutose, em  $\text{g L}^{-1}$ , e seus respectivos valores em  $\text{mol L}^{-1}$ .

Tabela 4 - Concentração de glicose e frutose em  $\text{g L}^{-1}$  e em  $\text{mol L}^{-1}$ 

Concentração de glicose e frutose ( $\text{g L}^{-1}$ )	Concentração de glicose e frutose ( $\text{mol L}^{-1}$ )
0,120	$6,66 \times 10^{-4}$
0,175	$9,71 \times 10^{-4}$
0,180	$9,99 \times 10^{-4}$
0,128	$7,10 \times 10^{-4}$
0,058	$3,22 \times 10^{-4}$
0,054	$3,0 \times 10^{-4}$
0,056	$3,11 \times 10^{-4}$

A Figura 29, portanto, mostra as forças iônicas das sete soluções de sacarose com NaCl e as respectivas concentrações de glicose e frutose ( $\text{mol L}^{-1}$ ), obtidas da hidrólise de cada solução.

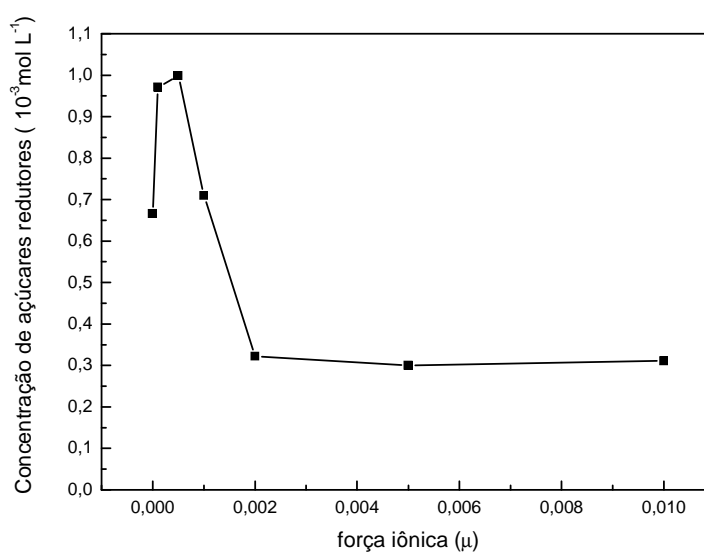


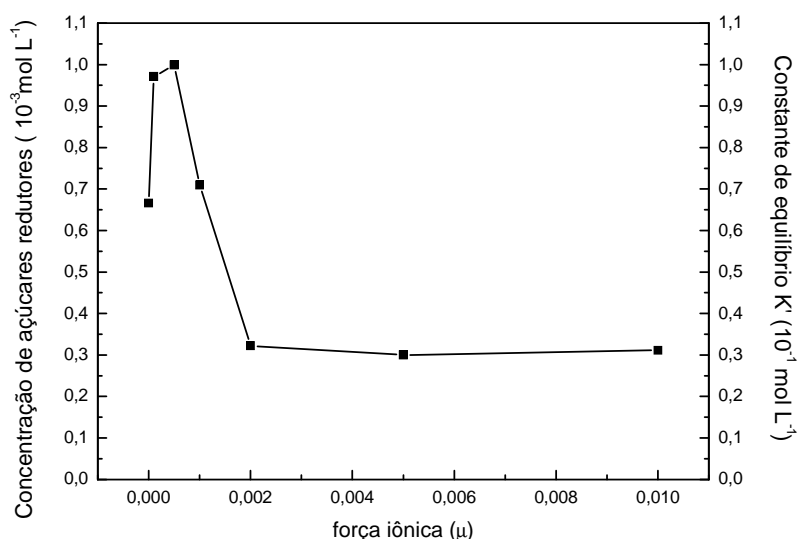
Figura 29: Gráfico correspondente as concentrações de glicose e frutose ( $\text{mol L}^{-1}$ ) pelos respectivos valores de força iônica ( $\mu$ ).

Observa-se na Figura 29 que numa força iônica correspondente a zero, ou seja, na solução de sacarose e éster 0,1%, de concentração  $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> onde não foi adicionado o NaCl, a concentração de açúcares redutores formados, foi de  $6,66 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>. Quando se adiciona NaCl a uma solução de mesma concentração, nota-se que o valor obtido de açúcares redutores aumenta, até chegar a um valor máximo, que corresponde a uma força iônica igual a  $5,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>. Nesse ponto, a concentração de açúcares redutores formados foi igual a  $9,99 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>. Isso indica que, partindo-se de uma solução  $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de sacarose, essa foi 99% hidrolisada. Devido ao longo tempo de hidrólise (dois meses), conclui-se que ainda há a formação de um complexo aquoso antes mesmo da decomposição da sacarose, porém esse complexo é mais facilmente desfeito no valor de força iônica descrito.

