



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE**  
**ALIMENTOS**

**LUIZ BRUNO DE SOUSA SABINO**

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE**  
**ANTIOXIDANTE *IN VITRO* E *IN VIVO* DE FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS**  
**EXTRAÍDAS A PARTIR DE SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS DE FRUTAS**  
**TROPICAIS**

**FORTALEZA**

**2015**

LUIZ BRUNO DE SOUSA SABINO

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE  
*IN VITRO* E *IN VIVO* DE FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS EXTRAÍDAS A PARTIR DE  
SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS DE FRUTAS TROPICAIS

Dissertação apresentada submetida à  
Coordenação de Pós-Graduação em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos, do Centro de Ciências  
Agrárias da Universidade Federal do Ceará,  
como requisito parcial para obtenção do título de  
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Área de concentração: Ciência e Tecnologia de  
Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Machado  
de Sousa.

Co-orientador: Prof. Dr. Raimundo Wilane de  
Figueiredo.

FORTALEZA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

- 
- S121c Sabino, Luiz Bruno de Sousa.  
Caracterização química e determinação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* de frações polissacarídicas extraídas a partir de subprodutos agroindustriais de frutas tropicais / Luiz Bruno de Sousa Sabino. – 2015.  
116f. : il., color. ; 30 cm.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2015.  
Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.  
Orientação: Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa.  
Coorientação: Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo.
1. Subprodutos de frutas. 2. Antioxidantes. 3. Frutas tropicais. I. Título.

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE  
*IN VITRO* E *IN VIVO* DE FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS EXTRAÍDAS A PARTIR DE  
SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS DE FRUTAS TROPICAIS

Dissertação submetida à Coordenação de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

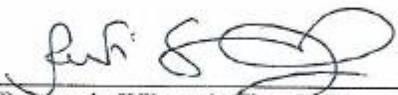
Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos

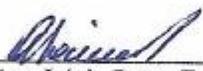
Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa.

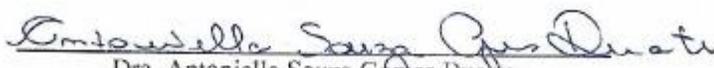
Co-orientador: Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo.

Dissertação aprovada em: 20 / 02 / 2015

BANCA EXAMINADORA

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo  
(PRESIDENTE)

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Ana Lúcia Ponte Freitas  
(MEMBRO)

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Antonielli Souza Gomes Duarte  
(MEMBRO)

Ao meu bom Deus,  
À minha amada avó Valdelice,  
Aos meus pais, Paulo e Neurice,

**Dedico.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus por me conduzir sempre pelos caminhos certos, pela Sua infinita misericórdia, amor incondicional e grandeza.

A Universidade Federal do Ceará (UFC), em especial àqueles que fazem parte do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, por tornarem possível a realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos que foi essencial para o desenvolvimento da presente pesquisa.

Agradeço ao meu orientador, Professor Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa que me acompanhou desde a iniciação científica, por estar sempre ao meu lado acreditando nas minhas ideias, apontando meus erros, pela amizade, sinceridade, paciência e confiança que me foi investida.

Ao meu co-orientador Professor Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo pela forma acolhedora que sempre me recebeu, por todas as palavras de otimismo, incentivo e afeto. Obrigado por me fazer acreditar no meu potencial, pelas lições e principalmente pelo exemplo de profissional. Sou imensamente grato.

À Dra. Maria Leônia Gonzaga que foi uma das idealizadoras da presente pesquisa. Obrigado por ter sido meu porto seguro em diversos momentos, principalmente no decorrer das análises. Obrigado pela presença, pela paciência e principalmente por todo o carinho e por ser essa pessoa sempre disposta a ajudar a todos. Levarei suas lições para toda a vida.

À Dra. Luciana Siqueira pela ajuda, companheirismo, dedicação e amizade. Obrigado por estar ao meu lado, colaborando com as análises principalmente na parte *in vivo*, cujo apoio foi fundamental para o desenvolvimento da presente pesquisa de dissertação.

Ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, na figura da Professora Dra. Professora Nágila Ricardo e toda equipe do Laboratório de Polímeros, em especial a Arcelina e ao Igor, pela atenção e apoio com as análises que tive que desenvolver junto a eles.

À Embrapa na figura do Professor Professor Dr. Edy Sousa Brito e a técnica Lorena Mara Alexandre do Laboratório de Produtos Naturais, pela atenção e apoio com as análises de ressonância magnética.

Ao Departamento de Morfologia da Universidade Federal do Ceará, na figura da Professora Dra. Antoniella Souza Gomes Duarte pela preciosa colaboração, gentileza e atenção que foi me dada no desenvolvimento das análises *in vivo*.

Ao Departamento de Bioquímica e Microbiologia da Universidade Federal do Ceará, na figura da Professora Dra. Ana Lúcia Ponte Freitas, pela especial atenção, compreensão e disposição em participar da minha banca, desde a qualificação desta pesquisa até o momento final.

À Central Analítica da Universidade Federal do Ceará pela realização das análises de microscopia.

À Professora Dra. Evânia Altina Teixeira de Figueiredo pelas lições que sempre me foram dadas. Obrigado por acreditar no meu potencial, pelo estímulo e pela amizade.

Aos professores e funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, pelos ensinamentos e convivência durante os cursos de graduação e mestrado. Em especial ao Senhor Luiz que sempre esteve disposto a me ajudar, sendo verdadeiramente um bom amigo. Ao José Pereira, cuja amizade vem desde a graduação, muito obrigado pela atenção, carinho e gentileza de sempre. Ao secretário do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Paulo Mendes, pela atenção e amizade.

Aos funcionários do Laboratório de Frutos e Hortaliças Sra. Hilda, Sr. Omar e Luci pela amizade, companheirismo e carinho.

Aos amigos do Laboratório de Frutos e Hortaliças Alessandra Carneiro, Dayse Karine, Giovana Matias, Kelvianny Lino, Leilanne Márcia, Lianderson Matheus, Maria Amanda, Mayla Rodrigues, Nara Vieira, Natália Sucupira, Natália Kellen, Patrícia Marques, Samuel Brito, Samira Pereira e Winne Carvalho, pela amizade, companheirismo e momentos de descontração. Um obrigado especial aos bolsistas de iniciação científica Kelvianny e Samuel pela gentil colaboração nas análises.

Às minhas queridas amigas e companheiras de Pós-Graduação Ana Cristina, Denise Josino, Larissa Morais, Jorgiane Lima e Marina Silveira por todos os momentos que marcaram

nossa trajetória acadêmica. Pela parceria, pelos risos, por todos os projetos que desenvolvemos juntos, pela sinceridade e carinho sempre. Obrigado por fazerem parte da minha vida.

Aos meus amigos Àdila Moreira, Alysso Pontes, Angelinne Costa, Carlos Felipe, Jéssica Carmo, Dandara Brasil, Diogo Rocha, Eduardo Aguiar, Eduardo Carneiro, Jonael Pontes, Leidiane Alves, Lidiane Lessa, Luiza Santana, Mariana Ellery, Miguel Nunes, Marília Silva, Mazé Carvalho, Mayara Salgado, Patrícia Sales, Renata Pontes e Roseane Ferreira pela valiosa amizade e por todos os momentos de descontração. Em especial à Patrícia Sales por todo sentimento bom, por estar sempre ao meu lado, por todo o amor, sem exceção.

À minha amada avó Valdelice, a quem dedico em especial essa etapa da minha vida, por sempre torcer por mim, por todo o amor e companheirismo que marcaram minha infância e principalmente por estar comigo até hoje.

Aos meus amados pais, Paulo e Neurice por todo esforço e dedicação que me foram investidos durante todos esses anos. Pelo amor, pelo carinho, pelas palavras, pela compreensão, pela educação. Serei eternamente grato por tudo e é por vocês que eu busco ser alguém melhor dia após dia.

À minha irmã Isilda por todo o carinho e por todos os momentos bons que passamos juntos. Aos meus sobrinhos Isabelly e Iago pela alegria que sempre me proporcionam e por serem as pessoas que fazem querer sempre seguir em frente.

Aos meus tios Lourdes e Dechol por terem me recebido em sua casa de braços abertos. Obrigado pelo afeto e atenção sempre.

À minha prima Nayara por ser minha irmã de coração. Pela amizade, companheirismo e cumplicidade de tantos anos. Obrigado por fazer meus dias alegres e por sempre estar presente.

Enfim, obrigado a todos que participaram da minha vida e que contribuíram de alguma forma para o desenvolvimento da presente pesquisa.

*“A inteligência é o único meio que possuímos  
para dominar os nossos instintos.”*

**Sigmund Freud**

## RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi caracterizar a estrutura química e investigar a atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* de frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos do processamento da acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá. Utilizando a extração aquosa exaustiva, um maior rendimento em massa foi obtido para a fração extraída do subproduto da manga (20%) que foi superior ao apresentado pela aquela proveniente do abacaxi e acerola em 96 e 87%, respectivamente. Os espectros de infravermelho apontaram atribuições de grupos químicos típicos de polissacarídeos, tais como OH ( $3000 - 3500 \text{ cm}^{-1}$ ), CO ( $1034 \text{ cm}^{-1}$ ), C-O-C ( $1150 \text{ cm}^{-1}$ ) e C1-H ( $1079, 929 \text{ e } 858 \text{ cm}^{-1}$ ). Sinais de  $^{13}\text{C}$ -RMN em  $\delta$  100 e 170,6, presentes em todos os materiais, indicaram a presença de ácido galacturônico e urônico, respectivamente, evidenciando a natureza pectínica dos mesmos. Maior massa molar foi atribuída para a fração obtida do subproduto da manga ( $1,54 \times 10^6 \text{ g/mol}$ ) seguido do maracujá ( $3,69 \times 10^5 \text{ g/mol}$ ), acerola, abacaxi e caju ( $\sim 10^4 \text{ g/mol}$ ). O conteúdo de proteínas variou de 0,25 (abacaxi) a 0,68% (caju) concordando com o evidenciado pelo espectro de infravermelho que é  $1242 \text{ cm}^{-1}$  para estas moléculas. Maior atividade antioxidante total e menor  $\text{IC}_{50}$  foi verificada para a fração polissacarídica proveniente do caju ( $147 \pm 4,1 \mu \text{ Trolox/g}$  e  $0,03 \text{ mg/mL}$ , respectivamente). As frações obtidas da acerola, abacaxi, maracujá ( $\text{IC}_{50} = 0,05 \text{ mg/mL}$ ) e manga ( $\text{IC}_{50} = 0,33 \text{ mg/mL}$ ) também apresentaram baixo  $\text{IC}_{50}$  indicando a eficiência desses materiais na eliminação dos radicais de  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  em baixas concentrações. O ensaio com o MTT indicou a não toxicidade das frações poliméricas estudadas mesmo quando avaliados em concentrações de 100%. A atividade antioxidante *in vivo* demonstrou que os materiais provenientes da acerola, abacaxi e caju foram eficientes ( $p < 0,05$ ) na manutenção dos níveis de GSH e redução de MDA na mucosa gástrica de ratos estressados com etanol 50%. As frações polissacarídicas da manga e maracujá apresentaram os resultados menos satisfatórios nos dois testes antioxidantes, o que pode ser atribuído a sua elevada massa molar e viscosidade. Em conjunto, os resultados apresentados na presente pesquisa apontaram que as frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos estudados apresentaram natureza pectínica em associação com proteínas, sendo evidenciada principalmente para aquelas extraídas da acerola, abacaxi e caju, efetiva ação antioxidante *in vitro* e *in vivo*, sugerindo sua possível aplicação como antioxidantes naturais.

**Palavras-chave:** Subprodutos de frutas,  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , MTT, GSH, MDA

## ABSTRACT

The aim of this work was to characterize the chemical structure and investigate the antioxidant activity *in vitro* and *in vivo* of polysaccharide fractions extracted from by-products of acerola, pineapple, cashew, mango and passion fruit processing. Using the exhaustive aqueous extraction, a greater mass yield was obtained for the polysaccharide fraction extracted of the mango by-product (20%) which was higher than that from the pineapple and acerola at 96 and 87%, respectively. The infrared spectra showed typical assignment of polysaccharides chemical groups such as OH (3000 - 3500  $\text{cm}^{-1}$ ), CO (1034  $\text{cm}^{-1}$ ), C-O-C (1150  $\text{cm}^{-1}$ ) and H-C1 (1079, 929 and 858  $\text{cm}^{-1}$ ).  $^{13}\text{C}$ -NMR signals at  $\delta$  170.6 and 100, present in all material, indicated the presence of uronic and galacturonic acid, respectively, showing the nature of such pectin. High molecular weight was assigned to the fraction obtained of mango by-product ( $1.54 \times 10^6$  g/mol) followed by passion fruit ( $3.69 \times 10^5$  g / mol) and acerola, pineapple and cashew ( $\sim 10^4$  g/ mol). The protein content ranged from 0.25 (pineapple) to 0.68% (cashew), agreeing with the evidenced by the infrared spectrum which is 1242  $\text{cm}^{-1}$  for these molecules. Major total antioxidant activity and minor  $\text{IC}_{50}$  were observed for the polysaccharide fraction of cashew ( $147 \pm 4.1$   $\mu\text{M}$  Trolox/g and 0.03 mg/mL, respectively). The fractions obtained from acerola, pineapple, passion fruit ( $\text{IC}_{50} = 0,05$  mg/mL) and mango ( $\text{IC}_{50} = 0.33$  mg/mL) also had low  $\text{IC}_{50}$ , indicating the efficiency of these materials in the elimination of  $\text{ABTS}\cdot+$  radical in low concentrations. The MTT assay indicated that no toxicity of the polymeric fractions studied even when evaluated at concentrations of 100%. The total antioxidant activity *in vivo* showed that materials prevent of acerola, pineapple and cashew were efficient ( $p < 0.05$ ) in maintaining the levels of GSH and MDA reduction in gastric tissue of rats stressed with ethanol 50%. The polysaccharides fractions of mango and passion fruit exhibited less satisfactory results in both antioxidants tests, which may be assigned to its high molecular weight and viscosity. Together, the results presented in this study, showed that the polysaccharide fractions extracted from by-products studied had pectic nature in association with proteins, which highlighted, especially for those taken from the cherry, pineapple and cashew, effective antioxidant action *in vitro* and *in vivo*, suggesting their possible application as natural antioxidants.

**Key-words:** By-products of fruit,  $\text{ABTS}\cdot+$ , MTT, GSH, MDA

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	<b>Página</b>
Figura 1 - Estrutura da parede celular vegetal.....	36
Figura 2 - Estrutura química da celulose.....	37
Figura 3 - Estrutura da xiloglucana e da galactomanana de razão 3:1 (manose:galactose).....	38
Figura 4 - Estrutura química da cadeia de pectina.....	40
Figura 5 - Subprodutos de acerola e abacaxi liofilizados e pulverizados.....	47
Figura 6 - Fluxograma da extração das frações polissacarídicas presentes em subprodutos de frutos tropicais.....	48
Figura 7 - Fração polissacarídica presente na solução aquosa do subproduto de manga precipitada com etanol e secagem da fração polissacarídica obtida do subproduto de manga.....	49
Figura 8 - Curva de calibração para a dosagem de proteínas solúveis totais em frações polissacarídicas extraídas de subprodutos de frutos tropicais pelo método de Bradford.....	53
Figura 9 - Microscopia de varredura eletrônica (MEV) das frações polissacarídicas isoladas dos subprodutos de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá, extraídos sob aquecimento exaustivo.....	65
Figura 10 - Espectros infravermelho das frações polissacarídicas purificadas isolados dos subprodutos dos frutos caju, acerola, manga, maracujá e abacaxi, em pastilha de KBr.....	66
Figura 11 - Espectros de ressonância <sup>13</sup> C-RMN das frações polissacarídicas extraídas do subproduto da acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá.	74
Figura 12 - Gráfico da curva padrão de pululana.....	75
Figura 13 - Cromatogramas de massa molar das frações polissacarídicas isoladas dos subprodutos dos frutos caju, acerola, manga, maracujá e abacaxi.....	76

Figura 14 -	Teores de proteínas solúveis totais (%) presentes das frações polissacáridicas extraídas dos subprodutos de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá.....	80
Figura 15 -	Taxa de eliminação (%) do radical livre ABTS•+ pelas frações polissacáridicas extraídas dos subprodutos do processamento de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá.....	86
Figura 16 -	Redução (%) da absorbância inicial da solução alcóolica de ABTS•+ pelas frações polissacáridicas extraídas dos subprodutos de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá.....	88
Figura 17 -	Determinação dos níveis de malondialdeído (MDA) e glutathiona (GSH) no tecido gástrico de camundongos pré-tratados com (1 mg/kg) de das frações polissacáridicas extraídas dos subprodutos no curso da contra lesões gástricas induzidas por etanol 50%.....	93

## LISTA DE TABELAS

	<b>Página</b>
Tabela 1 - Tipo e rendimento médio de subprodutos oriundos do processamento de frutas.....	28
Tabela 2 - Composição físico-química de alguns subprodutos provenientes do processamento de frutas tropicais.....	32
Tabela 3 - Destino de alguns subprodutos agroindustriais.....	34
Tabela 4 - Algumas aplicações industriais das galactomananas.....	39
Tabela 5 - Deslocamentos químicos representativos dos grupos presentes nos polissacarídeos em espectros de RMN <sup>13</sup> C.....	45
Tabela 6- Principais atribuições das bandas de absorção no infravermelho características de polissacarídeos.....	46
Tabela 7 - Concentração das soluções aquosas preparadas com os subprodutos agroindustriais para a extração frações polissacarídicas.....	49
Tabela 8 - Rendimento final (%) das frações polissacarídicas extraídas a partir dos subprodutos do processamento de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá, utilizando extração aquosa exaustiva.....	59
Tabela 9 - Amplitude e resolução das microfotografias das frações polissacarídicas dos subprodutos de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá.....	63
Tabela 10 - Atribuições das frequências principais das frações polissacarídicas dos subprodutos isolados dos frutos caju, acerola, manga, maracujá e abacaxi.....	67
Tabela 11 - Modificações na frequência de algumas atribuições de polissacarídeos extraídos de vegetais analisadas por espectroscopia no infravermelho.....	70
Tabela 12 - Massas molares de pico e polidispersividade para as frações polissacarídicas dos subprodutos dos frutos caju, acerola, manga, maracujá e abacaxi.....	77
Tabela 13 - Atividade antioxidante total das frações polissacarídicas extraídas a	

	partir dos subprodutos do processamento de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá, utilizando o radical livre ABTS•+.....	83
Tabela 14 -	Absorbâncias das culturas celulares expostas das frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos da acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá.....	90

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\delta$	Deslocamento químico
$^{13}\text{C-RMN}$	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono 13
$^{13}\text{C}$	Carbono 13
ABTS•+	[2,2'-azino-bis-(ácido 3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico)]
AAT	Atividade antioxidante total
AG	Arabinogalactana
AG-I	Arabinogalactana Tipo I
AG-II	Arabinogalactana Tipo II
D-GalpA	Ácido D-galacturônico
DE	Grau de esterificação
DMSO	Sulfóxido de dimetil
DPPH•	di(phenyl)-(2,4,6-trinitrophenyl)iminoazanium
DTNB	5,5'-dithio-bis-2-ácidonitrobenzóico
EDTA	Ácido etineldiaminotetracético
FT-IR	Espectroscopia no infravermelho incorporando de transformador de Fourier
GAX	Glucuronoarabinoxilana
GSH	Glutathiona reduzida
GPC	Cromatografia de permeação em gel
$\text{H}_3\text{PO}_4$	Ácido fosfórico
HCl	Ácido clorídrico
HG	Homogalacturomanana
HG I	Homogalacturomanana Tipo I
HG II	Homogalacturomanana Tipo II
IC <sub>50</sub>	Concentração de antioxidante requerida para reduzir 50% dos radicais livres
KBr	Brometo de potássio
L-Rhap	L-ramnose piranosídica
MDA	Malanaldeído
MEV	Microscopia de varredura eletrônica

MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-brometo de tetrazólio
Mw	Massa molar
NaNO <sub>3</sub>	Nitrato de sódio
RG I	Ramnogalacturomanana Tipo I
RPM	Rotação por minuto
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloacético
TEAC	Atividade antioxidante equivalente ao Trolox
Trolox	2-ácido carboxílico-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano
XGA	Xilogalacturomanana

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b> 22
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b> 24
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral.....</b> 24
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b> 24
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b> 25
<b>3.1</b>	<b>Fruticultura brasileira.....</b> 25
<b>3.2</b>	<b>Subprodutos agroindustriais.....</b> 27
<b>3.2.1</b>	<b><i>Origem dos subprodutos.....</i></b> 29
<b>3.2.1.1</b>	<b><i>Processamento de polpas e sucos.....</i></b> 29
<b>3.2.1.2</b>	<b><i>Processamento mínimo de frutas.....</i></b> 30
<b>3.2.2</b>	<b><i>Composição química dos subprodutos agroindustriais.....</i></b> 32
<b>3.2.3</b>	<b><i>Principais destinos dos subprodutos.....</i></b> 33
<b>3.3</b>	<b>Polissacarídeos.....</b> 34
<b>3.3.1</b>	<b><i>Polissacarídeos presentes em vegetais.....</i></b> 35
<b>3.3.1.1</b>	<b><i>Celuloses.....</i></b> 36
<b>3.3.1.2</b>	<b><i>Hemiceluloses.....</i></b> 37
<b>3.3.1.3</b>	<b><i>Pectinas.....</i></b> 39
<b>3.3.1.4</b>	<b><i>Polissacarídeos de frutos.....</i></b> 41
<b>3.3.2</b>	<b><i>Polissacarídeos de vegetais: Atividade biológica.....</i></b> 43
<b>3.3.3</b>	<b><i>Principais métodos de análise para polissacarídeos.....</i></b> 44
<b>4</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL.....</b> 47

<b>1ª ETAPA - EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS PRESENTES EM SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS DO PROCESSAMENTO DA ACEROLA, ABACAXI, CAJU, MANGA E MARACUJÁ.....</b>	<b>47</b>
<b>4.1 MATERIAL.....</b>	<b>47</b>
<b>4.1.1 <i>Matéria-prima</i>.....</b>	<b>47</b>
<b>4.2 METODOLOGIA.....</b>	<b>48</b>
<b>4.2.1 <i>Extração aquosa exaustiva</i>.....</b>	<b>48</b>
<b>4.2.2 <i>Estudo do rendimento</i>.....</b>	<b>50</b>
<b>2ª ETAPA - CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS EXTRAÍDAS DOS SUBPRODUTOS DO PROCESSAMENTO DA ACEROLA, ABACAXI, CAJU, MANGA E MARACUJÁ.....</b>	<b>51</b>
<b>4.1 METODOLOGIAS.....</b>	<b>51</b>
<b>4.1.1 <i>Morfologia externa</i>.....</b>	<b>51</b>
<b>4.1.2 <i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR)</i>.....</b>	<b>51</b>
<b>4.1.3 <i>Ressonância magnética nuclear (<sup>13</sup>C - RMN)</i>.....</b>	<b>52</b>
<b>4.1.4 <i>Estimativa da massa molar por cromatografia de permeação em gel (GPC)</i>.....</b>	<b>52</b>
<b>4.1.5 <i>Dosagem de proteínas solúveis</i>.....</b>	<b>52</b>
<b>4.1.5.1 <i>Obtenção do extrato</i>.....</b>	<b>52</b>
<b>4.1.5.2 <i>Dosagem de proteínas solúveis totais</i>.....</b>	<b>53</b>
<b>4.1.6 <i>Tratamento estatístico</i>.....</b>	<b>54</b>
<b>3ª ETAPA - ENSAIOS DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS EXTRAÍDAS DOS SUBPRODUTOS DE ACEROLA, ABACAXI, CAJU, MANGA E MARACUJÁ.....</b>	<b>54</b>
<b>4.1 METODOLOGIAS.....</b>	<b>54</b>
<b>4.1.1 <i>Ensaio antioxidante in vitro com a radical livre ABTS•+</i>.....</b>	<b>54</b>
<b>4.1.2 <i>Citotoxicidade das frações polissacarídicas frente a células epiteliais humanas</i>.....</b>	<b>55</b>