No entanto, à medida que uma quantidade maior de NaCl é adicionada (força iônica maior), uma menor quantidade de glicose e frutose é formada. Pode-se supor que quantidades acima de  $5,0 \times 10^{-4}$  mol de NaCl impedem a mistura de ésteres de realizar a decomposição da sacarose. Com isso, duas hipóteses podem ser levantadas: a primeira, de que determinada quantidade de sal impede a formação do complexo aquoso, e a segunda, de que há a formação de um complexo aquoso, porém, após esta etapa, não há a formação de açúcares redutores.

### 2.2.1. Cálculo da constante de equilíbrio das reações de hidrólise da sacarose e NaCl

A partir dos valores de concentração de glicose e frutose ( $\text{mol L}^{-1}$ ), é possível calcular as constantes de equilíbrio ( $K'$ ), pela equação 7. Esses valores são mostrados no gráfico abaixo (Figura 30), que mostra as concentrações de açúcares redutores ( $\text{mol L}^{-1}$ ) e as constantes de equilíbrio  $K'$ , em função da força iônica. Esse gráfico equivale ao gráfico apresentando anteriormente na Figura 29, porém, adicionando-se os valores de  $K'$ .



**Figura 30:** Gráfico correspondente as concentrações de açúcares redutores ( $\text{mol L}^{-1}$ ) e constantes de equilíbrio  $K'$  em função dos valores de força iônica ( $\mu$ ).

Tendo-se os valores de  $K'$ , obtêm-se os valores de  $K$ , que são as constantes de equilíbrio termodinâmicas, que levam em consideração os coeficientes de atividade dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  em solução. Em diluições infinitas, onde a força iônica é igual a zero, o valor do coeficiente de atividade ( $\gamma$ ) é igual a 1, como mostra a equação 6. Conseqüentemente, o valor da constante de equilíbrio  $K'$  (calculado

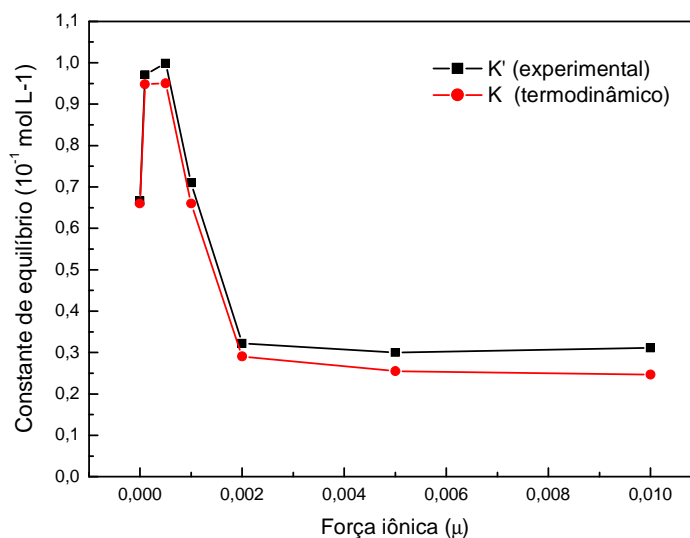
experimentalmente) é igual ao valor da constante de equilíbrio termodinâmica K (equação 8).

Os valores de K, calculados utilizando-se a equação 11, são mostrados na Tabela 5, comparados com os valores experimentais de K'.

**Tabela 5** – Valores de constantes de equilíbrio experimentais (K') e os respectivos valores de constantes de equilíbrio termodinâmicas (K).

K' (mol L <sup>-1</sup> )	K (mol L <sup>-1</sup> )
6,66 × 10 <sup>-1</sup>	6,60 × 10 <sup>-1</sup>
9,71 × 10 <sup>-1</sup>	9,48 × 10 <sup>-1</sup>
9,99 × 10 <sup>-1</sup>	9,50 × 10 <sup>-1</sup>
7,10 × 10 <sup>-1</sup>	6,59 × 10 <sup>-1</sup>
3,22 × 10 <sup>-1</sup>	2,91 × 10 <sup>-1</sup>
3,0 × 10 <sup>-1</sup>	2,55 × 10 <sup>-1</sup>
3,11 × 10 <sup>-1</sup>	2,47 × 10 <sup>-1</sup>

A seguir, é apresentado um gráfico das constantes de equilíbrio, K' e K, em função da força iônica (Figura 31).