4.1.3	<i>Ensaio antioxidante in vivo utilizando o modelo de lesão gástrica induzida por etanol</i> .....	56
4.1.3.1	<i>Animais</i> .....	56
4.1.3.2	<i>Efeito das frações polissacarídicas extraídas de subprodutos de frutos no modelo de lesão gástrica por etanol em ratos</i> .....	56
4.1.3.2.1	<i>Determinação da concentração de glutathiona (GSH) na mucosa gástrica de ratos tratados com frações polissacarídicas extraídas de subprodutos de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá no modelo de lesão gástrica por etanol em ratos</i> .....	57
4.1.3.2.2	<i>Determinação da concentração de malonaldeído (MDA) na mucosa gástrica de ratos tratados com frações polissacarídicas extraídas de subprodutos de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá no modelo de lesão gástrica por etanol em ratos</i> .....	57
4.1.3.3	<i>Análise estatística</i> .....	58
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	59
	<b>1ª ETAPA - EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS PRESENTES EM SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS DO PROCESSAMENTO DA ACEROLA, ABACAXI, CAJU, MANGA E MARACUJÁ</b> .....	59
5.1	<b>Rendimentos</b> .....	59
	<b>2ª ETAPA - CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS EXTRAÍDOS DOS SUBPRODUTOS DO PROCESSAMENTO DA ACEROLA, ABACAXI, CAJU, MANGA E MARACUJÁ</b> .....	62
5.1	<b>Morfologia externa</b> .....	62
5.2	<b>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR)</b> .....	66
5.3	<b>Ressonância magnética nuclear - 13C –RMN</b> .....	71
5.4	<b>Estimativa de massa molar por cromatografia de permeação em gel (GPC)</b> .....	75
5.5	<b>Dosagem de proteínas solúveis</b> .....	80
	<b>3ª ETAPA - ENSAIOS DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS EXTRAÍDOS DOS SUBPRODUTOS DE ACEROLA, ABACAXI, CAJU, MANGA E MARACUJÁ</b> .....	82

5.1	Ensaio antioxidante <i>in vitro</i> com a radical livre ABTS•+.....	82
5.2	Citotoxicidade frente a células epiteliais humanas.....	89
5.3	Ensaio antioxidante <i>in vivo</i> utilizando o modelo de lesão gástrica induzida por etanol.....	91
5.3.1	<i>Determinação dos níveis de malondialdeído (MDA) e dos grupos sulfidrílicos não protéicos (glutathiona – GSH) na mucosa gástrica de camundongos previamente tratados soluções de frações polissacarídicas extraídos do subproduto de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá na gastropatia induzida por etanol 50%.....</i>	91
6	CONCLUSÃO.....	96
	REFERÊNCIAS.....	97

## 1 INTRODUÇÃO

O aumento do consumo de frutas processadas é uma realidade atual, que se deve principalmente a conveniência que oferecem ao consumidor. A produção de subprodutos do processamento de frutos é crescente, uma vez que, a cada dia que passa, as pessoas estão mais conscientes quanto à importância de agregar à dieta diária, produtos provenientes de fontes naturais e que ao mesmo tempo lhes ofereçam conveniência e rapidez à alimentação.

Os subprodutos de frutas são materiais orgânicos, de constituição complexa, podendo se apresentar como uma mistura de peles, sementes e frações de polpa, das matérias-primas que lhes deram origem. Tais materiais podem apresentar diferentes formas e tamanhos e são normalmente desperdiçados pela indústria processadora. Visto sua complexidade em composição, diversos estudos buscam destiná-los de forma segura e econômica, caracterizando suas constituições químicas e os convertendo em produtos comerciais ou matérias-primas para processos secundários.

Muitos estudos têm proposto a utilização de subprodutos como fontes de substâncias de interesse, como é caso dos fenólicos, carotenóides e algumas macromoléculas, por exemplo. Dentre as macromoléculas, os polissacarídeos têm recebido destaque, graças as suas propriedades tecnológicas e biológicas, além da vasta escala de aplicação e a facilidade de obtenção no reino vegetal, sendo estes constituintes de cascas, sementes, exsudatos e em frutos (CUNHA et al., 2009; STEPHEN et al., 2006).

As principais classes de polissacarídeos encontrados em vegetais são as celuloses, hemiceluloses e pectinas, que se encontram intimamente relacionadas na estruturação da parede celular, fato que inicialmente dificulta o processo de extração dos mesmos em sua forma pura. Em frutos, a maioria dos relatos presentes na literatura enfatiza a presença de pectinas, sendo estes distinguidos pela sua composição de açúcar e quantidade de ácido urônico. Esta classe de polissacarídeos apresenta uma estrutura química extremamente heterogênea com variações entre espécies, tecidos e até mesmo entre as diferentes partes do fruto (WILLATS et al., 2006).

A estrutura e a bioatividade de polissacarídeos têm sido extensivamente estudadas, e sua aplicação em terapias está se tornando cada vez mais frequente (WANG; FANG, 2004). De fato, diferentes propriedades biológicas e físicas de polissacarídeos têm sido reportadas (BORCHERS et al., 2004) sendo atribuídos a algumas dessas moléculas a capacidade de modular a proliferação e ativação de células imunocompetentes (KIM et al., 2003; LEUNG et al., 2006),

aumentar a expressão de citocinas (HAUER; ANDERER, 1993), ação como agentes anti-tumorais (WASSER, 2002; LI et al., 2011), anti-virais (ZHANG et al., 2004; LI et al., 2011) e anti-inflamatórios (ZHANG et al., 2004).

Atualmente diferentes doenças têm sido atribuídas à ação deletéria de radicais livres. Alguns polissacrídeos têm mostrado eficiência como antioxidantes naturais, como é o caso daqueles extraídos de frutos como o *Zizyphus jujuba* (LI et al., 2011) e *Mangifera pajang* (AL-SHERAJI et al., 2012) e de algumas plantas como *Dendrobium nobile Lindl* (LUO et al., 2010) e *Bryopsis plumosa* (SONG, et al., 2010).

A elucidação da complexa estrutura dos polissacarídeos pode ser adotada a fim de se compreender melhor suas efetivas ações em sistemas biológicos. Neste caso, diferentes técnicas podem ser aplicadas a fim de se compreender a atividade destas macromoléculas. A ressonância magnética nuclear (RMN), a espectroscopia na região do infravermelho e a cromatografia de permeação de gel (GPC) são exemplos de técnicas bastante aplicadas à caracterização estrutural de macromoléculas (SITTIKIYOTHIN et al., 2005). A caracterização estrutural de polissacarídeos está diretamente relacionada ao entendimento da ação biológica dos mesmos. Neste contexto a composição monossacarídica, tipo e configuração da ligação glicosídica, tamanho dos pontos de ramificação e peso molecular, são parâmetros estruturais relacionados às propriedades antitumorais, antivirais e anti-inflamatórias, por exemplo (WASSER, 2002; YANG; ZHANG, 2009; ZHANG et al., 2004 ).

As perspectivas atuais trabalham em cima de soluções que venham a diminuir o desperdício de alimentos, em especial de alimentos processados, como é o caso dos subprodutos. Desde modo muitos investimentos são realizados a fim de se trabalhar com materiais provenientes do processamento de alimentos que não apresentem valor comercial, para se obter o máximo de suas potencialidades. Na literatura existem muitos estudos que se destinaram a caracterizar a composição dos subprodutos bem como sua aplicação em preparados alimentícios e verificação das propriedades farmacológicas dos mesmos. Entretanto, estudos relativos à extração e ao potencial biológico de polissacarídeos extraídos destes materiais são preliminares, tornando necessário maiores estudos neste sentido.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem por objetivo geral caracterizar a estrutura química de frações de polissacarídeos extraídos dos subprodutos do processamento da acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá e avaliar sua atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*.

### 2.2 Objetivos específicos

1. Extrair polissacarídeos a partir do subproduto da acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá utilizando extração aquosa exaustiva;
2. Purificar os polissacarídeos dos diferentes subprodutos utilizados;
3. Avaliar os rendimentos dos polissacarídeos provenientes dos diferentes subprodutos estudados;
4. Caracterizar a estrutura química dos polissacarídeos purificados utilizando as técnicas de ressonância magnética nuclear (RMN  $^{13}\text{C}$ ), espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR), massa molar por cromatografia de permeação em gel (GPC) e dosagem proteica pelo método de Bradford;
5. Estudar a atividade antioxidante dos polissacarídeos *in vitro* pelo ensaio com radical livre ABTS•+;
6. Verificar a citotoxicidade dos polissacarídeos estudados através do método do MTT;
7. Investigar a atividade antioxidante dos polissacarídeos *in vivo* utilizando o modelo de lesão gástrica induzida por etanol.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Fruticultura brasileira

O Brasil produz frutas tropicais, subtropicais e temperadas, graças a fatores como sua extensão territorial, posição geográfica, condições climáticas e ao solo, tornando-o o 3º lugar dentre os maiores produtores de frutas no mundo, atrás apenas da China e da Índia. Estima-se que sejam produzidos cerca de 42,6 milhões de toneladas de frutas em 2,2 milhões de hectares distribuídos pelo país (BRAZILIAN FRUIT, 2015).

De acordo com o Olic (2013), em 2003 o Brasil produziu cerca de 40 milhões de toneladas de frutas e, apesar disso, exportou pouco mais de 2% da sua produção de frutas *in natura* ocupando o 20º lugar entre os países exportadores. Em 2004, o país exportou cerca de 850 mil toneladas de frutas frescas, representando um aumento de quase 10% com relação ao volume exportado em 2003.

Dados recentes apontam um contínuo aumento das áreas plantadas no país e este fato, está elevando a produtividade e incrementando o volume de produção, o que resulta em uma colheita com mais qualidade. Na última década, a produção brasileira de frutas foi ampliada em 22,49%. Os números oficiais do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) mostram que em 2001 a colheita se situava em 36,699 milhões de toneladas, levando-se em conta as 20 principais espécies acompanhadas pelo referido órgão. No ano de 2011, o resultado alcançado foi de aproximadamente 45 milhões de toneladas, representando um crescimento de 6,77% na colheita realizada em 2011 quando comparado com o ano de 2010 (ANUÁRIO, 2013; BRAZILIAN FRUIT, 2015; OLIC, 2013).

De acordo com Anuário Brasileiro de Fruticultura (2013) o país exporta 25 espécies de frutas frescas. As vendas de culturas representativas, como melões, bananas, uvas, maçãs e laranjas, tiveram os volumes reduzidos em 4,64%, 21,14%, 2,32%, 46,43% e 11,93%, respectivamente. Por outro lado, outras frutas obtiveram desempenhos positivos, como é o caso do limão (5,39%), da melancia (3,63%) e do mamão (6,52%). Os maiores volumes negociados foram alcançados com melões (169.575 toneladas), mangas (126.430 toneladas), bananas (110.053 toneladas) e limões (66.457 toneladas).

Cerca de 30% das frutas frescas e processadas produzidas no Brasil são exportadas para diversas partes do mundo, principalmente para Europa, que representa 85% do mercado

importador. Dentre os países europeus, a Holanda é aquele que recebe maior parcela desses produtos (39,28%) por ser um polo de distribuição para os outros países do continente. Em 2010 a Holanda importou 263.745 toneladas de frutas frescas do Brasil; Reino Unido 119.790 toneladas; Espanha 92.658 toneladas; Argentina 46.161 toneladas; Estados Unidos 43.771 toneladas e Uruguai 38.262 toneladas. Os demais importadores, por ordem decrescente, foram Alemanha, Portugal, Itália, França, Irlanda, Canadá, Polônia, Bangladesh e Dinamarca. O mercado exportador brasileiro visa ainda países do Oriente Médio devido às suas limitações na produção e a China, que mesmo apresentando elevados índices de produção, carece quanto à disponibilidade de água e espaço físico para plantio (ANUÁRIO, 2008).

A fruticultura brasileira está relacionada com as características típicas de cada região produtora. Assim as condições climáticas de cada Região propicia o desenvolvimento de culturas específicas.

No Sul há o predomínio da produção sazonal de frutas típicas de clima temperado, como maçã, uva, pêsego, marmelo e morango, sendo o Estado do Rio Grande do Sul, o principal produtor de pêsegos tanto para consumo *in natura* quanto para processamento (ANTUNES, 2002; MARODIN; SARTORI, 2000). A fruticultura do Centro-Oeste brasileiro destaca-se pela produção de abacaxi e maracujá, enquanto o Norte é representado pela produção de frutas exóticas como o açaí, murici e cupuaçu (RUFINO, 2010).

Especificamente no Nordeste brasileiro, o incremento da fruticultura tropical e subtropical foi alavancado pelo maciço investimento em sistemas de irrigação, tornando possível a produção de diversas frutas durante o ano, destacando-se o abacaxi, abacate, banana, caju, coco, mamão, manga, maracujá, acerola e goiaba que são utilizadas na elaboração de derivados, como polpas, sucos e doces, além de serem consumidas *in natura*. Somando este fato à logística de distribuição, acredita-se que os Estados do Rio Grande do Norte e Ceará, têm grande potencial de aumento da produção frutícola, tanto quantitativa como qualitativamente, o que garantirá vantagens competitivas nestes Estados, além do desenvolvimento de novas agroindústrias nestas regiões (AGRIANUAL, 2000; ANUÁRIO, 2008; LOUSADA JÚNIOR et al., 2006). Em adição, Nascimento (2001) enfatiza que o clima característico nordestino (seco e com um alto nível de exposição solar), permite uma boa produtividade e prevenção natural de muitas doenças, devido à baixa umidade que predomina em grande parte do ano.

### 3.2 Subprodutos agroindustriais

O Brasil é reconhecido como um grande produtor mundial no seguimento de frutas o que leva a um intenso crescimento das atividades agroindustriais. Um dos resultados paralelos desta ascensão é um aumento proporcional de subprodutos agroindustriais oriundos das atividades de processamento (OLIVEIRA et al., 2002)

Segundo o Decreto nº 6268 de 22 de novembro de 2007, do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA), subproduto é o que resulta do processamento, da industrialização ou do beneficiamento econômico de um produto vegetal (BRASIL, 2007).

No cenário mundial atual, existe uma tendência para o mercado de produtos processados e buscando atender esse novo segmento, as indústrias alimentícias vêm se especializando no setor. O resultado disso é um aumento desordenado na produção de subprodutos. Por questões sanitárias, a deposição desses materiais deve ser realizada em locais distantes da unidade de processamento, o que além de gerar um custo adicional para indústria, provoca problemas ambientais. Inclusive, é a preocupação ambiental um dos principais fatores que impulsionam à viabilização de projetos que promovam a sustentabilidade do sistema de produção ao contrário do que acontecia no passado, quando resíduos eram dispostos de forma indevida. Nesta realidade os conceitos de minimização, recuperação e aproveitamento de subprodutos estão cada vez mais difundidos (LAUFENBERG et al., 2003; LOUSADA JUNIOR et al., 2005; LOUSADA JUNIOR et al., 2006; VIEIRA et al., 2009).

Segundo Martins e Faria (2002) calcula-se que, do total de frutas processadas, sejam gerados, na produção de sucos e polpas, entre 30 a 40% de subprodutos. Como a quantidade destes materiais podem chegar a muitas toneladas, é de interesse econômico e ambiental agregar valor a esses produtos, o que faz necessário a investigação científica e tecnológica para que haja possibilidade de sua utilização de forma eficiente e segura.

Em vários países as cascas e sementes são avaliadas para que novas possibilidades de utilização sejam levantadas. Dessa maneira, a atenção mundial está focada na possibilidade de aproveitamento máximo dos recursos alimentícios disponíveis, buscando associar uma melhoria do valor nutritivo da dieta das populações e a redução dos subprodutos das indústrias de alimentos, sobretudo aquelas que processam frutas e hortaliças (LAUFENBERG et al., 2003;

LOUSADA JUNIOR et al., 2005; LOUSADA JUNIOR et al., 2006; PEREIRA et al., 2003; VIEIRA et al., 2009).

Na Tabela 1, constata-se que a depender da fruta, os principais resíduos gerados são: casca, caroço ou sementes e bagaço. A principal forma de aproveitamento destes materiais é seu uso para a elaboração de ração animal, sendo que poderiam ser perfeitamente utilizados para a obtenção de outros produtos de potencial biotecnológico ou para a extração de compostos, uma vez que possuem em suas composições vitaminas, minerais, fibras e compostos antioxidantes importantes para as funções fisiológicas. Além disso, por apresentarem baixo custo sua utilização minimizaria o desperdício de alimentos e geraria uma nova fonte alimentar (ROGERIO et al., 2007; SOUSA et al., 2011).

Tabela 1 – Tipo e rendimento médio de subprodutos oriundos do processamento de frutas.

Fruta	Subproduto <sup>1</sup>	Rendimento Médio (%)	
		Subproduto <sup>4</sup>	Polpa <sup>2</sup>
Abacaxi	Casca, coroa e miolo	30-40	50
Acerola	Casca e sementes	15-41	70
Banana <sup>3</sup>	Casca	65-85	26
Caju	Película e fibra	15-30	80
Goiaba	Casca e sementes	5	90
Graviola	Casca e sementes	35	65
Manga	Casca e caroço	37-50	50
Maracujá	Casca e sementes	65-70	45
Melão	Casca e sementes	45	60
Tamarindo	Casca e sementes	50-65	25

Fonte: Adaptado de <sup>1</sup>Moretti e Machado (2006); <sup>2</sup>Sebrae (1999); <sup>3</sup>Sousa et al. (2012) e <sup>4</sup>Vasconcelos et al. (2002).

De um modo geral, pode-se observar que a geração de subprodutos é inerente a qualquer setor produtivo. Conforme citam Pelizer et al. (2007) o aumento da conscientização ecológica, iniciado no final do Século XX, deixou claro que o grande desafio da humanidade para as próximas décadas é equilibrar a produção de bens e serviços, crescimento econômico, igualdade social e sustentabilidade ambiental.

Existe, entretanto uma consciência mundial em que parte significativa da população encontra sérias dificuldades diariamente para conseguir alimento, sendo, inconcebível que uma atividade agroindustrial continue desperdiçando materiais que poderiam ser potencialmente utilizados como matéria-prima em outros processos industriais (MORETTI; MACHADO, 2006).

### 3.2.1 Origem dos subprodutos

#### 3.2.1.1 Processamento de polpas e sucos

A população, cada vez mais consciente quanto à importância de se ter uma alimentação saudável, busca equilibrar sua dieta cotidiana com produtos naturais como frutas e seus derivados. Segundo Maia et al. (2007) o aumento na demanda por sucos tem promovido o desenvolvimento na capacidade de produção e processamento, o que vem a assegurar a oferta desses produtos no mercado.

O volume de material descartado pelas indústrias na obtenção do suco é, em média, de 45% em massa dos frutos. Este resíduo apresenta grande potencial para ser usado como matéria-prima de excelente qualidade para as indústrias farmacêutica, alimentícia e de rações (VILAS BOAS et al., 2001). A seguir serão abordadas algumas frutas processadas no setor de polpas e sucos, enfatizando o montante final de rendimento a nível de subprodutos.

Para o abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill), Rogério et al. (2007) apontam que as cascas, talos, coroas e cilindros deste fruto são considerados rejeitos pela indústria de polpas e sucos o que representa um total de 71% de subprodutos gerados na atividade. Barbosa et al. (2012) verificaram uma variação de 64,89 % a 68% no total de material sólido gerado no processamento do abacaxi. Neste contexto, Botelho et al. (2002) afirmam que um dos principais desafios para a indústria processadora do abacaxi é encontrar alternativas viáveis para que este total de rejeitos gerados seja revertido de forma econômica à indústria.

No processamento da acerola (*Malpighia emarginata*), após a extração do suco, o subproduto gerado corresponde à semente triturada e polpa, o que segundo Vasconcelos et al. (2002), corresponde de 15 a 41% do volume total de toda acerola processada. Avaliando três diferentes cultivares de aceroleiras, Carpentieri-Pípulo et al. (2002) determinaram que em média 24% da fruta correspondem a subproduto, valor semelhante ao estimado por FolegAATi e Matsuura (2003) que foi de 25%.

Segundo Sacramento e Souza (2000), os frutos da cajazeira (*Spondias mombin* L.), mesmo apresentando uma fina camada de polpa, apresentam um rendimento final alto devido à baixa densidade do caroço, embora volumoso. De acordo com os mesmos autores as proporções de casca e endocarpo variam de 8,4 a 18,7% e de 15,7 a 31,1%, respectivamente podendo o

rendimento de polpa chegar a 80%. Em contrapartida, Pinto et al. (2003) e Bosco et al. (2000) verificaram um rendimento médio de polpa igual a 49,96% e 51,63% respectivamente o que significa que mais da metade dos frutos processados representou subprodutos.

O caju (*Anacardium occidentale* L.) mesmo apresentando grande potencialidade do pseudofruto como matéria prima, cerca de 90% da sua produção é descartada todos os anos, principalmente pelo fato de que a comercialização da amêndoa é a principal atividade a ser considerada. Este total descartado corresponde a aproximadamente 1,5 milhões de toneladas (PAIVA et al., 2000). Considerando o pseudofruto como matéria-prima para o processamento de polpas, Ferreira et al. (2004) estimaram que 40% do total considerado correspondem a rejeitos industriais.

Segundo Lima (2001) no processamento de polpa de goiaba (*Psidium guajava*) há o descarte das sementes que junto, com parte da fração da pele e da polpa não separada no processo físico de despulpamento compõem o subproduto que usualmente é descartado pela agroindústria. Entretanto, de acordo com as pesquisas de Mantovani et al. (2004), os subprodutos gerados na atividade é basicamente composto por sementes, que após o despulpamento e a lavagem com água clorada, corresponde a 8% da massa total dos frutos beneficiados.

Após o processamento industrial da manga (*Mangifera indica* L.) quantidades consideráveis de subprodutos são inutilizados pela indústria, o que equivale a 40 e 60% de matéria-prima, sendo esta constituída de 12 a 15% de cascas e 15 a 20% de sementes (KAUR et al., 2004). Considerando a contribuição individual para o peso do fruto, Barbosa et al. (2012) verificaram que as cascas representam de 17,3 a 19,05% do peso dos frutos e as sementes de 10,82 a 15,31%.

### **3.2.1.2 Processamento mínimo de frutas**

O comércio de produtos minimamente processados ganhou grande impulso no cenário atual devido ao crescente interesse dos consumidores por produtos que além de apresentarem um apelo saudável, apresentem elevada qualidade, praticidade e segurança. Moretti (2001) afirma que este aumento também pode ser atribuído ao fato da maior participação da mulher no mercado de trabalho, do envelhecimento das populações e do aumento na importância das refeições coletivas.

De acordo com Russo (2012) os produtos que passam por esse tipo de processo tornam-se convenientes pela redução do tempo de preparo, melhor padronização e redução de perdas pós-colheita.

Segundo Miguel et al. (2008) um dos principais problemas que limitam o desenvolvimento da indústria de processamento mínimo de frutas e hortaliças no mundo está associado à significativa quantidade de subprodutos orgânicos que são gerados como produto da atividade. Laufenberg (2003) em seus estudos observou que os processos empregados no processamento mínimo carecem de melhoria expressiva, principalmente no que diz respeito à eficiência do aproveitamento industrial do produto em sua totalidade, o que gera uma quantidade significativa de subprodutos agroindustriais. De acordo com o mesmo autor, atualmente existem poucas possibilidades para a utilização ou reciclo da maior parte desses produtos, sendo estes utilizados basicamente para alimentação animal ou como matéria prima para compostagem.

A seguir serão abordadas algumas frutas processadas no setor e o rendimento em nível de subproduto gerado.

Sarzi (2002) verificou que do processamento mínimo de abacaxi 'Pérola' e de mamão 'Formosa' (*Carica papaya* L.) aproximadamente 38% e 34%, respectivamente, correspondiam a materiais de não interesse no processo. O mesmo autor ainda salientou que o rendimento final é influenciado pelos diferentes cortes que irão caracterizar o produto e que de um modo geral, cortes menores resultam em maiores percentagens de subprodutos. Para o mamão, Vilas Boas (2002) verificou que como resultado desta atividade o total de subprodutos gerado foi de 50%, onde 34% corresponderam a cascas e sementes, e 12% as aparas de corte do fruto.

A pesquisa de Diniz (2009) apontou que a banana (*Musa paradisiaca*) submetida ao processamento mínimo apresentou rendimento médio de 52%, sendo 48% da matéria-prima eliminada na forma de cascas, pontas e partes impróprias ao processo. No mesmo contexto, Vilas Boas (2002) determinou que em média 30% em massa do fruto são descartados na forma de rejeitos. Avaliando a porcentagem de massa de casca de bananas que se tornaram lixo orgânico em 2008 e 2009, Barbosa et al. (2012) encontraram valores de 39,7 e 49,3% para os respectivos anos.

No processamento mínimo do melão (*Cucumis melo* L.), Pinto (2002) verificou um rendimento médio correspondente a 40% em massa fresca dos frutos inteiros. Isso significa que 60% da matéria-prima foram descartadas como subproduto. O mesmo autor, também avaliou o

rendimento do processamento mínimo para os frutos de melancia e constatou que 57% do peso total do fruto corresponderam às cascas.

### 3.2.2 Composição química dos subprodutos agroindustriais

Recentemente estudos têm demonstrado que as frutas são ricas em muitos nutrientes e compostos antioxidantes, e que esses tais compostos se concentram em sua maioria nas cascas e sementes (ABRAHÃO et al., 2010). Vários autores têm associado os efeitos benéficos, à saúde do homem, do consumo regular de frutas, vegetais e grãos à presença de substâncias antioxidantes, como os compostos fenólicos, a vitamina C e os carotenóides (KIM et al., 2007; PIENIZ et al., 2009).

A composição dos resíduos do processamento de alimentos é extremamente variada e depende tanto da natureza da matéria-prima como da técnica de produção empregada (MACHADO; MORETTI, 2006). A composição físico-química de alguns subprodutos pode ser verificados na Tabela 2.

Tabela 2 – Composição físico-química de alguns subprodutos provenientes do processamento de frutas tropicais.

Componente	Subproduto			
	Goiaba	Acerola	Abacaxi	Graviola
Cinzas (%)	0,72	0,55	0,53	0,48
Proteínas (%)	2,82	1,65	1,05	1,09
Lipídeos (%)	2,94	3,59	0,69	2,28
Celulose (%)	37,20	35,07	25,07	-
Hemicelulose (%)	18,8	17,17	40,65	-
Antocianinas (µg/100 g)	3,2	8,84	-	8,66
Flavonóides (µg/g)	1,06	1,04	0,9	1,03
Vitamina C (mg/100g)	75,9	89,55	40,83	64,35
Fenólicos Totais (mg/100g)	24,63	247	8,6	18,6

Fonte: Adaptado de Lousada Junior et al. (2006) e Sousa et al. (2011); \* Não avaliado no estudo

Os compostos bioativos mais comumente encontrados em frutas e hortaliças são as substâncias fenólicas, vitaminas C e E, e carotenóides, os quais são conhecidos como potentes antioxidantes e antagonistas naturais de patógenos (CHINNICI et al., 2004). Estas substâncias encontram-se nos vegetais na forma livre ou ligadas a açúcares, proteínas e polifenóis

(CATANEO et al., 2008). Deve-se atentar que as evidências desse alto potencial antioxidante não estão restritas à polpa de frutas, tendo sido demonstrado que tal atividade é frequentemente superior em cascas, pelo fato destas possuírem teor elevado de compostos fenólicos (LEONTOWICZ et al., 2003).

Galembeck et al. (2009) citam que a composição desses resíduos é lignocelulósico, os quais são os recursos renováveis mais abundantes na natureza, sendo estes constituídos, principalmente de três componentes, celulose, hemicelulose e lignina.

As cascas são constituídas basicamente por carboidratos, proteínas e pectinas, o que possibilitaria seu aproveitamento para fabricação de doces, podendo-se tornar uma alternativa viável para resolver o problema da eliminação dos resíduos, além de aumentar seu valor comercial. As sementes constituem uma parte significativa dos resíduos gerados no processamento de alguns frutos, como é o caso do melão, podendo ser consumidas como petiscos a exemplo das sementes de abóbora, as quais necessitam, para o seu processamento, apenas de uma secagem e tempero com sal (MORETTI; MACHADO, 2006).

O conhecimento da composição dos resíduos é primordial para se determinar o tratamento e tipo de aproveitamento o qual será destinado. A composição química de cada tipo de resíduo é única, no entanto os resíduos alimentares geralmente são compostos por carbono, hidrogênio e oxigênio, o nitrogênio também pode estar presente. Muitos contêm carboidratos, celulose e cinzas. Estes contêm um significativo conteúdo de energia metabolizável pelo organismo humano e animal (CARIOCA; ARORA, 2000).

### ***3.2.3 Principais destinos dos subprodutos***

Pesquisas têm demonstrado que em média 30% dos alimentos comprados (cascas, talos, folhas e sementes de verduras, legumes e frutas) são desperdiçados principalmente por falta de informação sobre o valor nutricional e a forma correta de preparo. Os resíduos podem conter muitas substâncias de alto valor alimentício. Com uma tecnologia adequada, este material pode ser convertido em produtos comerciais ou matérias-primas para processos secundários sendo que várias são as possibilidades de seu uso, inclusive como aditivo alimentar (PELIZER et al., 2007).

Observa-se que grande atenção vem sendo dada aos processos que visam à minimização ou reaproveitamento dos materiais sólidos gerados nos diferentes processos industriais. Tais materiais provenientes da indústria processadora de frutas como mencionado

anteriormente, se constituem de casca, caroço ou sementes e bagaço que além de fonte de matéria orgânica, são fontes de compostos importantes a manutenção das funções fisiológicas. Proteínas, enzimas, carboidratos, lipídeos, vitaminas, minerais, fibras e compostos antioxidantes podem ser recuperados e aproveitados em diferentes segmentos industriais, como na indústria de rações, cosméticos e, principalmente, na alimentação humana (SOUSA et al., 2011).

Os subprodutos agroindustriais podem ser utilizados como fontes alternativas de fibras, uma vez que cascas, folhas e talos possuem altas concentrações de fibras dietéticas, que atuam na prevenção de doenças cardiovasculares e gastrointestinais (PEREIRA et al., 2003). É de conhecimento que as fibras alimentares apresentam efeitos fisiológicos importantes, e uma alternativa ao aumento de seu consumo pela população é a utilização destes materiais como matéria-prima para a produção de alimentos enriquecidos (OLIVEIRA et al., 2002). A Tabela 3 apresenta a aplicação de alguns subprodutos resultantes no processamento de frutos.

Tabela 3 - Destino de alguns subprodutos agroindustriais.

<b>Subproduto</b>	<b>Destino</b>
Abacaxi	Extração de bromelina da casca
Banana	Obtenção de etanol da casca Elaboração de doces e farinha
Goiaba	Extração de pectina e fibras dietéticas da casca
Laranja	Extração de pectina, flavonóides, fibras solúveis, óleos essenciais;
Mamão	Elaboração de farinha da casca; Sementes secas podem ser utilizadas em substituição da pimenta; Extração de pectina e papaína.

Fonte: Adaptado de Moretti (2006).

### 3.3 Polissacarídeos

Polissacarídeos são polímeros naturais, os quais podem ser constituídos de um único ou de diferentes tipos de monossacarídeos ligados entre si por ligações glicosídicas. O termo “polissacarídeo” refere-se a estruturas compostas por mais de 20 unidades de monossacarídeos que podem se unir centena de vezes para compor esta macromolécula. Esses polímeros se fazem presentes em todos os organismos vivos exercendo funções como elementos estruturais de paredes celulares, material de reserva suprimindo o metabolismo energético, na matriz extracelular

fornecendo proteção e suporte para células e tecidos, entre outras. Celulose, alginato e goma arábica são exemplos de homo-, co-, e hetero- polissacarídeos, respectivamente (CUNHA et al., 2009).

### ***3.3.1 Polissacarídeos presentes em vegetais***

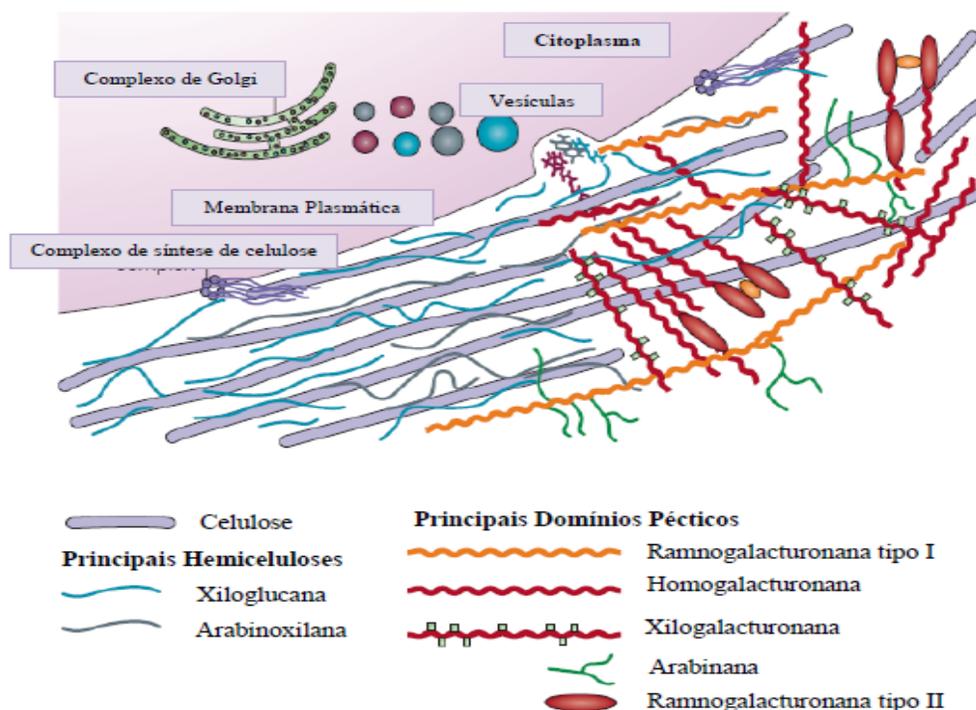
A parede celular é um componente importante da biomassa da planta sendo constituído principalmente por polímeros de açúcar. Essa estrutura é altamente organizada, apresentando muitas classes de polissacarídeos diferentes, que são divididas em pectinas, hemiceluloses e celulose. A forma, composição e estrutura da parede celular vegetal são continuamente alteradas ao longo da vida celular em resposta ao crescimento, diferenciação, ambiente e atividades da célula (CARPITA; MCCANN, 2000; SOMERVILLE et al., 2004).

Segundo Dey et al. (1997) a composição da parede celular primária das dicotiledôneas (FIGURA 1), apresenta em média 33% celulose, 20% hemicelulose, 28% material péctico e 7,5% proteínas, existindo também proporções menores de compostos fenólicos. Já a parede celular secundária, que se encontra entre a primária e a membrana plasmática da célula, e confere rigidez aos tecidos vegetais, sendo consideravelmente mais espessa que a parede primária, corresponde em média a 43% de celulose, 25% de hemicelulose, 23% de lignina contendo apenas traços de pectina. Essa composição, entretanto, conforme Hazen et al. (2003), varia significativamente de um tipo de célula para a outra, existindo também diferenciação quando se considera diferentes espécies.

A heterogeneidade dos polissacarídeos constituintes das paredes celulares de plantas é reconhecida desde as primeiras análises químicas realizadas com isolados de parede celular, e provavelmente é maior que a relatada, devido à dificuldade de extração desses polissacarídeos (BURTON; GIDLEY; FINCHER, 2010).

Pesquisas como as de Collins et al. (2010), Fernandes et al. (2011) e Thomas et al. (2013), objetivaram de um modo geral avaliar a composição da parede celular de diferentes vegetais. Como conclusão a respeito do conteúdo dessas pesquisas é possível afirmar que a extração, caracterização da estrutura química e a conformação das cadeias dos polissacarídeos não é uma tarefa fácil, sendo, entretanto, importantes para o entendimento de suas atividades biológicas (YANG; ZHANG, 2009).

Figura 1- Estrutura da parede celular vegetal.



Fonte: Nascimento, 2013.

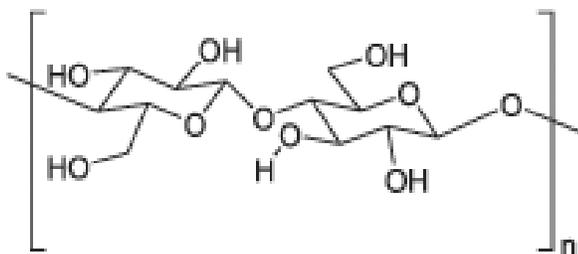
Pesquisas como as de Collins et al. (2010), Fernandes et al. (2011) e Thomas et al. (2013), objetivaram de um modo geral avaliar a composição da parede celular de diferentes vegetais. Como conclusão a respeito do conteúdo dessas pesquisas é possível afirmar que a extração, caracterização da estrutura química e a conformação das cadeias dos polissacarídeos não é uma tarefa fácil, sendo, entretanto, importantes para o entendimento de suas atividades biológicas (YANG; ZHANG, 2009).

### 3.3.1.1 Celuloses

A celulose (FIGURA 2) é o carboidrato mais abundante na natureza, estando presente em uma quantidade média que corresponde a 30% da matéria seca de todas as plantas superiores. Sua estrutura química é caracterizada por cadeias lineares que contém três a cinco mil monossacarídeos (D-glicose) unidos entre si por ligações  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4). Este polissacarídeo constitui o arcabouço esquelético que confere suporte às outras moléculas da parede celular primária. Pode ser encontrada nas formas amorfa e cristalina sendo esta última livre de lignina e hemicelulose.

Devido a sua linearidade e a sua natureza estereoregular, as moléculas de celulose podem se associar formando grandes fibras de policristalinos denominadas de microfibrilas, que são unidas através de pontes de hidrogênio intra e intermoleculares (ALBERT, 1983; VAN SOEST, 1982).

Figura 2 - Estrutura química da celulose.



Fonte: Júnior et al., (2006)

### 3.3.1.2 Hemicelulose

As hemiceluloses são polissacarídeos intimamente associados com a celulose, especialmente em tecidos lignificados. A principal função desta macromolécula em tecidos vegetais é unir microfibrilas de celulose, fortalecendo assim a parede celular (ASPINAL, 1973; COSGROVE, 2005).

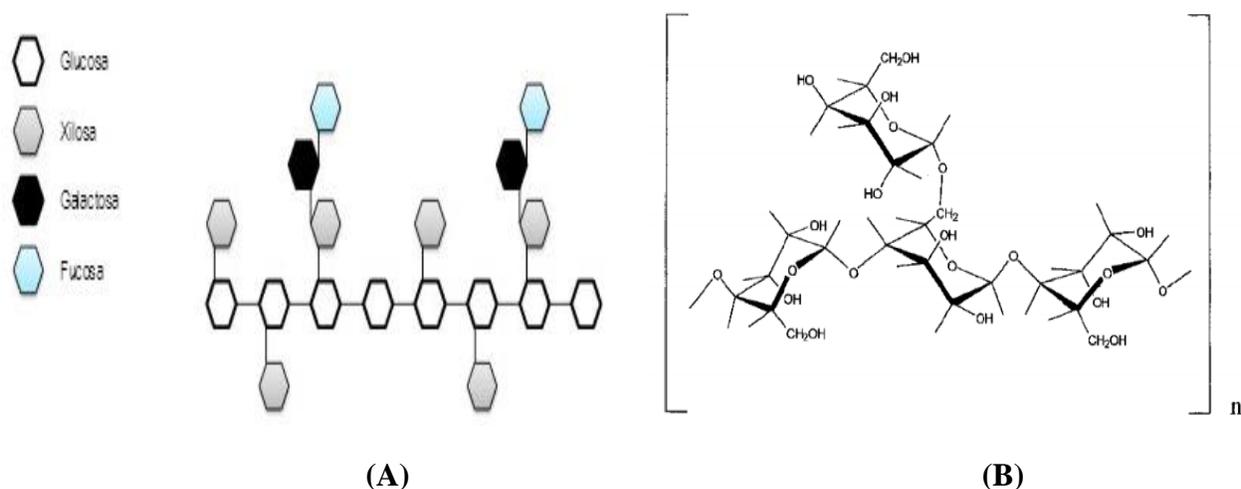
São hemiceluloses as seguintes macromoléculas: xilanas (homoxilanas, heteroxilanas neutras e ácidas), glucomananas, mananas, galactomananas, glucuronomananas, xiloglucanas, calose ( $\beta$ -glucanas com ligações 1 $\rightarrow$ 3),  $\beta$ -glucanas (1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 4) ligadas e arabinogalactanas tipo II (ASPINAL, 1980). Este último tipo de polissacarídeo também pode estar presente em frações pécticas, como visto no item anterior, associado a moléculas de RG-I (CARPITA; GIBEAUT, 1993).

As xilanas correspondem aos biopolímeros mais abundantes, depois da celulose, sintetizados pelas plantas (JOSELEAU et al., 1992) e são os principais polissacarídeos não celulósicos das paredes celulares de angiospermas, gramíneas e cereais.

A estrutura química genérica das xiloglucanas (FIGURA 3A) de reserva consiste de uma cadeia principal celulósica de unidades de D-glucose, as quais podem estar substituídas em O-6 por unidades  $\alpha$ -D-xilopirranose; essas últimas, por sua vez podem estar substituídas por unidades de  $\beta$ -D-galactopirranose (STEPHEN et al. 2006).

Galactomananas (FIGURA 3B) são hemiceluloses obtidas principalmente de endosperma de plantas. Sua estrutura consiste de uma cadeia principal de unidades de  $\alpha$ -D-manose, com substituição de unidades simples de  $\alpha$ -D-galactose na posição do carbono 6 da manose. A proporção de manose (M) e galactose (G) nestes polissacarídeos é, respectivamente 3:1 (STEPHEN et al. 2006).

Figura 3 – (A) Estrutura da xiloglucana e (B) da galactomanana de razão 3:1 (manose:galactose).



Fonte: (A) – Sousa et al. (2009); (B) - Merce et al. (2001).

O grau de ramificação por galactose costuma ser descrito pela proporção M : G e pode variar de acordo com as espécies vegetais relacionadas e a metodologia empregada para sua extração (BUCKERIDGE et al., 1992; GANTER et al., 1994). Em geral, o grau de substituição ou ramificação das galactomananas de sementes varia de 20 a 100%. A massa molar, o conteúdo e a distribuição destas unidades de galactose irão afetar as propriedades para aplicações das galactomananas (GAMAL-ELDEEN et al., 2007).

Esses polissacarídeos são utilizados em diversas aplicações tanto na indústria alimentícia como na farmacêutica e cosmética (SITTIKIYOTHIN et al., 2005).

Na indústria alimentícia, as aplicações das galactomananas são em produtos lácteos, produtos em pó, pães, produtos dietéticos, formulações de leite infantis, temperos, molhos e sopas (CERQUEIRA et al., 2011).

As espécies de maior utilização industrial, principalmente em alimentos, são as extraídas de *Cyamopsis tetragonolobus* (goma guar) e de *Ceratonia siliqua* (alfarroba) (STEPHEN et al. 2006). Mais informações sobre a aplicação destas moléculas estão presentes na Tabela 4.

Tabela 4 – Algumas aplicações industriais das galactomananas.

Origem	Aplicação	Referência
<i>Mimosa scabrella</i>	Matriz para isolamento de lectina Matriz para liberação de fármaco Antiviral: febre amarela	Bezerra et al. (2006) Vendruscolo et al. (2001) Ono et al. (2003)
<i>Adenantha pavonina</i>	Filmes Liberação de fármaco	Figueiro et al. (2004) Abreu et al. (2006)
<i>Leucena leucocephala</i>	Micropropagação plantas Filmes finos Antiviral: febre amarela	Lucyszyn et al. (2006) Sierakowski et al. (2002) Ono et al. (2003)
<i>Caesalpinia pulcherrina</i>	Filmes para revestimento de frutos	Cerqueria et al. (2006)

Fonte: Adaptado de Cunha et al., (2009)

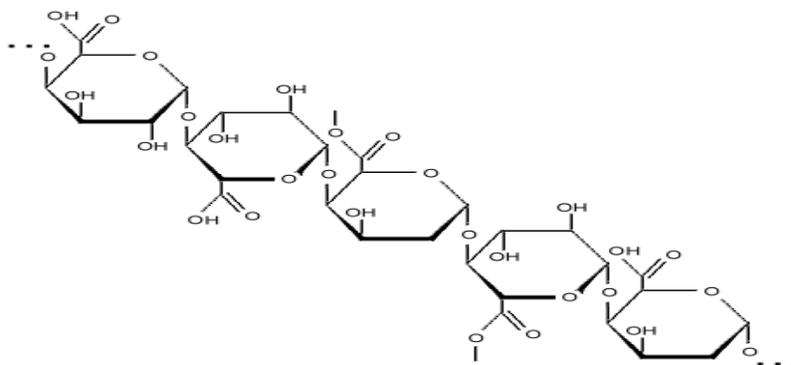
### 3.3.1.3 Pectinas

As pectinas podem ser definidas como hidrocolóides naturais presentes em plantas superiores, formando um grupo heteromolecular de polissacarídeos estruturais encontrados na parede celular primária das células vegetais e nas camadas intercelulares (lamela média). Tais desempenham diversas funções no crescimento, na morfologia, no desenvolvimento, na defesa da planta. Os polissacáridos pécticos formam géis hidrofílicos que determinam a regulação do estado de hidratação e de transporte de íons, definem o grau de porosidade, rigidez e controle da permeabilidade da parede. Estas características são definidas pela estrutura química das pectinas, em particular com o grau padrão de ramificação, a presença de açúcares neutros e o grau padrão de esterificação e de acetil - e metil-, o que pode levar a uma rigidez ou afrouxamento da parede celular (MOHNEN, 2008; GOULAO, 2010; WILLATS et al., 2001).