**Figura 31:** Valores das constantes de equilíbrio,  $K'$  e  $K$ , com relação aos valores de força iônica ( $\mu$ ).

Para avaliar a espontaneidade da reação, utilizou-se a função denominada *energia livre*, a qual inclui tanto a energia, quanto a entropia do sistema. Para que a reação ocorra, a energia livre do sistema deve diminuir. Para reações químicas à temperatura e pressão constantes, a função energia livre que atinge um mínimo no equilíbrio é denominada **energia livre de Gibbs**<sup>51, 52</sup>. No caso de um equilíbrio, onde todas as espécies estão em solução, pode-se escrever:

$$\Delta G = -RT \ln \frac{A_C^c A_D^d}{A_A^a A_B^b} \quad (16)$$

Substituindo-se os valores de atividade por  $K$ , tem-se:

$$\Delta G = -RT \ln K \quad (17)$$

Com essas informações, e com os valores das constantes de equilíbrio calculadas anteriormente, pode-se obter os valores das energias livre de Gibbs para a reação de hidrólise da sacarose em meio neutro, admitindo R (constante dos gases) como  $8,3144 \text{ J mol}^{-1}\text{K}^{-1}$ , e T como  $298 \text{ K}$  ( $25^\circ \text{C}$ ).

A Tabela 6 relaciona os valores das constantes de equilíbrio termodinâmicas e os valores calculados das energias livres.

**Tabela 6** – Valores das constantes de equilíbrio (K) e energias livres ( $\Delta G$ ).

Constante de equilíbrio (K) ( $\text{mol L}^{-1}$ )	Energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ ) (J)
$6,60 \times 10^{-1}$	1.029,51
$9,48 \times 10^{-1}$	132,31
<b><math>9,50 \times 10^{-1}</math></b>	<b>127,09</b>
$6,60 \times 10^{-1}$	1.029,51
$2,91 \times 10^{-1}$	3.058,54
$2,55 \times 10^{-1}$	3.385,74
$2,47 \times 10^{-1}$	3.464,72

Os valores em destaque na Tabela 6 indicam o ponto em que a constante de equilíbrio apresentou seu valor mais alto, e conseqüentemente, o valor da energia livre foi o mais baixo. Como visto anteriormente, esse valor de K se dá quando a força iônica da solução de sacarose e NaCl em éster 0,1% foi de  $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Sabe-se que a presença de açúcares redutores nessa solução está em maior quantidade,

ou seja, a reação é mais favorável no sentido da formação dos produtos. Portanto, o valor da energia livre é menor.

No presente estudo, nota-se que os valores de  $\Delta G$  são sempre positivos, e então, os valores de  $K$  são sempre menores que 1. Isso significa que em todos os casos, ainda há certa quantidade de reagentes no equilíbrio <sup>52</sup>.



# **Conclusões e sugestões para trabalhos futuros**

Conclui-se, a partir deste trabalho, que os produtos de hidrólise da sacarose foram quantificados, respeitando-se a estequiometria da reação química, onde 1 mol de sacarose produz 1 mol de glicose e 1 mol de frutose. O mecanismo da reação mostrou-se de acordo com a literatura <sup>6</sup>, pois ocorre a formação de um complexo que define a velocidade da reação de hidrólise, sendo portanto, uma reação de segunda ordem, pois há a formação de um intermediário.

A estabilidade do complexo aquoso se dá em oito dias de reação, após esse período, ocorre a formação dos produtos finais. Esse tempo é independente do tamanho do açúcar e do tipo da ligação glicosídica, pois a sacarose é um dissacarídeo de ligação  $\alpha$ -1,2 e a celulose é um polissacarídeo de ligação  $\beta$ -1,4.

Com relação à cinética de decomposição da celulose, além da verificação da ordem da reação, pode-se calcular o tempo de meia-vida, e conclui-se que metade da concentração da celulose foi hidrolisada em 15,29 dias. Não se sabe em qual proporção a mistura de ésteres reage com a celulose, uma vez que, conhecendo-se essa interação, tanto a lei de velocidade, como o tempo de meia-vida podem ser diferentes do que os valores calculados. Esse trabalho, portanto, faz uma hipótese com relação ao estudo cinético.