Segundo Yapo (2011), as pectinas (FIGURA 4) podem ser compostas por até 17 diferentes monossacarídeos, dos quais o ácido D-galacturônico (D-GalpA) é o mais abundante, seguido por D-galactose e L-arabinose. Entretanto, estruturalmente as pectinas não são claramente definidas, sendo um grupo extremamente heterogêneo com variações entre as espécies

de vegetais, entre tecidos e até mesmo entre partes de um mesmo fruto. Este fato pode ser endossado por estudos realizados com materiais pécnicos de diferentes vegetais onde se pode constatar a complexidade e diversidade estrutural destes compostos (BURTON et al., 2010; MOHNEN, 2008; YAPO, 2011).

Figura 4 - Estrutura química da cadeia de pectina



Fonte: Pectin, 2013.

Observa-se que essas macromoléculas são constituídas por uma cadeia principal linear de unidades repetidas de D-GalpA unidas por ligações  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  4), onde parte dessas unidades pode apresentar-se esterificada (TROMP et al., 2003). Inicialmente esse polímero foi descrito como uma tríade dos homopolímeros, homogalacturonana (HG), arabinana e galactana, sendo posteriormente demonstrado que açúcares neutros como, L-ramnose, L-arabinose, D-galactose e D-xilose podem ser incorporados em macromoléculas de galacturonanas aumentando a complexidade dessas estruturas. Ramnogalacturonanas tipo I e II (RG, tipo I e II) xilogalacturonanas (XGA) e arabinogalactanas (AG, tipo I e II), também são estruturas que fazem parte da composição das pectinas (CARPITA; GIBEAUT, 1993; MOHNEN, 2008; BURTON et al., 2010; YAPO, 2011).

As homogalacturonanas (HG), também referidas como galacturonanas lineares, ácido poligalacturônico, poligalacturonídios ou ainda como regiões lineares (*smooth regions*) de pectinas complexas, são polímeros constituídos por unidades de D-GalpA ligadas (1 $\rightarrow$ 4), independentemente da origem vegetal. Os monômeros de D-GalpA podem ser parcialmente metil-esterificadas no C6 e acetil-esterificadas variando nas posições O-2 e O-3, conforme a origem do vegetal. Este grau de metil-esterificação e de acetilação das HGs é que irá determinar o poder de geleificação das pectinas. Essas moléculas exercem funções importantes no controle da

porosidade da parede celular, na integridade, na rigidez relativa, nas propriedades mecânicas, na adesão intercelular e no ambiente iônico e representa o principal elemento estrutural de pectinas da parede celular, o que corresponde de 55 a 70% da quantidade total de pectinas (WILLATS et al., 2006; YAPO, 2011).

Ramnogalacturonanas tipo I e II (RG) são outro grupo de estruturas importantes que constituem as pectinas. A principal diferença entre os dois tipos está no fato de que o primeiro é uma estrutura altamente ramificada constituído por repetições de L-ramnose (L-Rhap) e D-GalpA ( $[\rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-L-Rhap-(1}\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-GalA-(1}\rightarrow ]$ ), podendo ocorrer substituição parcial no O-4 e/ou O-3 nas unidades de L-Rhap por uma unidade neutra glicosil ou por cadeias laterais poliméricas de diferentes tipos, tais como  $\alpha$ -L-arabinanas,  $\beta$ -D-galactanas, arabinogalactanas tipo I e II e também por galactoarabinanas. As cadeias laterais das RG-I relativamente longas e numerosas são muitas vezes chamadas de regiões cabeludas (*hairy regions*) das pectinas (MOHNEN, 2008; YAPO, 2011). No caso das ramnogalacturonanas tipo II, observa-se que estas possuem a cadeia linear constituída por unidades de  $\alpha$ -D-GalpA (1 $\rightarrow$ 4) ligadas e com aproximadamente com 11 a 12 diferentes tipos de unidades glicosil, que por sua vez são interligados por mais de 20 diferentes ligações glicosídicas, resultando finalmente em macromoléculas altamente complexas (YAPO, 2011).

As pectinas são polissacarídeos muito utilizados industrialmente, principalmente em produtos alimentícios, aos quais são adicionados em pequenas quantidades. Atuam como geleificantes e estabilizantes em diversos produtos alimentícios, confere firmeza, atua na retenção de sabor e aroma, além de possuírem efeitos positivos na saúde humana e diversos usos biomédicos (MOHNEN, 2008; GOULAO, 2010; SANTOS et al., 2010; WILLATS et al., 2001).

#### 3.3.1.4 Polissacarídeos de frutos

A maioria dos relatos presentes na literatura sobre polissacarídeos presentes em frutas enfatizam a presença de compostos pécticos. Como discutido anteriormente (*Subitem 3.3.1.3*) estes polissacarídeos são dotados de imensa complexidade estrutural e desempenham importantes funções no tecido do vegetal, com destaque para a morfologia, crescimento e proteção.

Diferentes agrupamentos de pectinas podem ser distinguidos pela sua composição de açúcar e quantidade de ácido urônico, podendo sua estrutura química ser extremamente

heterogênea, apresentando variações entre espécies, tecidos e até mesmo entre as diferentes partes do fruto (WILLATS et al., 2006).

A literatura aponta diferentes concentrações de ácidos urônicos em pectinas extraídas de diferentes frutas. Para a polpa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), Vriesmann e Petkowicz (2009) reportaram valores de 65% de ácidos urônicos; para os frutos de pitaya, Ramírez-Truque et al. (2011) citaram valores de 32,2% e para laranja uma quantidade de 78% de ácido urônico foram apontadas por Prabasari et al. (2011). Entretanto que o método de extração em questão pode promover grande variação do conteúdo de ácidos urônicos. Silva et al. (2012) realizaram extração aquosa a quente do maracujá e encontraram menor proporção de ácidos urônicos (44,2%) do que aquela encontrada por Yapo e Koffi (2006) ao realizar extração com solução de ácido nítrico (75,2%).

Frutas como o cacau, mamão, banana, abacate, caju e alguns cítricos, a maior parte de unidades de ácido galacturônico de pectinas, é normalmente encontrada nas regiões de homogalacturonanas, o que enfatiza a presença de regiões de HG sobre aquela de RG-I (VRIESMANN et al., 2011; YAPO, 2011).

Para a polpa de gabioba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg), Santos et al. (2010) verificaram um considerável grau esterificação, sendo verificado a presença de ácidos urônicos, arabinose, galactose e ramnose como constituintes principais do polissacarídeo. Para os frutos de araçá (*Psidium coccineum*) Vriesmann et al. (2009) identificaram frações pecticas solúveis em água contendo 30% de ácido urônico e 50,3% de arabinose que juntamente com a galactose formaram cadeias laterais características da referida macromolécula.

Para a polpa de cupuaçu Vriesmann et al. (2009) identificaram uma estrutura pectica cujas frações apresentaram uma variação na concentração D-GalpA de 40-48 % (mol). O teor de ácido urônico foi de 20% e a principal característica da estrutura investigada foi à presença nas cadeias laterais de galactose como monossacarídeo predominante e baixa porção de arabinose. A estrutura identificada apresentou ainda grau de esterificação variando de 39 a 53% para as frações pecticas avaliadas.

Os estudos de Iacomini et al. (2005) realizados com a polpa do cajá (*Spondias cytherea* L.), caracterizaram uma RG-I com ramificações de AG-I; Para o extrato da polpa de pêssego (*Prunus persica* L.) Simas-Tosin et al. (2012) isolaram uma HG e uma AG-II; Na polpa

da manga espada (*Mangifera indica* L.) e do maracujá (*Passiflora edulis* F.) foram caracterizadas uma HG e uma RG-I (IAGHER et al., 2002; SILVA et al., 2012).

### **3.3.2 Polissacarídeos de vegetais: Atividade biológica**

Tem-se observado que os polissacarídeos de plantas têm atraído grande atenção por representarem uma classe de moléculas bioativas e seguras, com efeitos adversos pouco pronunciados. Muitas destas macroestruturas derivadas de plantas superiores são relativamente atóxicas não sendo observados efeitos colaterais quanto sua aplicação, os quais constituem uns dos maiores problemas associados com polissacarídeos isolados de bactérias e compostos sintéticos. Aliado a esse fato propriedades como a biodegradabilidade, a abundância na natureza e versatilidade de aplicações fazem destas macromoléculas amplamente utilizadas na engenharia, biotecnologia e medicina (EIRAS et al., 2007; INNGJERDINGEN et al., 2007).

As atividades biológicas dos polissacarídeos de plantas estão correlacionadas a inúmeros parâmetros estruturais, como composição monossacarídica, tipo e configuração da ligação glicosídica, tamanho dos pontos de ramificação e peso molecular (YANG; ZHANG, 2009).

Muitos polissacarídeos extraídos de plantas ou fungos possuem uma ampla variedade de propriedades biológicas e físicas benéficas (BORCHERS et al., 2004). Alguns deles são capazes de modular a proliferação e ativação de células imunocompetentes (LEUNG et al., 2006), aumentando a expressão de citocinas (HAUER; ANDERER, 1993), além de atuarem como agentes anti-tumorais (WASSER, 2002; LI et al., 2011), anti-virais (ZHANG et al., 2004; LI et al., 2011) e anti-inflamatórios (ZHANG et al., 2004).

Tem-se percebido atualmente que o estresse oxidativo causado por radicais livres vêm sendo responsável por diferentes doenças no homem moderno tais como câncer, doenças cardíacas, aterosclerose, inflamação, carcinogênese, mal de Parkinson e de Alzheimer e envelhecimento. Alguns polissacarídeos quando incluídos na dieta atuam podem atuar como antioxidantes, sendo encontrados em algumas frutas, tais como, *Zizyphus jujuba* (LI et al., 2011) e *Mangifera pajang* (AL-SHERAJI et al., 2012) e em algumas plantas, por exemplo, *Dendrobium nobile* Lindl (LUO et al., 2010) e *Bryopsis plumosa* (SONG, et al., 2010) e atuam também como reguladores intestinais (KOROPATKIN et al., 2012).

Testes utilizando lesões gástricas *in vivo* apontaram um efeito protetor dos polissacarídeos extraídos de raízes de *Lupuleurum falcatum* (YAMADA et al., 1991), folhas de *Panax Ginseng* (KIYOHARA et al., 1994), a alga marinha *Capsosiphon fulvescens* (HWANG et al., 2008), por exemplo. O principal mecanismo de ação comumente atribuído aos polissacarídeos está relacionado ao aumento da produção de muco, conforme verificado em animais tratados com polissacarídeos (YANG et al., 2012). Mellinger-Silva et al. (2011) verificaram que os polissacarídeos extraídos da cana-de-açúcar incrementaram a produção de muco em 70%, o que resultou num aumento da citoproteção, com redução da úlcera gástrica em 50%. Outros mecanismos de ação também têm sido investigados, como o aumento da glutathione, observado para os polissacarídeos da alga comestível *Hizikia* (CHOI et al., 2009), bagaço de cana-de-açúcar (MELLINGER-SILVA et al., 2011).

### **3.3.3 Principais métodos de análise para polissacarídeos**

As propriedades típicas dos polissacarídeos estão diretamente relacionadas com as características químicas, físicas e estruturais de cada polímero. Massa molar (número de unidades por molécula), configuração anomérica ( $\alpha$  ou  $\beta$ ), conformação (linear, ramificada, helicoidal, agregação entre cadeias), presença de grupamentos (carboxila, entre outros), tipo e grau de substituição dos monômeros, posição das ligações glicosídicas entre os resíduos são exemplos de análises para identificar a estrutura destas moléculas. Neste contexto a caracterização química se faz necessária para o direcionamento de suas aplicações industriais (PAZUR, 1994; MACEDO et al., 2002).

A ressonância magnética nuclear (RMN) unidimensional de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e bidimensional, tais como COSY, HMQC, HMBC, TOCSY e NOESY são técnicas amplamente utilizadas na determinação da composição e estrutura das unidades repetitivas dos polissacarídeos. As técnicas de RMN estão entre as principais técnicas capazes de revelar todas as características e mudanças estruturais (MONDAL et al., 2004)

A RMN é uma técnica que se baseia na observação em que núcleos magnéticos tais como  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$  e  $^{15}\text{N}$  podem absorver energia em frequências características, quando colocados em um campo magnético forte. Esta frequência de ressonância de um núcleo particular é expressa como deslocamento químico ( $\delta$ ) e é sensível ao ambiente químico da molécula. Cada molécula tem um espectro de RMN característico que pode ser usado para identificar cada

molécula, como se fosse uma impressão digital (“*fingerprint*”) da mesma. A Tabela 5 traz os principais deslocamentos químicos característicos de polissacarídeos comumente presentes em espectros RMN de  $C^{13}$ .

Outra grande vantagem da referida técnica é seu caráter não destrutivo não implicando na degradação ou modificações das moléculas. Além disso, é possível obter informações quanto aos tipos de ligações existentes entre os monossacarídeos que constituem determinado polissacarídeo, o que a torna uma das primeiras técnicas escolhidas para caracterização estrutural (PESRISLIN; CASU, 1982).

Tabela 5 - Deslocamentos químicos representativos dos grupos presentes nos polissacarídeos em espectros de RMN  $^{13}C$

$^{13}C^a$	$\delta$ (ppm)
CH <sub>3</sub> C	~15
CH <sub>3</sub> COH	20-23
CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub>	20-23
CH <sub>2</sub> C	38
CH <sub>2</sub> O	55-61
CH(NH)	58-61
CH <sub>2</sub> OH	60-65
C-2 a C-5	65-75
C-X <sup>b</sup>	80-87
C-1 (ax-O, red)	90-95
C-1 (eq-O, red)	95-98
C-1 (ax-O, glic)	98-103
C-1 (eq-O, glic)	103-106
C-1 furanosil	106-109
COOH	174-175
C=O	175-180

<sup>a</sup> ax= axial; eq= equatorial; red= redutor; glic= glicosídica; ; <sup>b</sup>  $^{13}C$  não anomérico envolvido em ligação glicosídica.

Fonte: Pesrislin e Casu (1982).

A espectroscopia na região do infravermelho é outro método que tem sido empregado na análise de polissacarídeos. Através deste procedimento são identificados os grupos presentes e a ocorrência de ligação química entre os constituintes, que levarão a identificação da estrutura dos materiais. A configuração das ligações glicosídicas, a presença de ácido urônico, através do sinal característico da carboxila e, até mesmo, a presença de proteína são identificados através da técnica (KRCMAR et al., 1999). Frequências na região do infravermelho, características dos polissacarídeos são registradas na Tabela 6.

A cromatografia de permeação de gel (GPC) é uma técnica utilizada para a determinação da massa molar dos polissacarídeos. Neste caso, por meio de um detector sensível à concentração (como os de índice de refração e ultravioleta) a fração molar (ou a concentração) do polímero eluído através de uma coluna é mensurada. O resultado obtido pela aplicação da técnica é geralmente o volume de eluição ou o tempo de retenção, a partir do qual são utilizados cálculos simples para determinação da massa molar. Essa transformação é realizada utilizando uma curva de calibração com polímeros de massas molares conhecidas e de características estruturais semelhantes às das da amostra analisada. A análise da amostra deve ser realizada conforme o mesmo procedimento de preparo e obtenção da curva de calibração (CAEL et al., 1980)

Tabela 6 - Principais atribuições das bandas de absorção no infravermelho características de polissacarídeos.

Comprimento de onda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuições
3000-3400	v O-H
2930	v C-H
1650	v <sub>as</sub> COO <sup>-</sup>
1420	v <sub>s</sub> COO <sup>-</sup>
1145	v C-O-C (éter da ligação glicosídica)
1070	v C1-H (carbono anomérico)
1025	v C-O (álcool primário)
930	δ C1-H (carbono anomérico em configuração α)
850	δ C1-H (carbono anomérico em configuração β)

Fonte: Gonzaga (2006)

A determinação da composição em monossacarídeos também é fundamental à compreensão da natureza estrutural das macromoléculas. A redução das unidades monoméricas é realizada através de hidrólises, em condições controladas de tempo e temperatura, a fim de se evitar a destruição das unidades glicosídicas e/ou a formação de produtos indesejáveis. Os monossacarídeos também podem ser identificados na forma de seus alditóis-acetatos, os quais são preparados nas etapas sequenciais de hidrólise (utilizando ácido trifluoroacético, TFA), redução (com uso de boridreto de sódio) e por fim acetilação (através de reação com piridina e anidrido acético) (MONDAL, et al., 2004).

## 4 PARTE EXPERIMENTAL

### 1ª ETAPA - EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS PRESENTES EM SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS DO PROCESSAMENTO DA ACEROLA, ABACAXI, CAJU, MANGA E MARACUJÁ

Nesta etapa da pesquisa foi realizada a extração, purificação e cálculo dos rendimentos finais das frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos do processamento de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá.

As análises abordadas foram realizadas no Laboratório de Frutos e Hortaliças do Departamento de Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará.

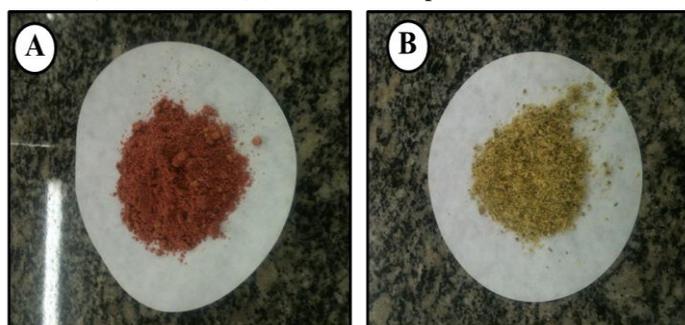
#### 4.1 MATERIAL

##### 4.1.1 *Matéria-prima*

Os subprodutos agroindustriais utilizados no presente experimento foram obtidos do processamento diário de uma indústria produtora de polpas de frutas localizada em Fortaleza (CE- Brasil), sendo provenientes do processamento do abacaxi, acerola, caju, manga e maracujá e constituídos basicamente por películas, cascas, sementes e resíduos de polpa. Os subprodutos foram transportados para o Laboratório de Frutas e Hortaliças da Universidade Federal do Ceará, congelados a  $-50^{\circ}\text{C}$  e liofilizados.

Após completa secagem, cada material foi pulverizado (FIGURA 5) em liquidificador industrial até a obtenção de farinhas finas, sendo armazenados sob-refrigeração ( $12^{\circ}\text{C}$ ) em potes de polietileno sem contato com a umidade.

Figura 5 – Subprodutos de acerola (A) e abacaxi (B) liofilizados e pulverizado

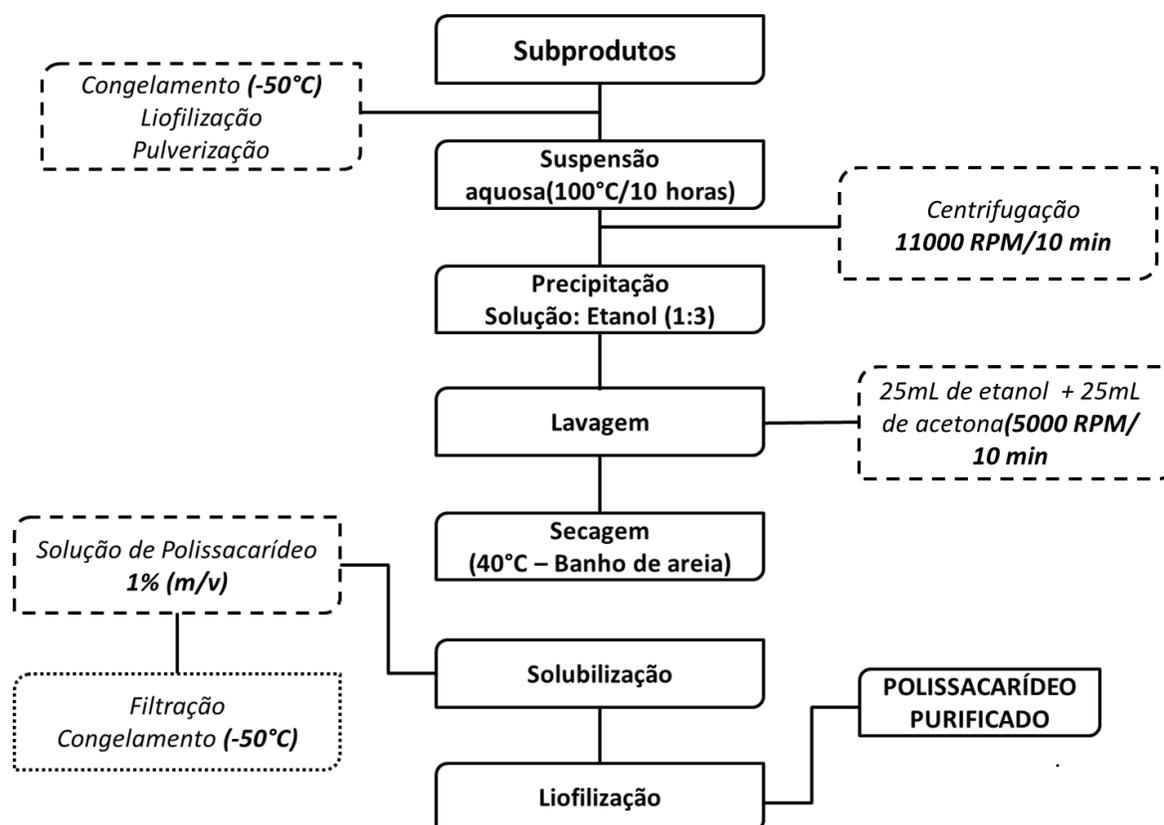


## 4.2 METODOLOGIA

### 4.2.1 Extração aquosa exaustiva

A extração das frações polissacarídicas presentes nos subprodutos de frutas tropicais ocorreu conforme o fluxograma descrito na Figura 6.

Figura 6 – Fluxograma da extração das frações polissacarídicas presentes em subprodutos de frutos tropicais.



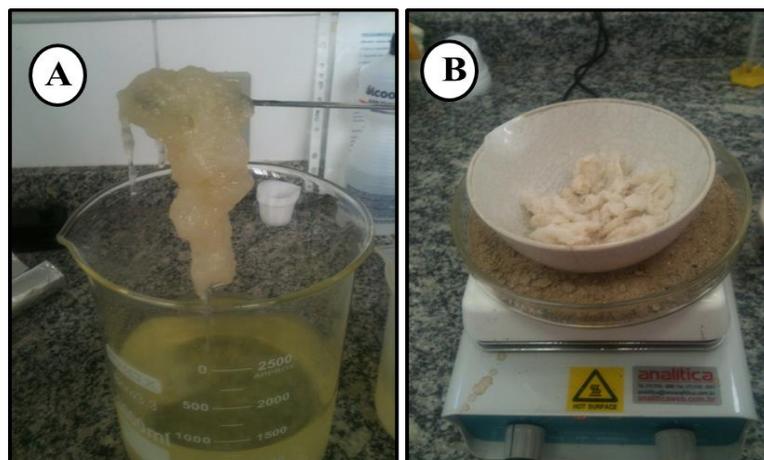
A partir do material pulverizado descrito no item 4.1.1, foram preparadas suspensões aquosas cujas concentrações (TABELA 7) variaram de 1 a 5% em relação à massa de subproduto e volume de água destilada utilizada como solvente. Os sistemas elaborados para cada subproduto permaneceram sob agitação e aquecimento constante (100° C) por dez horas seguidas, para se promover a extração efetiva das frações polissacarídicas solúveis. Após este período, a suspensão foi centrifugada (Rotina 380R – HETTICH) a 11000 RPM por 10 minutos sendo em seguida filtrada para remoção de quaisquer resíduos.

Tabela 7 – Concentração das soluções aquosas preparadas com os subprodutos agroindustriais para a extração das frações polissacarídicas solúveis.

Subprodutos	Concentração da solução aquosa (% m/v)
Abacaxi	5
Acerola	5
Caju	5
Manga	3
Maracujá	1

As frações presentes no extrato filtrado foram precipitadas utilizando-se etanol na proporção 1:3 (extrato/ etanol) sob agitação moderada (FIGURA 7A). O precipitado foi separado do meio alcoólico por centrifugação (5000RPM /10min). Para evitar a eventual presença de traços lipídicos, o precipitado foi novamente centrifugado (5000RPM /10min) na presença de 25mL de álcool P.A e posteriormente 25mL de acetona P.A. O precipitado obtido foi seco a 40°C e pesado (FIGURA 7B).

Figura 7 – (A) Fração polissacarídica extraída do subproduto da manga precipitado com etanol (1:3); (B) Secagem da fração polissacarídica extraída do subproduto da manga em banho de areia a 40°C.



Para o fracionamento, os materiais secos foram reidratados em água (solução a 1% de polissacarídeos) utilizando novamente aquecimento e agitação (50°C por 16 horas). Uma nova centrifugação (5000RPM/ 10min) foi necessária para remover os polissacarídeos não solubilizados. O resíduo insolúvel ocorre, provavelmente, devido à agregação de parte dos polissacarídeos isolados durante a etapa de secagem. Finalmente o extrato final foi filtrado,

congelado (-50° C) e liofilizado, obtendo-se o polissacarídeo seco e purificado.

#### ***4.2.2 Estudo do rendimento***

Para o cálculo do rendimento final levou-se em consideração quantidade de subprodutos liofilizados utilizados na preparação da suspensão aquosa inicial (MS) e o peso final das frações polissacarídicas secas e purificadas (MPP) sendo os valores ajustados de acordo com a Equação 1.

Equação 1 – Cálculo do rendimento das frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá.

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{MPP(g)}{MS(g)}$$

Fonte: Vijayanand e Kulkarni (2010).

Foram realizadas três extrações para cada material, e os resultados apresentados em % (m/m) expressos em média e desvio padrão.

## **2ª ETAPA - CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS EXTRAÍDAS DOS SUBPRODUTOS DO PROCESSAMENTO DA ACEROLA, ABACAXI, CAJU, MANGA E MARACUJÁ**

Esta etapa foi realizada no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica do Centro de Ciências da Universidade Federal do Ceará e na Embrapa Agroindústria Tropical do Ceará. As microfotografias foram realizadas em parceria com a Central Analítica da Universidade Federal do Ceará.

### **4.1 METODOLOGIAS**

#### ***4.1.1 Morfologia externa***

As morfologias externas dos polissacarídeos extraídos dos subprodutos do processamento de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá foram determinados utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV) Inspect 50 (DSEM 926 – ZEISS) a 10 - 20 kV.

Para o processo, fragmentos de cada polissacarídeo foram fixados em “stubs” aderidas com o uso de uma fita condutora de carbono de dupla face e então metalizadas com ouro para garantir a condutividade elétrica da superfície de varredura do material. Foram coletadas imagens com amplitudes de 87 a 112 vezes tal que permitiram a análise da fina estrutura superficial

#### ***4.1.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR)***

Para a análise de espectroscopia do infravermelho, amostras dos polissacarídeos estudados foram preparadas em pastilhas de KBr (2mg de ácido húmico + 200mg KBr seco), sendo a leitura realizada em espectrômetro de infravermelho com transformado de Fourier FT-IR 8300 (SHIMADZU) utilizando bandas de leitura no intervalo de 400 a 4000cm<sup>-1</sup>.

Para os cálculos com espectros de infravermelho e plotagem dos gráficos utilizou-se o programa Origin 6.0 (Origin Lab Data Analysis and Graphing Software).

### ***4.1.3 Ressonância magnética nuclear ( $^{13}\text{C}$ - RMN)***

Os espectros de RMN foram obtidos em um equipamento AGILENT DD2 de 600 MHz e equipado com uma sonda One Probe de 5mm de diâmetro interno (H-F/15N-31P) de detecção inversa e gradiente de campo no eixo “z”.

As amostras foram preparadas dissolvendo-se 2mg de cada polissacarídeo em 2mL de óxido de deutério. Os espectros de  $^{13}\text{C}$  foram adquiridos com um tempo de espera entre cada aquisição de 1s, ganho de 30, aquisição de 10 a 25k de transientes, uma janela espectral de 260ppm e 16k de número de pontos.

### ***4.1.4 Estimativa da massa molar por cromatografia de permeação em gel (GPC)***

Massas de aproximadamente 2mg dos polissacarídeos purificados foram solubilizadas em 2,0mL de solução de  $\text{NaNO}_3$  0,1M, sendo em seguida filtradas em membrana de acetato de celulose com poros de 0,45  $\mu\text{m}$ . As soluções foram injetadas (20  $\mu\text{L}$ ), com fluxo de 1mL/ min, em coluna PolySep Linear de 7,8 x 300mm da Phenomenex, sendo utilizada, como fase móvel, solução de  $\text{NaNO}_3$  0,1M à temperatura ambiente. O tempo de corrida foi de 15 minutos. Para a análise a curva de calibração foi construída utilizando-se de padrões de pululana com massas molares em intervalo de grandeza de  $10^3$  a  $10^6$ g/mol. As detecções das frações dos polissacarídeos foram realizadas utilizando-se um cromatógrafo LC-20AD (SHIMADZU), com detectores de índice de refração (RID-10A) e ultravioleta (UV-VIS SPD-10AV).

### ***4.1.5 Dosagem de proteínas solúveis***

#### ***4.1.5.1 Obtenção do extrato***

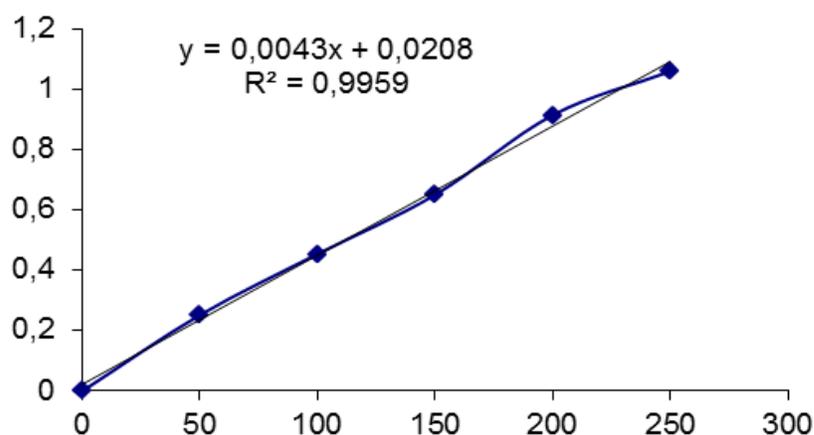
Inicialmente foram pesados aproximadamente 100mg de cada fração dos polissacarídeos que foram então diluídos em 10mL de tampão fosfato de potássio 0,1M (pH 7,0), contendo ácido etilenodiamino tetrácetico (EDTA) 0,1mM, e em seguida centrifugados a 11000 RPM por 30 minutos a 4 °C, com base na metodologia adaptada de Yang, Zheng e Cao (2009).

#### 4.1.5.2 Dosagem de proteínas solúveis totais

Para a dosagem de proteínas solúveis totais utilizou-se a metodologia proposta por Bradford (1976) que se baseia na ligação do corante “Coomassie brilliant blue” BG-250 com macromoléculas de proteínas que contêm aminoácidos de cadeias laterais básicas ou aromáticas.

O reagente de Bradford foi elaborado a partir da dissolução de 100mg de “Coomassie Brilliant Blue BG-250” em 50mL de etanol 95% e, sendo em seguida adicionado 100mL de ácido fosfórico 85%. A solução obtida foi avolumada para 1L com água deionizada. Após filtração em papel de filtro quantitativo (Whatman nº1), a solução foi mantida refrigerada (15°C). Como padrão utilizou-se solução de albumina sérica bovina – BSA (SIGMA), com concentrações variando de 0, 50, 100, 150, 200 a 250µg/mL para a construção da curva de calibração (FIGURA 8).

Figura 8 – Curva de calibração para a dosagem de proteínas solúveis totais em frações polissacarídicas extraídas de subprodutos de frutos tropicais pelo método de Bradford (1976)



Para a quantificação de proteínas utilizaram-se alíquotas de 0,1mL de cada extrato obtido, sendo adicionado 1mL do reagente de Bradford a cada um com posterior homogeneização utilizando agitador de tubos tipo Vortex. Após 30 minutos de reação, as leituras das absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro a 595nm. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos % (m/m) e apresentados em média e desvio-padrão.

#### **4.1.6 Tratamento estatístico**

Para os cálculos e plotagem dos gráficos, nesta seção, utilizou-se o programa Origin 6.0 (Origin Lab Data Analysis and Graphing Software. OriginLab Corporation – Northampton, MA 01060 USA).

### **3ª ETAPA - ENSAIOS DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS EXTRAÍDAS DOS SUBPRODUTOS DE ACEROLA, ABACAXI, CAJU, MANGA E MARACUJÁ**

O ensaio antioxidante *in vitro* foi realizado no Laboratório de Frutas e Hortaliças do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará do Centro de Ciências e o ensaio *in vivo* realizado no Departamento de Morfologia da Universidade Federal do Ceará.

## **4.1 METODOLOGIA**

### **4.1.1 Ensaio antioxidante *in vitro* com a radical livre ABTS•+**

A atividade antioxidante total (AAT) foi determinada através do ensaio com o radical livre ABTS•+, conforme Rufino et al. (2010) com modificações.

Soluções aquosas foram preparadas pesando-se aproximadamente 0,1g de cada fração polissacarídica, sendo estas solubilizados em 50mL de água destilada, com agitação e leve aquecimento (30°C), até a total solubilização. Foram utilizados 12, 20 e 30µL dos extratos, obtendo-se concentrações respectivas de 10.000, 6.600 e 4.000ppm. O radical ABTS•+ foi gerado através da reação de 5mL de solução aquosa de ABTS•+ (7mM) e 88µL de solução de persulfato de potássio a 140mM (2,45mM concentração final). A mistura permaneceu no escuro por aproximadamente 16 horas, sendo posteriormente sua absorbância ajustada para  $0,7 \pm 0,05$ , em um comprimento de onda de 734nm. Tomou-se como referência o Trolox (ácido 2-carboxílico-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano) e o decréscimo da absorbância a 734nm foi medido depois de 6 min.

Para se determinar a taxa de eliminação do radical ABTS•+, utilizou-se a fórmula TE (%) =  $(1 - A/A_0) \times 100$  conforme indicação de He et al. (2014), onde  $A_0$  é a absorvância da solução de radical ABTS•+ sem a amostra e A, a absorvância da solução de radical ABTS•+ com a amostra. Adotou-se 3 concentrações de soluções aquosas das frações polissacarídicas (0,012; 0,02 e 0,03mg/mL). Nestas condições, fixou-se a concentração de 0,03mg/mL, para calcular a redução da absorvância inicial da solução de ABTS•+ (700nm) pelas frações polissacarídicas.

O ensaio foi realizado em triplicata e os resultados para a AAT foram expressos como TEAC (Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox) em  $\mu\text{M}$  de Trolox/g de fração polissacarídica seca. Os resultados foram apresentados em média e desvio padrão.

#### ***4.1.2 Citotoxicidade das frações polissacarídicas frente a células epiteliais humanas***

A citotoxicidade das frações polissacarídicas foi determinada segundo o descrito por Mossman (1983) utilizando o MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-brometo de tetrazólio]. Enzimas desidrogenases mitocondriais têm a capacidade de clivar o anel tetrazólio do corante utilizado, formando um cristal insolúvel de formazan de cor roxa. Após a solubilização com DMSO (dimetil-sufóxido), obtém-se uma solução cuja absorvância pode ser medida, sendo que a intensidade da cor mensurada será diretamente proporcional à quantidade de células viáveis.

Para o procedimento, 200 $\mu\text{L}$  da suspensão celular (aproximadamente 20000 células - cultura IEC 6) foram incubadas em placas na estufa de  $\text{CO}_2$  pelo período de 24 horas. Passado a incubação o meio de cultura foi removido e as células foram tratadas com 100 $\mu\text{L}$  das soluções contendo as frações polissacarídicas (concentrações de 50 e 100%) e o controle positivo (toxina A do *Clostridium difficile*), sendo incubadas em estufa de  $\text{CO}_2$ , por mais 24 horas e posterior remoção do meio de cultura. Os poços da placa foram lavados 2 vezes com PBS estéril e a cada um foram adicionados 100 $\mu\text{L}$  da solução de MTT (5mg/mL) em meio Krebs. O sistema permaneceu em repouso por 20min a 37°C, no escuro. Após a incubação, a solução de MTT foi removida e foi adicionado 1mL de isopropanol-ácido para dissolver os cristais de "formazan". Finalmente foi adicionado a todos os poços 100 $\mu\text{L}$  de DMSO puro, sendo a placa agitada por 5 min com espera de mais 5min para a estabilização da cor. As amostras foram colocadas em cubetas de 1,5mL e a absorvância lida a 570nm no espectrofotômetro, usando como branco uma solução preparada com 0,5mL de MTT (0,5mg/mL) e 1mL de isopropanol-ácido.

Os resultados das absorvâncias obtidas foram submetidos ao teste de comparação

múltipla de Bonferroni's e os resultados expressos em média e desvio padrão.

#### ***4.1.3 Ensaio antioxidante in vivo utilizando o modelo de lesão gástrica induzida por etanol***

##### ***4.1.3.1 Animais***

No presente trabalho foram utilizados ratos Wistar, machos, pesando entre 200 e 250g. Os animais foram acondicionados em caixas plásticas e mantidos a uma temperatura de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  num ciclo de 12h luz/12h escuro. Os animais foram privados de alimento por 24 horas antes dos experimentos, tendo acesso livre a água. Os ratos foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal do Ceará – UFC e pelo Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia - UFC. Os protocolos experimentais estão de acordo com os padrões de uso de animais experimentais e esse trabalho foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa Faculdade de Medicina de Universidade Federal do Ceará (UFC) sob número de protocolo é 078/14.

##### ***4.1.3.2 Efeito das frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos de frutos no modelo de lesão gástrica por etanol em ratos***

Para a presente análise os animais foram divididos nos seguintes grupos:

*i)* Grupo não lesionado com etanol 50% (*naive*): Animais tratados apenas com solução salina (1%) por gavagem;

*ii)* Grupo controle: Animais tratados com solução salina 1% por gavagem e após 30 minutos com etanol 50% (4mL/Kg) também por gavagem;

*iii)* Grupos testes: Animais tratados com soluções aquosas de frações polissacarídicas obtidas da acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá (1mg/Kg) por gavagem, e após 30 minutos administrado etanol 50% (4mL/Kg), também por gavagem.

Os animais foram sacrificados 1 hora depois por deslocamento cervical e os estômagos foram removidos e abertos ao longo da grande curvatura (KO; CHO, 1998). Em seguida as amostras foram retiradas, pesadas e congeladas à  $-80^\circ\text{C}$ , para determinação das dosagens de grupos sulfidrilas (GSH), malonaldeído (MDA).

No presente experimento, foram utilizados pelo menos seis animais para cada grupo, e no caso do grupo teste seis animais para cada grupo de polissacarídeo.

#### *4.1.3.2.1 Determinação da concentração de glutatona (GSH) na mucosa gástrica de ratos tratados com frações polissacarídicas extraídas de subprodutos de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá no modelo de lesão gástrica por etanol em ratos*

A dosagem de GSH foi realizada através da determinação dos grupos sulfidrílicos não protéicos (glutatona), de acordo com a metodologia descrita por Sedlak e Lindsay (1968) nas amostras de tecidos gástricos de camundongos submetidos aos tratamentos anteriormente citados. A determinação do GSH baseia-se na reação do DTNB (5,5'-dithio-bis-2-ácido nitrobenzóico), com o tiol livre originando o ácido 2-nitro-5-tiobenzóico.

Inicialmente, 50 - 100mg da mucosa gástrica foi homogeneizado em EDTA 0,02M (1 mL/100g de tecido) gelado. A uma alíquota de 400µL do homogenato foi adicionado 320µL de água destilada, e 80µL de ácido tricloroacético (TCA) a 50%. Em seguida o material foi centrifugado a 5000 RPM por 15min, seguido de agitação e filtração. Depois de centrifugado, 400µL dos sobrenadantes foram misturados a 800µL de tampão Tris 0,4M (pH 8.9) e, por fim, foram adicionados 20mL de DTNB a 0,01M. Os sistemas foram agitados por 3 min e a absorbância foi determinada a 412nm, em espectrofotômetro. A concentração de GSH/g de tecido foi determinada a partir de uma curva padrão de glutatona reduzida, processada de maneira semelhante. Os resultados foram expressos em µg de NPSH/g de tecido.

#### *4.1.3.2.2 Determinação da concentração de malonaldeído (MDA) na mucosa gástrica de ratos tratados com frações polissacarídicas extraídas de subprodutos de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá no modelo de lesão gástrica por etanol em ratos*

O método empregado foi baseado na reação com o ácido tiobarbitúrico (TBA). Nesta reação, duas moléculas de TBA reagem estequiometricamente com uma molécula de MDA para formar uma solução de cor rosa, que tem absorbância máxima em pH ácido em 532 a 535nm. Os níveis de malonaldeído na mucosa gástrica foram determinados pelo método de Uchiyama e Mihara (1978). Fragmentos da mucosa gástrica de camundongos submetidos aos tratamentos

citados anteriormente foram homogeneizados com KCl gelado 1.15% para obtenção de um homogenato à 10%. Meio mililitro (0,5mL) do homogenato foi pipetado dentro de um tubo falcon de 10mL, contendo 3mL de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (1%) e 1mL de uma solução aquosa de ácido tiobarbitúrico aquoso (0,6%). Posteriormente, os tubos foram aquecidos, por um período de 45 minutos, em um banho de água fervendo e a mistura reacional foi, então, resfriada em banho de água gelada, seguida da adição de 4mL de n-butanol. Após a adição de n-butanol, as amostras foram agitadas por 40s em um misturador vortex e depois centrifugados a 3000 RPM por 10 min. O sobrenadante foi mensurado a uma absorbância de 520 e 535nm, em espectrofotômetro, sendo o conteúdo de MDA calculado pela diferença entre as duas absorbâncias. Os resultados foram expressos em nmol/g de tecido gástrico.

#### ***4.1.3.2 Análise estatística***

A análise estatística foi realizada empregando o teste de análise de variância (ANOVA). Quando houve diferença significativa entre os grupos, foi realizado o teste de comparações múltiplas de Newman-Keuls. Os resultados foram expressos ou como média  $\pm$  E.P.M (variáveis com distribuição normal) ou pela mediana  $\pm$  desvio padrão (variáveis sem distribuição normal), sendo as diferenças consideradas estatisticamente significativas quando  $p < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 1ª ETAPA - EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS PRESENTES EM SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS DO PROCESSAMENTO DA ACEROLA, ABACAXI, CAJU, MANGA E MARACUJÁ

Mediante a heterogeneidade e entendimento do termo “subprodutos” e a escassez de referências quanto à extração de polissacarídeos de alguns materiais aqui estudados, foram realizadas comparações com polissacarídeos provenientes de diferentes subprodutos e fontes vegetais. Salienta-se que mesmo sendo matérias-primas distintas um confronto de resultados se faz necessário para avaliar parâmetros comuns como a técnica de extração e perfil químico, por exemplo.

#### 5.1 RENDIMENTOS

Os rendimentos observados para as frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos da acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá, estão presentes na Tabela 8.

Tabela 8 – Rendimento (%) das frações polissacarídicas extraídas a partir dos subprodutos do processamento de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá, utilizando extração aquosa exaustiva.

Polissacarídeos	Rendimento (%) <sup>1</sup>
Acerola	2,54 ± 0,67
Abacaxi	0,8 ± 0,13
Caju	7 ± 1,02
Manga	20 ± 4,8
Maracujá	8 ± 2,09

<sup>1</sup>Rendimento (%m/m) considerando-se a massa do polissacarídeo purificado e a massa do subproduto utilizado para a extração aquosa.

Os dados apresentados na Tabela 8 apontaram que dentre os materiais estudados, a fração extraída do subproduto de manga, apresentou rendimento maior que os demais, superando em 87, 96, 65 e 60% o rendimento daqueles extraídos do subproduto da acerola, abacaxi, caju e maracujá respectivamente. Rendimentos próximos foram observados para os materiais extraídos

do caju e do maracujá (7 e 8% respectivamente), sendo o menor rendimento aquele apresentado para o subproduto do abacaxi (0,8%).

Para os polissacarídeos extraídos da casca do maracujá, Silva et al. (2012) apontaram um rendimento igual a 34,9% (m/m) sendo este rendimento 77% superior ao verificado na presente pesquisa para a fração extraída do mesmo subproduto. No entanto, rendimentos iguais a 13,4 e 14,8% foram reportados por Yapó e Koffi (2006) e Vijayanand e Kulkarni (2010) respectivamente, para o mesmo material, estando estes resultados próximos aos reportados na presente pesquisa, considerando neste caso a particularidade de constituição destes materiais.

Para o polissacarídeo extraído da polpa de manga, rendimento de 10% foi indicado por Iagher et al. (2002). Em comparação com o presente estudo, observou-se que o subproduto do mesmo fruto, apresentou um rendimento 50% superior em relação à polpa.