Na análise das soluções de sacarose com NaCl, pode-se comprovar que a força iônica do meio reacional interfere na formação de glicose e frutose. Porém, ainda houve a formação de um complexo aquoso antes da formação dos açúcares redutores, uma vez que a reação de hidrólise, mesmo com a adição de sal, não foi instantânea. Se uma grande quantidade de NaCl for adicionada, entretanto, esta vai interferir na decomposição da sacarose, pois a formação de glicose e frutose tende a diminuir. Nesse caso, também se trabalha com hipóteses de que não há formação de um

complexo aquoso, devido às interações entre o sal e o éster, ou então, existe a formação de um intermediário, porém o mesmo não se desfaz e não ocorre a formação de açúcares redutores.

Como sugestões para trabalhos futuros, pode-se realizar o estudo de hidrólise em meio neutro utilizando-se outros açúcares, como por exemplo, a N-acetilglicosamina e o ácido N-acetil murâmico, ambos os açúcares constituintes da parede celular de bactérias Gram-negativas.

Um polissacarídeo, também de grande interesse, é a dextrana, responsável pelo entupimento de dutos na indústria sucroalcooleira, reduzindo a porcentagem do etanol produzido. Como sugestão, pode-se realizar o estudo da decomposição da dextrana utilizando-se a mistura de ésteres derivados do óleo de mamona, e observar se ocorre a hidrólise.

A rafinose, um trissacarídeo presente em diversos alimentos, como feijão, soja e leguminosas em geral, apresenta os monossacarídeos galactose, glicose e frutose. A galactose e a glicose estão unidas por uma ligação  $\alpha$ -1,6. O ácido clorídrico presente no estômago não é capaz de hidrolisar essa ligação, uma vez que ela é decomposta apenas por bactérias presentes no intestino, causando mal estar e desconforto abdominal <sup>22, 53</sup>. Como sugestão de trabalho futuro, pode-se realizar o estudo da rafinose utilizando a mistura de ésteres e comprovar se a ligação  $\alpha$ -1,6 pode ser desfeita.

Outros estudos podem ser realizados, reagindo a celulose nativa diretamente com a mistura de ésteres e observar se há a mudanças na textura e na massa das amostras. Além da celulose, pode-se realizar o estudo com o amido, importante polissacarídeo de reserva energética.

Pode-se também, realizar o estudo de hidrólise de carboidratos em meio neutro, utilizando-se diretamente, alimentos ricos em açúcares, como as frutas e observar mudanças significativas, tanto no gosto quanto no amadurecimento das mesmas.

# **Referências bibliográficas**

## Referências bibliográficas

---

1. BARBOSA, L. C. A. **Introdução à química orgânica**. São Paulo: Prentice Hall, 2004. 311 p.
2. HART, H.; SCHUETZ, R. D. **Química orgânica**. Rio de Janeiro: Campus, 1983. 411 p.
3. SOLOMONS, G.; FRYHLE, C. **Química Orgânica**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos, 2002. 474 p.
4. STRYER, L. **Bioquímica**. Barcelona: Editorial Reverte, 1975. 876 p.
5. LEHNINGER, A. L. **Bioquímica**. São Paulo: Edgard Blücher, 1976. 262 p.
6. DAVID, S. **Chimie moléculaire et supramoléculaire des sucres**. Paris: InterÉditions, 1995. 300 p.
7. THE MERK Index: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. Rahway: Merck & Co, 1983. 1463 p.
8. LEDERKREMER, R. M.; VARELA, O. **Hidratos de carbono**. Buenos Aires: Eva V. Chesneau, 1988. 144 p.
9. FAN, L. T.; GHARPURAY, M. M.; LEE, Y. H. **Cellulose hydrolysis**. Berlim: Springer – Verlag, 1987. 198 p.
10. SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentals of analytical chemistry**. Belmont: Thomson Learning, 2004. 1051 p.
11. PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to spectroscopy: a guide for students of organic chemistry**. 2. ed. Forth Worth: Harcourt Brace College, 1996. 511 p.
12. MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