Para os frutos de mirtilo (*Myrtus communis* L.) e *physalis* (*Physalis alkekengi* L.) foram obtidos rendimentos de 3 e 0,71% respectivamente (CHIDOUH et al., 2014; TONG; WANG, 2008). Para os frutos da amoreira, 100 gramas de amostra seca resultaram em 0,2 gramas de polissacarídeos (LEE et al., 2013) e para os frutos do tamarilho (*Solanum betaceum*), cujos os rendimentos das diferentes frações analisadas variaram de 0,05 a 0,52% (NASCIMENTO, 2013).

Além dos citados anteriormente, a literatura faz referência a diferentes rendimentos para polissacarídeos extraídos fontes vegetais, como para o araçá, 1 - 3,8% (VRIESMANN et al., 2009) beterraba, 5,1 - 16,2% (YAPO et al., 2007); bagaço de maçã, 5 - 16,8 % (MARCON et al., 2005) e gabioba 2,11 - 5,98% (SANTOS et al., 2010).

Levigne et al. (2002) reportaram que a condição de extração tem efeitos não apenas na estrutura química do material extraído mas também no seu rendimento final. De fato a literatura discorre que diferentes técnicas de extração estão associadas a variações no rendimento. A extração ácida, por exemplo, oferece maiores rendimentos (até 20%) em pectina de alta metoxilação (LEVIGNE et al., 2002) sendo esta situação, por vezes, preferível e mais usada pelos pesquisadores, por não está relacionada a mudanças profundas na fina estrutura do polissacarídeos o que permite uma caracterização mais confiável (JOYE; LUZIO, 2000). Entretanto, tem-se observado que a redução extrema do pH pode ser desfavorável, visto que pode acelerar a degradação do polímero e a desesterificação da pectina (YAPO et al., 2007; CHO; HWANG 2002).

Estudando os efeitos da extração ácida no rendimento de polissacarídeos da casca de maracujá, Vijayanand e Kulkarni (2010), detectaram valores de 3,84; 5,07; 9,02 e 7,49% para pH 1; 1,5; 2,3 e 2,5 respectivamente. Os autores concluíram que em pH 1 e 2,5 os rendimentos não foram significantes, sendo o rendimento em pH 2 apresentando o melhor resultado. Resultados semelhantes foram obtidos por Yinhu e Huifang (2003) para os polissacarídeos extraídos dos frutos do kiwi (*Actinidea deliciosa*).

Diferenças quanto a técnica de extração, foram estudadas por Vriesmann et al., (2009) para os frutos de araçá, obtendo rendimentos iguais a 3,8, 1 e 0,6% para os polissacarídeos extraídos utilizando água, EDTA e KOH, respectivamente. Os resultados verificados pelos autores apontaram que um maior rendimento foi obtido utilizando a extração com água. Tal fato pode ser endossado por Petkowicz e Vriesmann (2009) que para os frutos de cupuaçu, obtiveram um maior rendimento utilizando extração aquosa em temperatura igual a 25°C.

Wang, Liu e Hu (2014) estudaram maciçamente parâmetros que oferecessem as melhores respostas para extração e consequente rendimento de polissacarídeos extraídos de *Trametes robiniophila*, as principais conclusões são descritas a seguir:

a) Estudando os efeitos na concentração da solução, temperatura e ultrassom na extração de polissacarídeo de *Trametes robiniophila* os autores verificaram que quanto maior a proporção de água utilizada para extração do polissacarídeo, maiores serão os rendimentos obtidos, até determinado ponto, onde o rendimento tende a diminuir. Para este caso, Xu et al. (2014) explicaram que quanto maior a proporção de água menor será a concentração e viscosidade do solvente de extração. Neste caso, moléculas de polissacarídeos podem se dissolver em maior proporção na água o que resulta em um maior rendimento;

b) Temperaturas elevadas podem estar relacionadas a um maior rendimento dos polissacarídeos. Os autores consultados apontaram que o aumento da temperatura promove um aumento do coeficiente de difusão o que resulta em uma maior solubilização no solvente de extração. No entanto, foi observado, que um aumento consecutivo da temperatura pode resultar em uma queda drástica no rendimento dos polissacarídeos, sendo este fato atribuído a uma degradação da estrutura da macromolécula. Temperaturas no intervalo de 50 a 70°C foram reportadas como sendo as mais adequadas à extração dos polissacarídeos, estando estas próximas às adotadas na presente pesquisa;

c) Utilizando ultrassom como técnica de extração, os autores reportaram uma relação proporcional entre aumento da extração e aumento da potência do ultrassom. Entretanto, verificaram que potências acima de 60W podem promover uma queda no rendimento. Esse fato é explicado por Zhang et al. (2013) que citam que a alta potência causa hidrólise de polissacarídeos e agregação, levando a um aumento da viscosidade da solução e causando consecutivamente a redução do rendimento de extração.

## **2ª ETAPA- CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DAS FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS EXTRAÍDAS DOS SUBPRODUTOS DO PROCESSAMENTO DA ACEROLA, ABACAXI, CAJU, MANGA E MARACUJÁ**

### **5.1 Morfologia externa**

Observou-se que as frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos de acerola (FIGURA 9A), abacaxi (FIGURA 9B), caju (FIGURA 9C), manga (FIGURA 9D) e maracujá (FIGURA 9E), apresentaram semelhança entre si, sendo predominante o aspecto esponjoso e compacto dos mesmos.

As análises morfológicas obtidas por MEV sinalizaram que os materiais da acerola, abacaxi e caju, são semelhantes. De um modo geral, observou-se que os materiais apresentaram uma superfície irregular, compacta e pouco enrugada, sendo indicativo de que a temperatura de extração e secagem utilizadas na extração, não comprometeram suas estruturas. Não foram observados inchaços em nenhuma das frações. Os parâmetros relacionados às microfotografias observados na Figura 9 estão presentes na Tabela 9.

As frações polissacarídicas extraídas da manga e maracujá apresentaram estruturas filamentosas lineares com uma pequena proporção de ramificações. Esta observação é endossada por Zhang et al. (2014), que obtiveram imagens semelhantes para os polissacarídeos isolados do *Lycium barbarum*, indicando uma estrutura enredada entre as cadeias constituintes através de interações intermoleculares.

A utilização de solventes básicos e/ou ácidos, e a aplicação de técnicas de extração que combinem temperatura e pressão, por exemplo, podem levar a uma maior grau de destruição da parede celular dos materiais vegetais resultando em polissacarídeos enrugados e inchados (LUO et al., 2014), em contrapartida maiores rendimentos são obtidos utilizando técnicas mais

destrutivas. Xu et al. (2014) ao comparar o uso de calor e ultrassom para extração de polissacarídeos de cascas de *grapefruit*, observaram que no primeiro caso a estrutura das macromoléculas permaneceu intacta e compacta após o processo, entretanto no segundo a macromolécula foi visivelmente alterada, apresentando porosidade, microfraturas e aberturas ocas.

Tabela 9 – Amplitude e resolução das microfotografias das frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá.

<b>Fração polissacarídica</b>	<b>Amplitude (x)</b>	<b>Resolução</b>
Acerola	100	500µm
Abacaxi	87	500µm
Caju	100	1mm
Manga	109	500µm
Maracujá	112	500µm

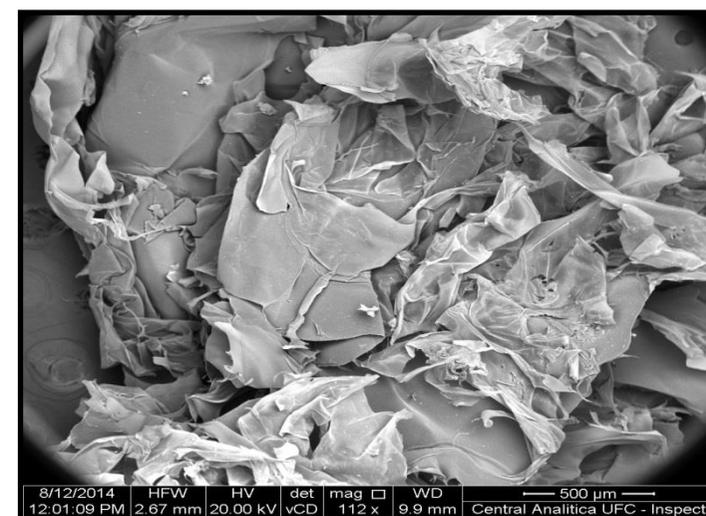
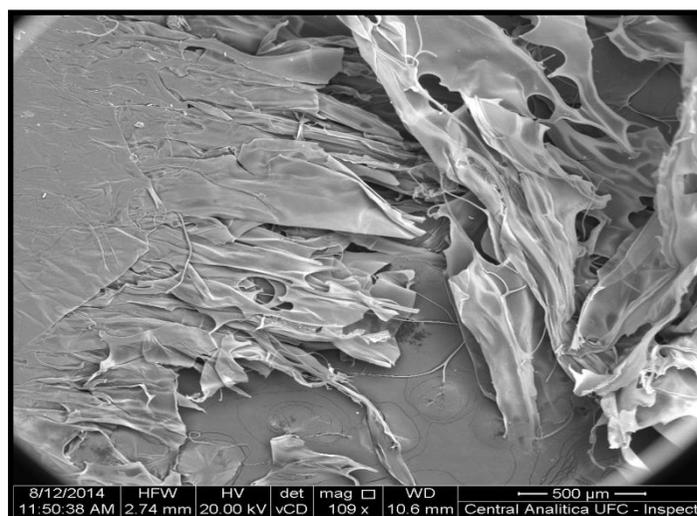
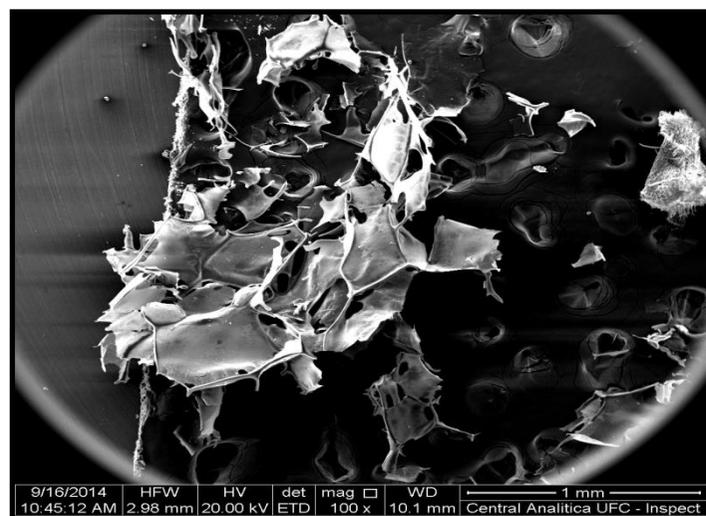
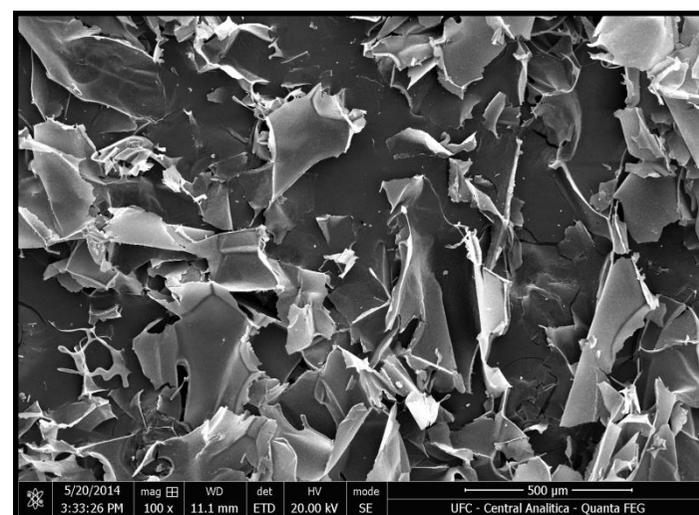
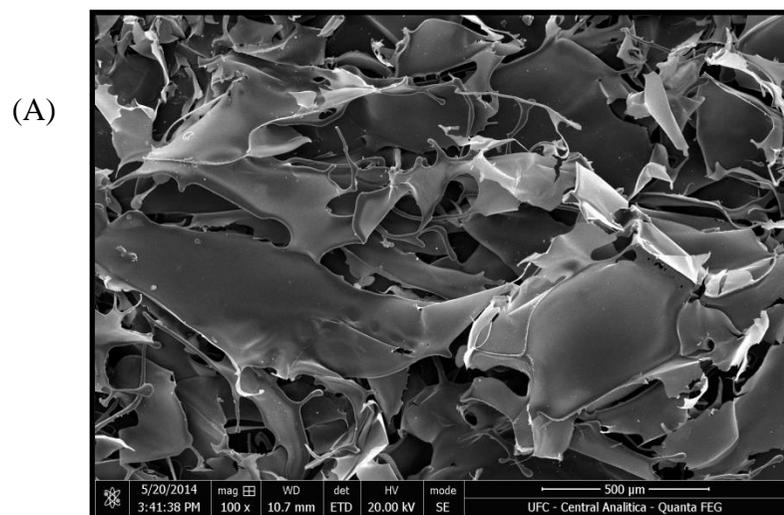
Segundo Chemat et al. (2011) a estrutura porosa dos polissacarídeos, quando extraídos utilizando pressões elevadas, é causada por forças de cavitação que liberam grande quantidade de energia. Combinações de temperatura e pressão promovem a formação de bolhas de colapso sobre a superfície do tecido da planta que são capazes de destruir o material da parede celular. Ao analisar microfotografias dos polissacarídeos extraídos do pericarpo dos frutos de logan (*Dimocarpus longan* Lour) utilizando ultrassom e aquecimento, Yang et al. (2008) constataram que após o processo (120 W, 25°C e 20 min) houve o surgimento de partículas menores e de estrutura complexa devido a degradação e agregação promovidas pelo tratamento. A análise das microfotografias permitiu avaliar as intensas alterações nas características morfológicas dos polissacarídeos ao se aplicar ultrassom. Estas modificações podem contribuir para modificações no peso molecular e nas propriedades químicas das macromoléculas (YANG et al., 2008).

Microfotografias semelhantes às obtidas na presente pesquisa foram obtidas de *grapefruit*. O mesmo foi determinado por Luo et al. (2014) e Minjares-Fuentes et al. (2014) ao extraírem pectinas de folhas de *Catharanthus roseus* e bagaço de uva, respectivamente.

A microscopia de varredura eletrônica torna-se uma ferramenta útil, de um modo geral, para elucidação das características morfológicas de polissacarídeos bem como à verificação

das modificações estruturais que eventualmente podem ocorrer quando se utiliza métodos de extração que ocasionem maiores danos às estruturas da parede celular da matéria-prima utilizada.

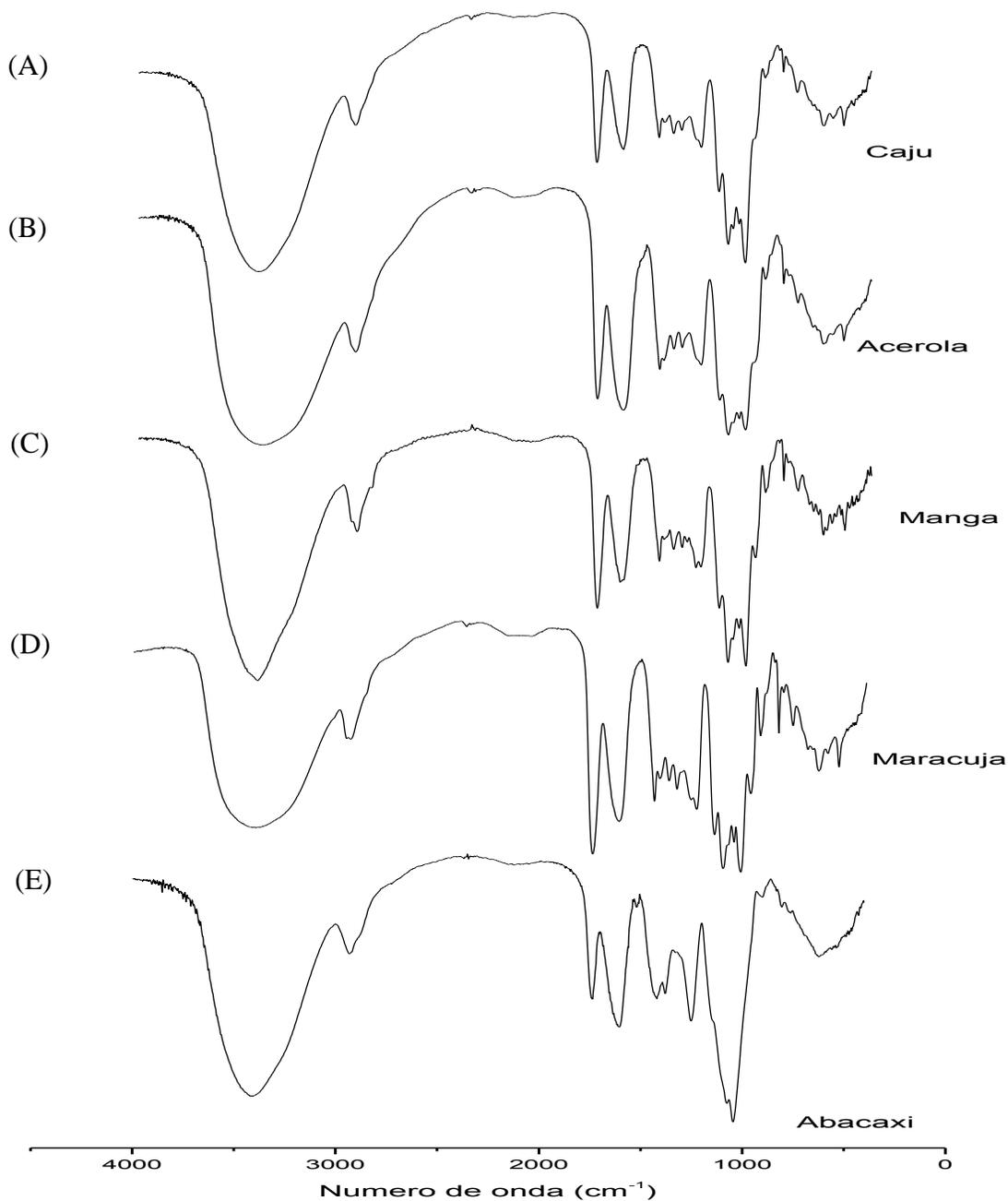
Figura 9 – Microscopia de varredura eletrônica (MEV) das frações polissacarídicas isoladas dos subprodutos de acerola (A); abacaxi (B); caju (C); manga (D); maracujá (E) extraídos sob aquecimento exaustivo.



## 5.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR)

A Figura 10 apresenta os espectros infravermelhos das frações polissacarídicas extraídas a partir dos subprodutos estudados. Para valores mais específicos em relação à estrutura dos polissacarídeos, utilizou-se espectros de infravermelho entre  $4000$  e  $400\text{cm}^{-1}$ .

Figura 10 - Espectros infravermelho das frações polissacarídicas isoladas dos subprodutos dos frutos caju (A) acerola (B), manga (C), maracujá (D) e abacaxi (E) em pastilha de KBr.



Os espectros infravermelhos das frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá apresentaram similaridade entre si, conforme o evidenciado na Figura 10. As atribuições das principais absorções são características das estruturas glicosídicas (TABELA 10) relacionadas com o estiramento dos grupos OH ( $3000 - 3500 \text{ cm}^{-1}$ ), CO ( $1034 \text{ cm}^{-1}$ ), éter da ligação glicosídica C-O-C ( $1150 \text{ cm}^{-1}$ ) e carbono anomérico C1-H ( $1079, 929 \text{ e } 858 \text{ cm}^{-1}$ ) (BRONDSTED; HOVGAARD; SIMONSEN, 1995). A indicação de que se tratam de polissacarídeos é fundamentada pelas frequências próprias citadas anteriormente bem como suas intensidades. A essas informações somam-se os valores de massa molar determinados por GPC, apresentados no *item 5.4*, os quais são característicos de macromoléculas.

Tabela 10 - Atribuições das frequências das principais bandas das frações polissacarídicas isoladas dos subprodutos dos frutos caju, acerola, manga, maracujá e abacaxi.

Nº de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuições
3396	$\nu$ (O-H) e (N-H)
2930	$\nu$ (C-H)
1653	$\nu_{\text{as}}$ (COO <sup>-</sup> ) carboxila
1411	$\nu_{\text{s}}$ (COO <sup>-</sup> ) carboxila
1242	Proteína não ordenada
1150	$\nu$ (C-O-C) éter da ligação glicosídica
1079	$\nu$ (C1-H) carbono anomérico
1034	$\nu$ (C-O) álcool primário
929	$\delta$ C1-H em configuração $\alpha$
858	$\delta$ C1-H em configuração $\beta$

Verificou-se na presente pesquisa que os estiramentos para os grupos hidroxilas (O-H) apresentaram vibrações em torno de  $3396\text{cm}^{-1}$ , estando estes valores semelhantes aos verificados para Zhang et al. (2014) e Santos et al. (2010) que estudaram respectivamente as propriedades antioxidantes dos polissacarídeos extraídos dos frutos da goiabeira de gabioba (*Campomanesia pubescens*), e verificaram picos iguais a  $3400\text{cm}^{-1}$  para o referido grupamento. Estiramento de  $3407\text{cm}^{-1}$  para o referido grupo químico foi relatado por Yang et al. (2006) para os frutos de lichia (*Litchi chinensis* Sonn).

As ligações C-H são predominantes em carboidratos e para tais atribuições observaram-se estiramentos iguais a  $2930\text{cm}^{-1}$ . Os sinais detectados na presente pesquisa estão de acordo com o determinado por Zhang et al. (2014), que verificaram um sinal idêntico para a referida atribuição e próximos ao verificado Yang et al. (2006), que reportaram estiramento de  $2931\text{cm}^{-1}$  para o referido grupo. Por sua vez, Santos et al. (2010) determinaram um pico de  $2922\text{cm}^{-1}$  e o atribuíram a grupamentos alquila.

A presença de carbonos anoméricos foi evidenciada pelos estiramentos 1079, 929 e  $858\text{cm}^{-1}$  (TABELA 10). Bandas semelhantes foram reportadas para polissacarídeo extraído da goiaba, estudado por Zhang et al. (2014), que verificaram estiramentos de 1073, 898 e  $873\text{cm}^{-1}$  para  $\nu$ -(C1-H)  $\alpha$ -(C1-H) e  $\beta$ -(C1-H) respectivamente. Lv et al. (2014) detectaram para o  $\nu$ -(C1-H), valores idênticos ao reportados na presentes pesquisa. Os mesmos autores verificaram estiramentos de  $855\text{cm}^{-1}$  para  $\alpha$ -(C1-H) e  $929\text{cm}^{-1}$  para  $\beta$ -(C1-H).

Segundo Kac̣uráková et al. (2000) a presença de “regiões anoméricas” em polissacarídeos, está relacionada a áreas de ligações com diferentes monossacarídeos. A literatura reporta que estiramentos, iguais e/ou próximos aos detectados na presente pesquisa para o  $\nu$ -(C1-H) ( $1079\text{cm}^{-1}$ ) estão relacionados à presença de unidades de piranose (KAC̣URÁKOVÁ et al., 2000; ZHAO et al., 2005) . Vibrações no intervalo de  $762 - 855\text{cm}^{-1}$  para  $\alpha$ -(C1-H) estão relacionados à presença predominante de ligações  $\alpha$  – piranose (JIA et al., 2014) e por sua vez, vibrações em torno de  $929\text{cm}^{-1}$  para  $\beta$ -(C1-H) associados a deformações de ligações C-H em anéis de piranose (COIMBRA et al., 1998).

A comparação das bandas de absorção dos carbonos anoméricos das frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos do processamento da acerola, abacaxi, caju manga e maracujá, estão dentro dos intervalos citados nos textos consultados, sendo possível afirmar que os mesmos apresentaram em suas estruturas ligações com piranose.

A presença do grupamento carboxila ( $\text{COO}^-$ ) nas frações estudadas (TABELA 10) indicou que estes materiais apresentam caráter ácido, podendo estes grupos ser provenientes de ácido urônico (LEE et al., 2013). Para os polissacarídeos extraídos dos frutos da amoreira (*Morus alba* L.) Lee et al. (2013), verificaram bandas iguais a  $1621$  e  $1416\text{cm}^{-1}$  para grupamentos carboxila ( $\text{COO}^-$ ) assimétricos e simétricos respectivamente, sendo seus valores iguais aos reportados na presente pesquisa. Vriesmann e Petkowicz (2009) verificaram a presença de bandas de  $1600-1630\text{cm}^{-1}$  relativas ao grupamento  $\text{COO}^-$  para os polissacarídeos extraídos de cupuaçu

(*Theobroma grandiflorum*). Para os frutos de gabioba, Santos et al. (2010) reportaram intervalos de bandas de 1739 a 1747 $\text{cm}^{-1}$  que foi atribuída aos grupos carboxílicos dos ácidos urônicos esterificados e 1618 a 1629 $\text{cm}^{-1}$  que foi atribuída a aos grupos carboxílicos livres. Ao comparar os estiramentos verificados pelos autores com os presentes neste trabalho, pode-se concluir que as frações polissacarídicas provenientes dos subprodutos apresentaram em sua estrutura grupos  $\text{COO}^-$  livres (TABELA 10).

Picos de absorção entre 1000 e 1200 $\text{cm}^{-1}$  são específicos para cada polissacarídeo, sendo este intervalo caracterizado por vibrações sobrepostas de anéis, com estiramentos referentes à álcoois (C-OH) e agrupamentos éter (C-O-C) (SANTOS et al., 2010; ZHAO et al., 2005). As frações caracterizadas na presente pesquisa apresentaram em sua constituição agrupamentos C-OH e C-O-C com estiramentos respectivos de 1034 e 1150 $\text{cm}^{-1}$  na banda glicosídica, concordando com os valores referenciados na literatura.

Igualmente ao verificado na presente pesquisa, Lee et al. (2013) atribuíram banda nas regiões entre 948 a 1150 $\text{cm}^{-1}$  como correspondentes à vibrações de grupamentos C-O-C, C-O e C-C em polissacarídeos. Kac̣uráková et al. (2000) atribuíram ao intervalo das vibrações dos grupamentos químicos anteriormente mencionados à estiramentos que podem ser procedentes de alguns açúcares como é o caso de 1150 - 948 $\text{cm}^{-1}$  para ramnogalacturonana tipo 1 (RG1), 1093 – 1045 $\text{cm}^{-1}$  para arabinana e 1074 $\text{cm}^{-1}$  para galactana.

Os espectros apresentados na Figura 10 também revelaram a presença de proteínas evidenciadas pelas bandas em 1653 e 1411 $\text{cm}^{-1}$  (CAREY, 1992; GROSEV, BOZAC E PUPPELS, 2001), que podem ser atribuídas a vibração de grupos amida e também a íons carboxilatos. Em amoras, Lee et al. (2013) detectaram bandas relativas a proteínas de 1651 e 1538 $\text{cm}^{-1}$  para aos grupos amida I e II, respectivamente. Vibrações de deformação de NH, também relativas a proteínas, absorvem frequentemente em 3400 $\text{cm}^{-1}$  (SILVESTEIN, BASSLER E MORRILL, 1994), entretanto conforme observado na Tabela 10, estes sinais podem estar mascarados pela banda larga em torno de 3396 $\text{cm}^{-1}$ , atribuída também aos grupos hidroxila. A análise dos espectros obtidos para as macromoléculas estudadas (FIGURA 10) torna evidente a presença de proteínas não ordenadas, sendo estas representadas pela banda característica em 1242 $\text{cm}^{-1}$  (CAREY, 1992). Portanto, as atribuições sugerem uma associação entre carboidratos e proteínas, com destaque para os expressivos registros relativos aos polissacarídeos, indicando a predominância dessas substâncias em todas as amostras analisadas.

Diferentes modelos de extração e purificação podem estar relacionadas a diferenças, mesmo que sensíveis, no espectro de vibração de polissacarídeos obtidos da mesma fonte vegetal. Essa afirmativa é corroborada por Lv et al. (2014), por exemplo, que ao identificarem a estrutura de polissacarídeos extraídos de *Polygonum multiflorum* Thunb utilizando para purificação solução tampão de fosfato (método a) e solução salina (método b), obtiveram estiramentos para grupo OH de 3420 e 3404 $\text{cm}^{-1}$  respectivamente. Em relação os grupos C-H os autores observaram uma sensível variação de 2927 e 2928 $\text{cm}^{-1}$  para o método a e b, respectivamente. No mesmo contexto, Jia et al. (2014), verificaram varrições vibracionais de 3300 a 3500 $\text{cm}^{-1}$  para grupos OH, ao extraírem polissacarídeos de folhas de chá “falcão” utilizado diferentes variações de tempo e temperatura (TABELA 11).

Tabela 11 - Modificações na frequência de algumas atribuições de polissacarídeos extraídos de vegetais analisadas por espectroscopia no infravermelho

Atribuições	Variações de estiramento ( $\text{cm}^{-1}$ )			
	Presente estudo	Lv et al. (2014)	Jia et al. (2014)	Lee et al. (2013)
O-H	3396	3421 - 3404	3300 - 3500	2500- 2700
C-H	2930	1383 - 1411	2929 - 2989	nv
COO <sup>-</sup>	1653 <sup>as</sup> - 1411 <sup>s</sup>	(1635 - 1637) <sup>as</sup>	(1600 - 1650) <sup>as</sup>	nv
C-O	1034	nv	nv	1232
Proteínas	1242 - 3396	nv	nv	1538 - 1651

NOTA: <sup>as</sup> Assimétrico; <sup>s</sup> simétrico; nv: Não verificado.

Modificações e tratamentos químicos também estão relacionados a alterações no espectro de absorção do infravermelho dos grupamentos químicos de polissacarídeos. Lee et al. (2013) utilizaram etanol acidificado para lavagem do polissacarídeo extraído da amora, verificaram mudanças nos estiramentos do grupo COO<sup>-</sup> ao compararem a amostra tratada com a inicial (sem a lavagem). Os autores justificaram a modificação de absorção devido à passagem do grupo COO<sup>-</sup> para sua forma protonada (COOH) levando o desaparecimento das bandas 1621 e 1416 $\text{cm}^{-1}$  e surgimento das bandas 1740 e 1232 $\text{cm}^{-1}$  que foram associadas a vibrações de C=O e C-O respectivamente.

Estudos específicos foram desenvolvidos por Kac̣uráková et al. (2002) utilizando as vibrações no infravermelho, para a identificação específica de compostos presentes na molécula polissacarídica. Tratando-se de pectinas, os autores determinaram que vibrações em torno de

$1070\text{cm}^{-1}$  podem estar relacionadas à presença de ramnogalacturonanas e  $\beta$ -galactanas. Na presente pesquisa detectou-se uma banda próxima ( $1079\text{cm}^{-1}$ ). Para ligações  $\alpha$ -arabinanas os autores detectaram uma vibração máxima de  $1039\text{cm}^{-1}$  e a para  $\beta$ -galactoarabinanas bandas de  $1074$  e  $1045\text{cm}^{-1}$ . No estudo de hemiceluloses, vibrações de  $1034\text{cm}^{-1}$ , iguais às detectadas na presente pesquisa, foram atribuídas à glucomananas e bandas em torno de  $1078\text{cm}^{-1}$  a galactana. Para monossacarídeos, vibrações em  $1078$  e  $1046\text{cm}^{-1}$  podem estar relacionadas à presença de glicose e ribose.

A análise dos polissacarídeos extraídos dos subprodutos estudados revelaram diversas características sobre a estrutura destes materiais, fazendo referências a materiais pectínicos. Tal técnica é amplamente aplicada para a análise da parede celular de vegetais (KACŮRÁKOVÁ et al., 2000) permitindo o monitoramento do desenvolvimento e variações de suas composições, bem como propriedades físicas e interações com outros biopolímeros, como proteínas, verificados na presente pesquisa (NODA; DOWREY; MARCOTT, 1999).

### 5.3 Ressonância magnética nuclear - $^{13}\text{C}$ -RMN

Os espectros obtidos na presente pesquisa são similares e demonstraram o alto grau de complexidade de todas as frações polissacarídicas estudadas, entretanto, maior semelhança foi percebida para os materiais obtidos da acerola (FIGURA 11A), abacaxi (FIGURA 11B) e caju (FIGURA 11C) quando comparados com espectros da manga (FIGURA 11D) e maracujá (FIGURA 11E).

Em todas as amostras a presença de ácido  $\alpha$ -D-galacturônico pode ser bem evidenciada nos deslocamentos característicos de carbono anomérico em  $\delta$  100,32, 100,391, 100,35, 100,360 e 100,33 para os polissacarídeos de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá, respectivamente.

Ao estudarem a pectina extraída do maracujá, Silva et al. (2012) apresentaram um espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN semelhante aos dos polissacarídeos aqui estudados, com destaque para a presença de ácido galacturônico com sinais em 100 ppm.

Sinais bem característicos em  $\delta$  170,60 foram observados nos espectros dos materiais isolados da acerola caju, manga e maracujá, sendo este sinal referente ao C-6 do ácido  $\alpha$ -galacturônico. Estes deslocamentos foram idênticos aos reportados por Iagher et al. (2002) ao estudarem pectinas da polpa de manga. Sabe-se que sinais em torno de 170,00ppm são

característicos de grupos carboxílicos (VRIESMANN, 2008) que, para os materiais em estudo, estão relacionados ao ácido presente. Estes grupos podem se encontrar metil-esterificados, registrados em torno de 170,60ppm ou na forma livre observado em torno de 174,00ppm (VRIESMANN, 2008). Indicação da presença de grupos carboxílicos livres pode ser observada na fração isolada da acerola, em sinal em torno de 174,87ppm e do abacaxi em 173,82ppm.

Baseado em estudos de Vriesmann (2008), outra indicação da presença de metil-ester do ácido carboxílico ( $\text{COOCH}_3$ ), é o registro do deslocamento em torno de 52,80ppm, igualmente apresentados pelos espectros de RMN- $^{13}\text{C}$  das frações da acerola, caju, manga e maracujá, estando o verificado para o abacaxi também próximo a este valor ( $\delta$  53,17). A análise de infravermelho também detectou a presença deste grupamento químico nos polissacarídeos estudados. Westereng et al. (2008) e Iagher et al. (2002) encontraram valores semelhantes, os quais atribuíram à pectinas isoladas do repolho branco e de manga, respectivamente.

Os deslocamentos claros para o ácido galacturônico reforçam a ideia de que os materiais aqui analisados apresentam caráter péctico.

Além dos carbonos anoméricos típicos para o ácido galacturônico, foram verificados outros deslocamentos próprios de regiões anoméricas para os polissacarídeos obtidos de acerola, abacaxi e caju ( $\delta$  106,4 - 107,44, 107,92 e 107,47), respectivamente. Estes sinais são indicações de unidades de  $\alpha$ -arabinose furanosídica, segundo resultados apresentados por Chidouh et al. (2014).

Para frações polissacarídicas isoladas do abacaxi, acerola e caju foram observados sinais próximos em  $\delta$  104,40 (C-1),  $\delta$  77,00 (C-4),  $\delta$  74,00 (C-5),  $\delta$  73,00 (C-3),  $\delta$  72,00 (C-2) e  $\delta$  69,00 (C-6) atribuídos às unidades de galactose piranosídica,  $\beta$ -D-Galp (1 $\rightarrow$ 4) ligadas (VRIESMANN, 2008)

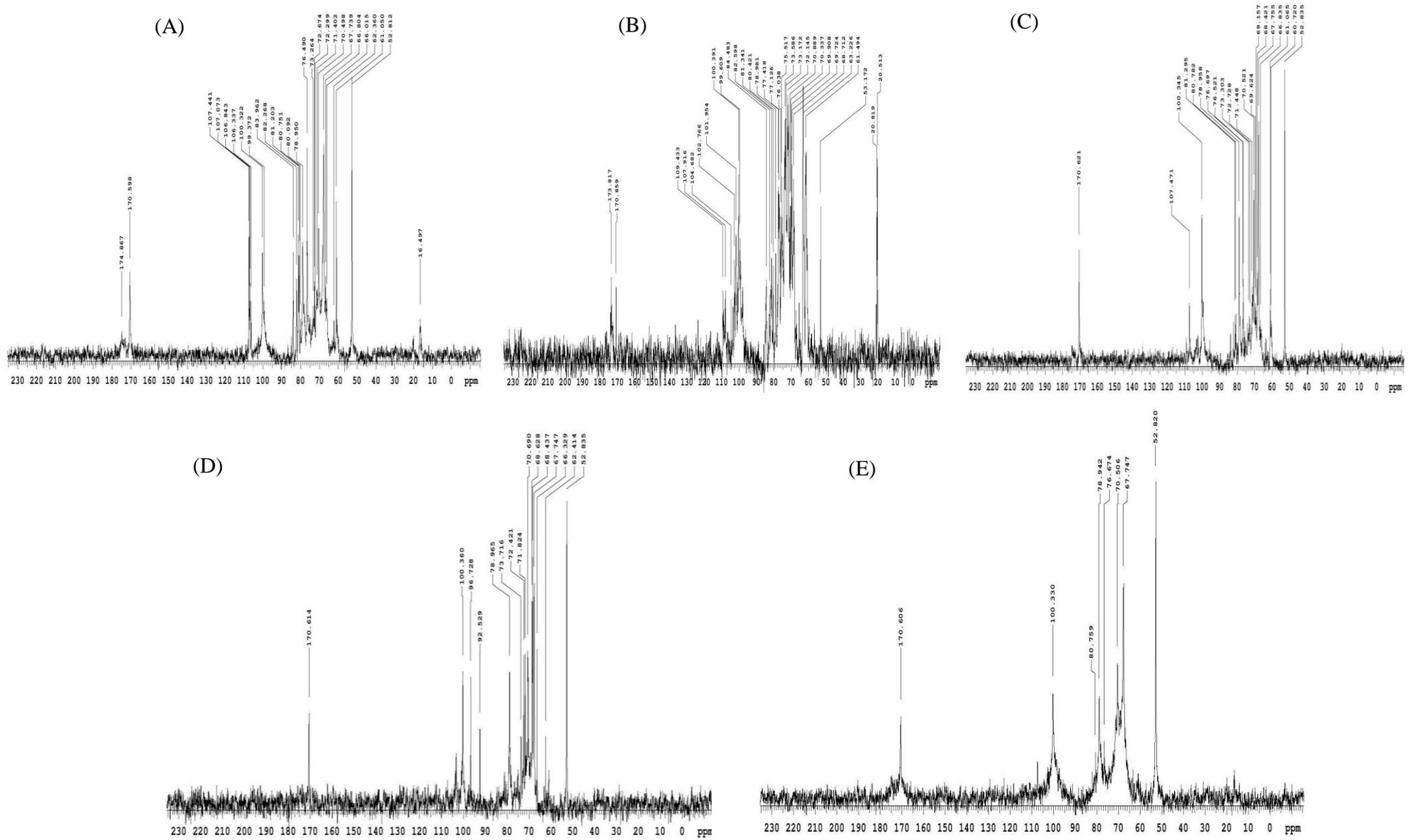
Nas frações polissacarídicas do abacaxi a presença das unidades de  $\beta$ -galactose piranosídica foi reforçada pelo registro de forte sinal de carbono anomérico na faixa  $\delta$  102,76 – 104,682 característicos (CIPRIANI et al., 2004; DELGOBO et al., 1998; TISCHER, et al., 2002). Estes sinais não foram evidenciados nos espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN dos polissacarídeos provenientes da manga e maracujá, podendo ser indicativo de uma menor complexidade da estrutura destes dois materiais, dado que pode contribuir para explicar suas semelhanças, tais como àquelas verificadas em solução, com destaque para as altas viscosidades.

Foram observados deslocamentos em  $\delta$  61,05, 61,49 e 61,06, correspondentes ao C-6 de unidades de hexose não-substituídas neste carbono nos polissacarídeos da acerola, abacaxi e caju, respectivamente (BELESKI-CARNEIRO et al., 1999; DONG; FANG, 2000). Para o abacaxi um sinal em  $\delta$  63,23 foi observado sendo este característico de unidades de pentoses não-substituídas em C-5 (DONG e FANG, 2000).

Cipriani e colaboradores (2004) atribuem a grupamentos  $-\text{CH}_3$  um sinal em torno de  $\delta$  17, assim como Vriesmann (2008), que para o polissacarídeo extraído do cupuaçu apontou um sinal em  $\delta$  16,70 para o mesmo grupamento. Tal grupamento é encontrado na estrutura da ramnose. Entre os materiais analisados na presente pesquisa, o proveniente da acerola apresentou sinal de RMN- $^{13}\text{C}$  típico deste grupamento ( $\delta$  16,5), o que pode indicar a presença de ramnose constituindo as frações polissacarídicas isoladas.

Os resultados encontrados enfatizaram a presença de ácido  $\alpha$ -D-galacturônico, reforçando a ideia de que os materiais aqui analisados apresentam caráter péctico e possivelmente apresentam arabinose, ramnose e galactose em suas constituições. Entretanto, a análise da composição em monossacarídeos, ainda não concluída, confirmará tais indicações.

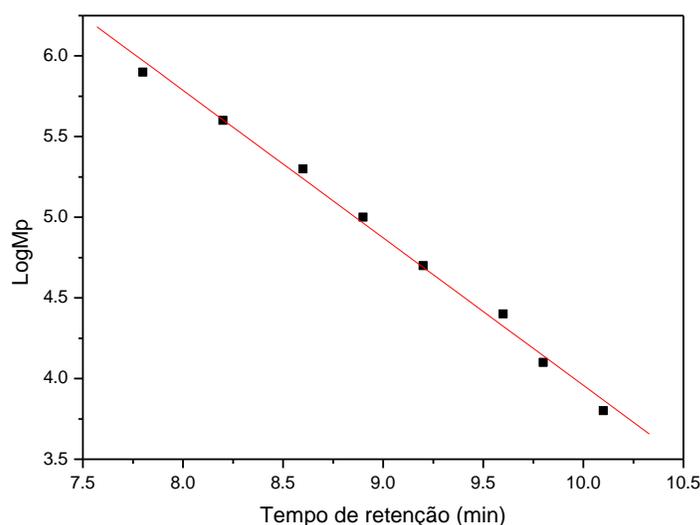
Figura 11 – Espectros de ressonância <sup>13</sup>C-RMN dos polissacarídeos extraídos dos subprodutos da acerola(A), abacaxi (B), caju (C), manga (D) e maracujá (E)



#### 5.4 Estimativa de massa molar por cromatografia de permeação em gel (GPC)

A partir dos valores dos logaritmos das massas molares dos padrões de pululana e seus respectivos tempos de retenção, foi possível construir a curva de calibração para essa análise (FIGURA 12).

Figura 12 - Gráfico da curva padrão de pululana.



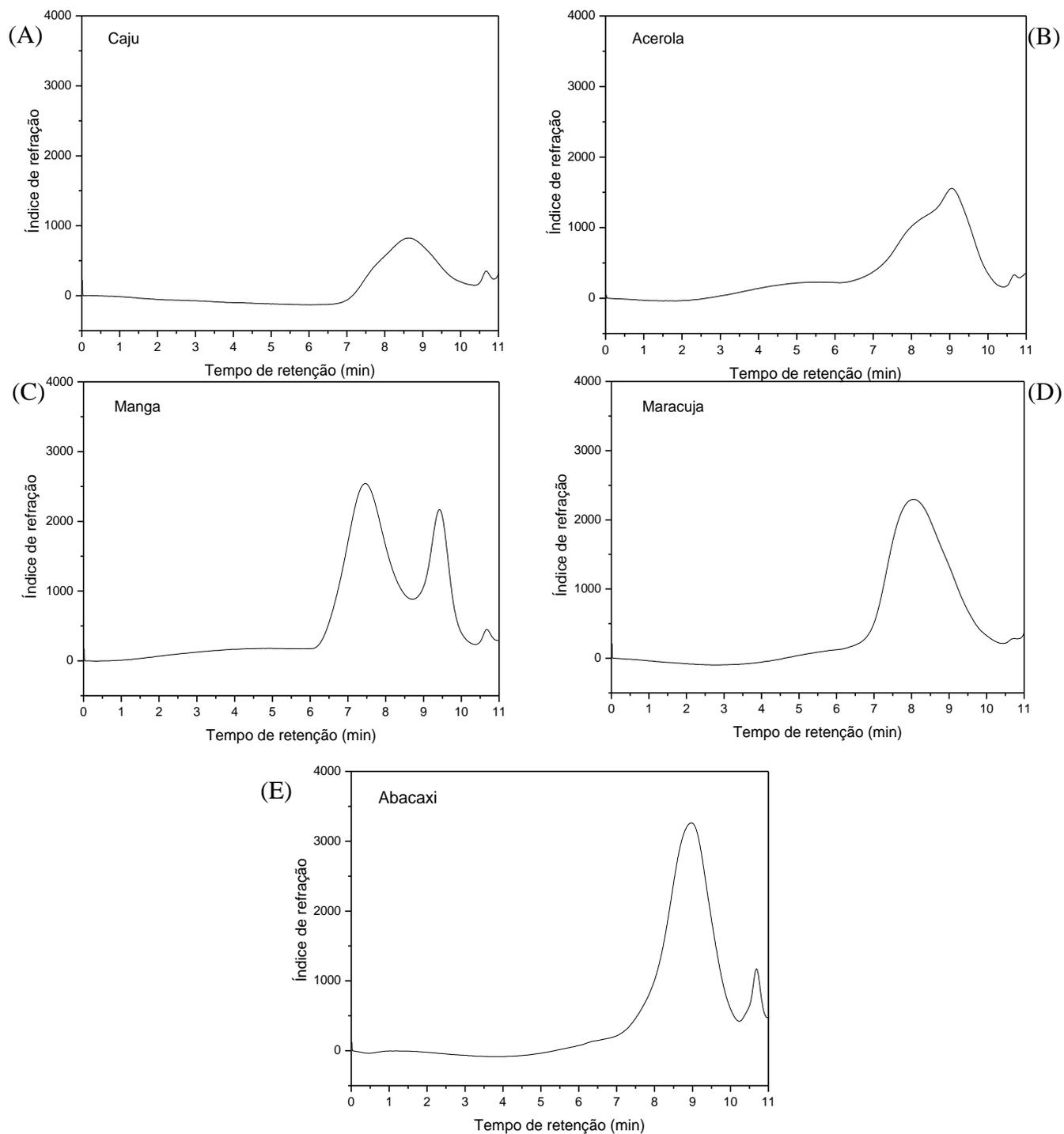
Os cromatogramas para as frações polissacarídicas isoladas dos subprodutos dos frutos estudados são apresentados na Figura 13.