## Referências bibliográficas

---

13. LOBATO, A. K. C. L.; ARAÚJO, M. M. S.; MACEDO, G. R. Acompanhamento do crescimento da biomassa e síntese de biosurfactantes por microorganismos isolados de poços de petróleo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE P&D EM PETRÓLEO & GÁS, 2. 2003, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Associação Brasileira de P&D em Petróleo e Gás, 2003. p. 3.
14. SANTACRUZ, S.; ANDERSON, R.; AMAN, P. Characterisation of potato leaf starch with iodine-staining. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, p. 397-400, 2004.
15. XIAO, Z.; STORMS, R.; TSANG, A. A quantitative starch-iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities. **Analytical Biochemistry**, v. 351, p. 146-148, 2006.
16. ARAÚJO, M. A.; CUNHA, MOTA, M. Enzymatic degradation of starch-based thermoplastic compounds used in prostheses: identification of the degradation products in solution. **Biomaterials**, v. 25, p. 2687-2693, 2004.
17. COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução à métodos cromatográficos**. Barão Geraldo: Editora da Universidade Estadual de Campinas, 1997. 279 p.
18. LANÇAS, F. M. **Extração em fase sólida (SPE)**. São Carlos: Rima, 2004. 93 p.
19. CHRISTENSEN, G. M. Identification of sugars in royal jelly. **Nature**, v. 195, p. 74-75, 1962.
20. CHAMPAGNOL, F.; BOURZEIX, M. Identification des sucres contenus dans un extrait vegetal ET evaluation de leurs teneurs individuelles par chromatographie et photodensitometrie. **Journal of Chromatography**, v. 59, p. 472-475, 1971.
21. BOSCH-REIG, F.; MARCOTE, M. J.; MINANA, M. D.; CABELLO, M. L. Separation and identification of sugars and maltodextrines by thin layer chromatography: application to biological fluids and human milk. **Talanta**, v. 39, p. 1493-1498, 1992.
22. VIANA, S. F.; GUMARÃES, V. M.; JOSÉ, I. C.; OLIVEIRA, M. G. A.; COSTA, N. M. B.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A.; REZENDE, S. T. Hydrolysis of oligosaccharides in soybean flour by soybean  $\alpha$ -galactosidase. **Food Chemistry**, v. 93, p. 665-670, 2005.

## Referências bibliográficas

---

23. LEITE, J. M. C.; TRUGO, L. C.; QUINTEIRO, L. M. C.; BART, O. M.; DUTRA, V. M. L.; MARIA, C. A. B. Determination of oligosaccharides in brazilian honeys of different botanical origin. **Food Chemistry**, v. 70, p. 93-98, 2000.
24. SWALLOW, K. W.; LOW, N. H. Analysis and quantification of carbohydrates in honey using high-performance liquid chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, p. 1828-1832, 1990.
25. ROBARDS, K.; WHITELOW, M. Chromatography of monosaccharides and disaccharides. **Journal of Chromatography**, v. 372, p. 81-110, 1986.
26. BERNÁRDEZ, M. M.; MIGUÉLEZ, J. M.; QUEIJEIRO, J. G. HPLC determination of sugars in varieties of chestnut fruits from Galicia (Spain). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 17, p. 63-67, 2004.
27. TSANGALIS, D.; SHAH, N. P. Metabolism of oligosaccharides and aldehydes and production of organic acids in soymilk by probiotic bifidobacteria. **International Journal of Food Science and Technology**, n. 39, p. 541-554, 2004.
28. LOMBARD, A.; BUFFA, M.; MANINO, A.; PATETTA, A. Identification of raffinose in honeydew. **Experientia**, v. 40, n. 2, p. 178-180, 1984.
29. CLEMENT, A.; YONG, D.; BRECHET, C. Simultaneous identification of sugars by HPLC using evaporate light scattering detection (ELSD) and refractive index detection (RI). Application to plant tissues. **Journal of Liquid Chromatography**, v. 15, n. 5, p. 805-817, 1992.
30. KENNEDY, I. R.; MWANDEMELE, O. D.; MCWHIRTER, K. S. Estimation of sucrose, raffinose and stachyose in soybean seeds. **Food Chemistry**, v. 17, p. 85-93, 1985.
31. HARRIS, D. **Análise química quantitativa**. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos, 2005. 876 p.
32. LAITINEN, H. A.; HARRIS, W. E. **Chemical analysis**. Tokyo: McGraw-Hill, 1975. 611 p.



## Referências bibliográficas

---

33. MAMONA. Disponível em:  
<<http://www.iac.sp.gov.br/Tecnologias/Mamona/Mamona.htm>>. Acesso em: 12 ago. 2009.
34. CLARO NETO, Salvador. **Caracterizações físico-químicas de um poliuretano derivado de óleo de mamona utilizado para implantes ósseos**. 1997. 171 f. Tese (Doutorado em Ciências - Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.
35. OSHITA, Daniele. **Extração de contaminantes oriundos de águas de curtumes usando espumas de poliuretana derivadas de óleo vegetal**. 2005. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.
36. TRANSESTERIFICAÇÃO do óleo de mamona. Disponível em:  
<<http://www.poliuretanos.com.br/>>. Acesso em: 12 ago. 2009.
37. OLIVEIRA, Maria Gabriela Rabelo. **Estudo da decomposição de sacarose por hidrólise utilizando uma mistura de ésteres derivados do óleo de mamona**. 2005. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.
38. FERREIRA, C. M.; ROSA, O. P. S.; TORRES, S. A.; FERREIRA, F. B. A.; BERNARDINELLI, N. Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria. **Brazilian Dental Journal**, v. 13, n. 2, p. 118-122, 2002.
39. MEDICI, M. C.; FRÖNER, I. C. A scanning electron microscopic evaluation of different root canal irrigation regimens. **Brazilian Oral Research**, v. 20, n. 3, p. 235-240, 2006.
40. FERREIRA, C. M.; BONIFÁCIO, K. C.; FRÖNER, I. C.; ITO, I.Y. Evaluation of the antimicrobial activity of three irrigating solutions in teeth with pulpal necrosis. **Brazilian Dental Journal**, v. 10, n. 1, p. 15-21, 1999.
41. LEONARDO, M. R.; SILVA, L. A. B.; TANOMARU FILHO, M.; BONIFÁCIO, K. C.; ITO, I. Y. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of a castor oil – based irrigant. **Journal of Endodontics**, v. 27, n. 12, p. 717-719, 2001.

## Referências bibliográficas

---

42. MESSETTI, M. A.; SANTOS, A. M.; ANGELIS, D. F.; DALFRÉ, I. A. B.; CHIERICE, G. O.; CLARO NETO, S. Viabilidade de *Escherichia coli* CCT 1457 in vitro sob atividade antimicrobiana do Poliquilgerm<sup>®</sup> derivado do óleo de *Ricinus communis* L. (mamona). In: WORKSHOP INTERNACIONAL SOBRE MICROBIOLOGIA AMBIENTAL, 1., 2005, Campinas. **Livro de resumos...** Campinas: Laboratório de Sistemáticas e Fisiologia Microbiana da Faculdade de Engenharia de Alimentos, 2005.
43. BERTOLETTI, A. C. D.; SANTOS, A. M.; ANGELIS, D. F.; CHIERICE, G. O.; CLARO NETO, S. Viabilidade de *Cândida albicans* CCT 0776 in vitro sob atividade antimicrobiana do Poliquilgerm<sup>®</sup> derivado do óleo de *Ricinus communis* L. (mamona). In: ENCONTRO DE BIÓLOGOS DO CRBio – 1, 15., 2004, São Pedro. **Livro de resumos...** São Paulo: Conselho Regional de Biologia, p. 142, 2004.
44. MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – parte II. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78, n. 5, p. 525-542, 2003.
45. SUPELCO. **Note 126**: catálogo. Bellefonte, PA: Sigma-Aldrich, 1997. 2 p.
46. SUPELCO. **Food and Beverage**: catálogo. Bellefonte, PA: Sigma-Aldrich, 1995. 2 p.
47. SUPELCO. **Bulletin**: catálogo. 887 B. Bellefonte, PA: Sigma-Aldrich, 1999. 8 p.
48. GRANITO, M.; FRIAS, J.; DOBLADO, R.; GUERRA, M.; CHAMP M.; VIDAL-VALVERDE, C. Nutritional improvement of beans (*Phaseolus vulgaris*) by natural fermentation. **European Food Research Technology**, v. 214, p. 226-231, 2002.
49. CHEETHAM, N. W. H.; SIRIMANNE, P. High-performance liquid chromatographic separation of carbohydrate oligomers. **Journal of Chromatography**, v. 207, p. 439-444, 1981.
50. ATKINS, P. W. **Físico-química**. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos, 1999. v. 3.
51. ATKINS, P.; PAULA, J. **Físico-química**. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos, 2003. 356 p.

## Referências bibliográficas

---

52. MAHAN, B. M.; MYERS, R. J. **Química**: um curso universitário. São Paulo: Edgard Blücher, 2003. 582 p.

53. VILLALUENGA, C. M.; FRÍAS, J.; VALVERDE, C. V. Raffinose family oligosaccharides and sucrose contents in 13 Spanish lupin cultivars. **Food Chemistry**, v. 91, p. 645-649, 2005.