Como observado nos cromatogramas (FIGURA 13), todas as frações estudadas apresentaram mais de um evento de distribuição molar, com destaque para o material obtido da manga que revelou três eventos. Também podem ser constatados eventos com a presença de ombros, nas amostras obtidas do caju e acerola, o que indica a presença de moléculas com massas molares diferentes, porém de valores próximos, cujas condições da técnica aplicada não possibilitaram a separação.

As massas molares de pico para as frações isoladas foram estimadas a partir da equação da reta obtida da curva padrão. O cálculo das massas molares somente foi possível apenas para o primeiro evento das frações isoladas do caju, acerola, maracujá e abacaxi e, para os dois primeiros eventos da manga, pois estão registrados dentro dos limites da curva padrão de pululana utilizada. Para obtenção dos valores de massa molar dos demais eventos registrados nas

amostras é necessário o uso de uma curva com fragmentos padrões de menores massas molares.

Figura 13 - Cromatogramas de massa molar das frações polissacarídicas isoladas dos subprodutos dos frutos (A) caju; (B) acerola; (C) manga; (D) maracujá e (E) abacaxi



A Tabela 12 apresenta os valores de massa molar de pico em g/mol e polidispersividade para os eventos registrados nos cromatogramas.

Tabela 12 - Massas molares de pico e polidispersividade para as frações polissacarídicas isoladas dos subprodutos dos frutos caju, acerola, manga, maracujá e abacaxi.

Polissacarídeos	Massas molares de pico (g/mol)		Polidispersividade (Mw/Mn)	
	1 <sup>o</sup> Evento	2 <sup>o</sup> Evento	1 <sup>o</sup> Evento	2 <sup>o</sup> Evento
Caju	8,86 x 10 <sup>4</sup>	*	8,90	1,13
Acerola	2,80 x 10 <sup>4</sup>	*	6,14	1,07
Manga	1,54 x 10 <sup>6</sup>	1,14 x 10 <sup>4</sup>	1,73	1,56
Maracujá	3,69 x 10 <sup>5</sup>	*	6,11	-
Abacaxi	3,60 x 10 <sup>4</sup>	*	5,37	1,24

(-) Não considerado; (\*) Evento registrado fora do intervalo de tempo da curva padrão de pululana utilizada.

Os valores das massas molares, para todas as amostras analisadas, são típicos de macromoléculas, ou seja, apresentam grandeza igual ou superior a 10<sup>3</sup>. Esse dado reforça a indicação do isolamento de polissacarídeos, quando considerados os resultados apresentados nas análises de infravermelho (*item 6.2*), quando foram observadas frequências típicas desses materiais.

As maiores massas molares apresentadas para as frações isoladas dos subprodutos da manga e maracujá (Tabela 12), com grandezas de 10<sup>6</sup> e 10<sup>5</sup>, respectivamente, podem justificar as maiores viscosidades, experimentalmente observadas nas etapas de extração e análises desses materiais. Tal comportamento possivelmente pode ter comprometido a quantificação da atividade antioxidante destes polissacarídeos, como será discutido adiante.

Uma amostra homogênea não deve apresentar polidispersividade de valor superior a uma unidade (SILVA et al., 2006). Com base nessa informação pode-se afirmar que o primeiro evento registrado para as frações polissacarídicas isoladas do caju, acerola, maracujá e abacaxi, considerando seus valores de polidispersividade, representam materiais heterogêneos em massa molar. O expressivo valor para a amostra isolada do caju, 8,90, é concordante com o aspecto de distribuição do evento relacionado, apresentado no cromatograma, onde se observa um largo registro com a presença de um ombro. Este fato, segundo Vriesmann e Petkowicz e (2009) sugere que este polissacarídeo seja constituído por uma mistura de diferentes outros, conforme

verificaram para o polissacarídeo extraído do cupuaçu. Para a amostra isolada da acerola, a menor polidispersividade em relação à amostra isolada do caju, apesar do ombro registrado, é decorrente da maior definição do pico do evento.

Massas molares heterogêneas também foram reportadas por Pinheiro (2007), Santos (2010) e Marcon (2004) para frações de polissacarídeos da casca do maracujá amarelo, polpa do araçá e bagaço da maçã, respectivamente, demonstrando que dificilmente se obtém um polissacarídeo (em todos os casos mencionados anteriormente pectinas) puro a partir de substratos vegetais.

O valor de 1,73 registrado para a amostra isolada da manga lhe confere menor heterogeneidade, a qual é, certamente, constituída de fragmentos moleculares com pequenas variações nas suas grandezas. Entretanto, estudando frações de pectinas extraídas da polpa do mesmo fruto, Iagher et al. (2002), apontaram valores diferentes aos reportados na presente pesquisa, caracterizando o polissacarídeo como heterogêneo (alta polidispersividade) devido a presença de diferentes fragmentos de polímeros ácidos, o que endossa a diferença entre as frações polissacarídicas obtidas de diferentes partes do mesmo fruto.

O estudo das grandezas moleculares de polissacarídeos extraídos de vegetais é frequente na literatura.

Estudando pectinas extraídas do maracujá, Silva et al. (2012) determinaram uma massa molar igual a  $6,0 \times 10^4$  g/mol, estando estes valores próximos aos valores reportados por Yapó e Koffi (2006) para o mesmo fruto ( $6,4 \times 10^4 - 5,1 \times 10^4$  g/mol). Fazendo uma analogia, observou-se que as grandezas molares observadas pelos referidos autores foram 100 vezes inferiores àquela observada para o polissacarídeo extraído do subproduto do maracujá ( $3,69 \times 10^5$  g/mol) (TABELA 12). A grande diferença observada, pode ser possivelmente devido às características do subproduto em questão no que se diz respeito a composição, espécie de vegetal e tempo de maturação, por exemplo.

Para os polissacarídeos extraídos dos frutos de *kumquat* (*Fortunella margarita* Swingle) Zeng et al. (2015) apontaram uma massa molar de  $6,13 \times 10^5$  g/mol. Para diferentes frações dos polissacarídeos extraídos de *Lycium barbarum* e *Panax japonicus*, Zhang et al. (2014) e Yang et al. (2014) apontaram iguais variações de grandeza na ordem de  $10^3$  a  $10^5$  g/mol, enfatizando que as técnicas aplicadas para o fracionamento podem resultar em diferentes pesos moleculares das frações obtidas de um mesmo polissacarídeo. Mesmo sendo materiais

botânicos diferentes a massa molar obtida para a fração polissacarídica extraída da manga, foi igual aquela proveniente do chá chinês, determinada por Xu et al. (2014).

Além das grandezas molares anteriormente mencionadas, outras diferentes foram reportadas para os polissacarídeos extraídos de *Cedrus deodara* ( $1,53 \times 10^{-4}$ g/mol) (JIA et al., 2014); *physalis* ( $10,7 \times 10^{-4}$ g/mol) (WANG et al., 2009); *lichia* ( $1,4 \times 10^{-4}$ g/mol) (YANG et al., 2006); *Polygonum multiflorum* Thunb ( $4,8$  e  $6,3 \times 10^{-5}$ g/mol) (LV et al., 2014); alho ( $5,59 \times 10^{-5}$  g/mol) (GOLOVCHENKO et al., 2012) e pimenta ( $6,2 \times 10^{-5}$ g/mol) (POPOV et al., 2011).

Estudos têm demonstrado que diferentes fatores como pH, temperatura e tempo utilizado durante a extração dos polissacarídeos podem afetar a média final de sua massa molar (BAGHERIAN et al., 2011; HAPPI-EMAGA et al., 2008; KURITA et al., 2008; LI et al., 2012).

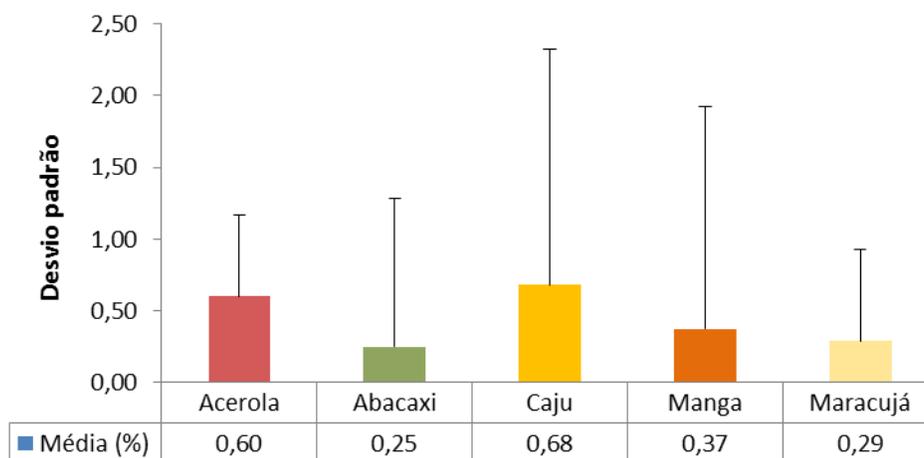
Estudando variações de tempo, temperatura e pH para a extração de polissacarídeos da casca de banana, Bagherian et al. (2011), verificaram que o pH utilizado durante a extração das macromoléculas apresentou efeitos significantes do peso molecular final do polissacarídeo. Relacionando os parâmetros estudados, o polissacarídeo apresentou maior peso molecular utilizando a combinação de pH = 2, tempo de 1 hora e temperatura de 80°C (molécula de peso igual a  $2,48 \times 10^{-5}$ g/mol). Minjares-Fuentes et al. (2014) concordam com a literatura anteriormente citada, quanto a relação do pH durante a extração com a massa molar final do polissacarídeo, relacionando um decréscimo do pH a um aumento do valor de massa molar. Em adição Li et al. (2012) relataram um aumento significativo da massa molar de  $6 \times 10^{-4}$  para  $25 \times 10^{-4}$ g/mol das pectinas de polpa de beterraba com o aumento do pH de 1 a 2 e Happi-Emaga et al. (2008), um aumento de  $1,2 \times 10^{-5}$  para  $1,85 \times 10^{-5}$ g/mol do polissacarídeo da cascas de banana, quando o pH aumentou de 1,5 para 2.

A avaliação deste parâmetro torna-se fundamental no estudo da elucidação das características estruturais e biológicas de polissacarídeos, uma vez que as grandezas aqui relacionadas caracterizaram os materiais extraídos dos subprodutos estudados, de fato, como sendo polissacarídeos. Além disso, muito tem se relacionado à estrutura de polissacarídeos, em especial seu peso molecular, com suas atividades biológicas, e como será visto em seções posteriores, estabeleceram-se relações significativas entre a massa molar com a atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* dos polímeros aqui avaliados.

### 5.5 Dosagem de proteínas solúveis

Na Figura 14 estão presentes os teores de proteínas presentes nas frações polissacarídicas extraídas a partir dos subprodutos estudados de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá.

Figura 14 – Teores de proteínas solúveis totais (%) presentes nas frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá.



As proteínas podem corresponder de 5 a 10% do peso total da parede celular de vegetais, sendo o restante correspondente a celuloses, hemiceluloses e pectinas (DEY, BROWNLEADER; HARBORNE, 1997). Observa-se que no estudo da estrutura de polissacarídeos a pesquisa de proteínas é frequente estando sua presença relacionada ao complexo polissacarídeo-proteína comumente presente na parede celular (JIA et al., 2014; VRIESMANN; PETKOWICZ; 2009; YAPO; KOFFI, 2006) sendo muitos polissacarídeos extraídos de vegetais, descritos como materiais proteicos (IAGHER et al., 2002; MARCON, 2004; PINHEIRO, 2007; YAPO; KOFFI, 2006; YAPO et al., 2007).

Para as frações polissacarídicas analisadas, observou-se um maior conteúdo de proteínas para as frações obtidas do subproduto do caju, que correspondeu a 0,68%, estando bem próximo ao verificado para a acerola (0,60%). Para as demais frações a quantidade de proteína seguiu em ordem decrescente: Manga (0,37%) > maracujá (0,29%) > abacaxi (0,25%).

Diferentes dosagens de proteínas são reportadas na literatura para polissacarídeos provenientes de materiais vegetais. As diferenças evidenciadas podem estar relacionadas a diferentes atribuições tais como a metodologia utilizada para a quantificação, técnica adotada para a extração dos polissacarídeos e espécie de material vegetal em questão. Segundo Jia et al. (2014) as técnicas de extração e purificação dos polissacarídeos podem promover uma redução de 70% (m/m) na quantidade de proteínas presentes no polissacarídeo isolado.

Para os polissacarídeos extraídos da polpa de manga Iagher et al. (2002) apontaram em média, um teor proteico de 11% (m/m). Considerando-se a similaridade botânica, esse valor foi 97% superior ao detectado na presente pesquisa para o polissacarídeo extraído do subproduto do mesmo fruto.

Considerando a extração de polissacarídeos de fontes vegetais, os valores obtidos na presente pesquisa se encontram próximos aos repostados na literatura.

Lee et al. (2013) reportaram para os polissacarídeos extraídos dos frutos da amoreira, valor igual a 0,3% (m/m), que aproximou-se dos resultados aqui constatados para os materiais obtidos do abacaxi, manga e maracujá. Teores próximos foram mensurados para o polissacarídeo isolado de chá de “falcão” cujas frações apresentaram valores de 0,24 e 0,35% (m/m) (JIA et al., 2013). Os teores de proteínas das frações polissacarídicas estudadas na presente pesquisa foram superiores ao reportado por Yang et al. (2009) para aqueles extraídos da casca de logan (0,1% m/m) e inferiores aos provenientes do bagaço maçã (*Malus domestica*) que apresentaram para 100 gramas de polissacarídeos, 3 gramas de proteínas (MARCON et al., 2005).

Em sua pesquisa com polissacarídeo isolado do cupuaçu, Vriesmann e Petkowicz (2009) apontaram um valor de 6 gramas de proteínas para cada 100 gramas de polissacarídeo purificado. Esse valor é aproximadamente 89, 90, 94, 95 e 96% superior para os polissacáridos isolados do subproduto do caju, acerola, manga, maracujá e abacaxi avaliados na presente pesquisa respectivamente. Samal e Dangi (2014) detectaram para o polissacarídeo do tamarindo um conteúdo de proteína (5,1% m/m) semelhante ao dos autores anteriormente mencionados.

Diferentes técnicas de extração estão relacionadas a diferentes porcentagens proteicas nos polissacarídeos.

Estudando o polissacarídeo extraído da casca do maracujá, Silva et al. (2012) reportaram um conteúdo de proteínas de 3 e 4,05% utilizando, respectivamente água e ácido acético no processo de extração. Para o mesmo fruto, Yapo e Koffi (2006) detectaram variações

de 0,9 a 5,1% no teor proteico de pectinas que foram extraídas com ácido nítrico utilizando diferentes parâmetros. Variando tempo, temperatura e concentração de ácido cítrico, Santos et al. (2010) reportaram uma quantidade de 5,65 a 7,33% (m/m) de proteínas em diferentes frações de polissacarídeos extraídos da gabioba. Segundo Yapó e Koffi (2006) são observados maiores teores de proteínas nos polissacarídeos que são extraídos utilizando ácido, devido uma maior solubilização dos resíduos proteicos, o que não é verificado para a extração aquosa.

Ao estudarem hemiceluloses extraídas do pó de guaraná, Petkowicz e Dalonso (2012) obtiveram concentrações de proteínas que variaram de 1 a 36% (m/m) ao utilizarem extração alcalina. Para os frutos de araçá, Vriesmann et al. (2009) reportaram variações de 6,2 a 11,1% (m/m) no conteúdo proteico, utilizando a mesma técnica de extração. De acordo com Morrison (2001), a extração alcalina é responsável por causar uma destruição da ligação covalente presente na parede celular, causando maior liberação das proteínas.

De um modo geral, observou-se que a presença de proteínas em polissacarídeos extraídos de materiais vegetais é comum independente da técnica de extração aplicada. Diferentes métodos de extração implicam em uma maior ou menor solubilização de proteínas, estando relacionados também a modificações nas características químicas e no rendimento dos polissacarídeos. Os resultados apresentados nesta seção concordam com os estiramentos típicos de proteínas apontados na análise de infravermelho apresentados no item 6.1 da mesma seção.

### **3ª ETAPA - ENSAIOS DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS EXTRAÍDAS DOS SUBPRODUTOS DE ACEROLA, ABACAXI, CAJU, MANGA E MARACUJÁ**

#### **5.1 Ensaio antioxidante *in vitro* com a radical livre ABTS•+**

Os resultados para o ensaio da atividade antioxidante total (AAT) das frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos do processamento de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá utilizando o radical livre ABTS•+, encontram-se na Tabela 13.

A AAT pelo método do ABTS•+ é frequentemente utilizada na avaliação do poder antioxidante total de compostos naturais, podendo a absorbância (734nm) ser utilizada tanto em

solventes orgânicos como aquosos, sendo um eficiente índice que reflete a AAT dos polissacarídeos extraídos de diferentes substratos vegetais (LUO et al., 2010).

A AAT das frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos apresentou variações de 8,6 a 147 $\mu$ M de Trolox/g conforme o apresentado na Tabela 13. Maior AAT foi verificada para a fração extraída do subproduto do caju (147  $\pm$  4,1 $\mu$ M de Trolox/ g) e o menor para a extraída da manga (8,6  $\pm$  0,6 $\mu$ M de Trolox/ g) sendo o primeiro valor superior ao último em 94,5%. AAT próximas foram detectadas para o abacaxi (79,85  $\pm$  0,2 $\mu$ M de Trolox/ g) e acerola (78,9  $\pm$  1,52 $\mu$ M de Trolox/ g).

Tabela 13 – Atividade antioxidante total das frações polissacarídicas extraídas a partir dos subprodutos do processamento de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá, utilizando o radical livre ABTS•+.

Polissacarídeos	Atividade antioxidante total/ ABTS•+ ( $\mu$ M de Trolox/g)
Acerola	78,9 $\pm$ 1,52
Abacaxi	79,85 $\pm$ 0,2
Caju	147 $\pm$ 4,1
Manga	8,6 $\pm$ 0,6
Maracujá	37,9 $\pm$ 0,14

O estresse oxidativo aumenta o acúmulo de espécies reativas de radicais e diminui a defesa fornecida pelos antioxidantes (LU et al., 2010) podendo induzir danos celulares por meio de distorções em componentes bioquímicos como enzimas, lipídios, proteínas e DNA (SHARMA et al., 2012). Também é atribuída a ação deletéria dos radicais livres, a mediação de processos inflamatórios, doenças cardiovasculares, artrite reumática e aterosclerose (XU et al., 2009; WU; HANSEN, 2008).

Polissacarídeos extraídos de vegetais e seus conjugados apresentam eficiente ação na prevenção do dano oxidativo, por isso poderiam ser um recurso potencial para a exploração de novos antioxidantes (TSIAPALI et al., 2001; WANG et al., 2009; XU et al., 2009; YUA et al., 2008). Pode-se dizer de um modo geral, que a atividade antioxidante destas moléculas depende, principalmente, das suas características estruturais, incluindo composição de açúcar, peso molecular, o tipo de ligação glicosídica da cadeia principal, o grau de modificação de polissacarídeos e flexibilidade das configurações das cadeias (LO et al., 2011).

Wang et al. (2009) relataram que a presença de ácidos urônicos em polissacarídeos, podem estar associados ao aumento da AAT, por ativarem o hidrogênio ligado ao carbono anomérico, sendo uma maior capacidade de ativação relacionada a uma maior a capacidade do hidrogênio doar elétrons, o que resulta em uma maior estabilização do radical livre presente. Segundo Zhang et al. (2014) o peso molecular pode desempenhar um papel importante na atividade antioxidante de polissacarídeos, estando a AAT relacionada a ligações intramoleculares de hidrogênio.

Em seus estudos com polissacarídeo extraído do chá “chinês”, Xu et al. (2014) apontaram que frações polissacarídicas de menor grandeza molecular ( $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ ), apresentaram resultados mais satisfatórios quanto a AAT do que aquelas de maior grandeza ( $10^{-5}$  e  $10^{-6}$ ). O mesmo foi verificado por Zhang et al. (2014) para o polissacarídeos extraído de *P. Japonicus*. De acordo com Choi et al. (2009) e Wang et al. (2009) cadeias de polissacarídeos de estrutura compacta, apresentam ligações do hidrogênio intramolecular mais fortes e atuam enfraquecendo a atividade oxidante de radicais livres, devido sua capacidade de doar elétrons, o que resulta em uma menor exposição e conseqüente menor atividade oxidante do radical.

Os resultados apresentados na presente pesquisas estão de acordo às afirmativas reportadas anteriormente, uma vez que, os produtos de acerola, abacaxi e caju que apresentaram menores grandezas moleculares ( $10^{-4}$  g/mol), foram aqueles que apresentaram maiores AAT, enquanto os produtos de manga e maracujá, que apresentaram as maiores massas molares ( $10^6$  e  $10^5$  g/mol, respectivamente), foram aqueles que apresentaram menores AAT.

Uma maneira de se interpretar os resultados de AAT é através da conformação da estrutura da macromolécula que pode ser um dos principais fatores que interferem nesta atividade. De fato, dependendo da disposição espacial, as moléculas poderão se apresentar mais ou menos solúveis e viscosas, podendo existir uma maior ou menor exposição e interação do meio com as estruturas ativas.

A visualização das microfotografias obtidas por MEV (*item 6.1*) indicaram que as frações extraídas da manga e maracujá apresentaram uma morfologia semelhante, com poucas ramificações e menor envelhecimento que os demais. Estas características podem resultar, segundo Iagher et al. (2002), em uma elevada viscosidade do polissacarídeo em solução. Os mesmos autores verificaram que o polissacarídeo extraído da polpa de manga apresentou elevada viscosidade e a associaram à conformação estrutural do material, onde possivelmente existiria

uma mistura de diferentes polissacarídeos eletricamente carregados, com diferentes densidades de cargas e interações físicas entre as cadeias da macromolécula. Tal fato permitiria uma maior capacidade de retenção de água por parte dos polissacarídeos o que resultaria em uma maior viscosidade.

Uma afirmativa válida para grande parte dos produtos naturais é que um dos fatores determinantes para sua eficiência antioxidante é a sua alta solubilidade e consequente menor viscosidade em solução (ALVES et al., 2010). Deste modo, a elevada viscosidade das frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos da manga e do maracujá, seria um fator que possivelmente contribuiu para diminuir a AAT destes materiais.

Uma forma atual de se trabalhar a AAT de polissacarídeos está relacionada a capacidade destes materiais de eliminar radicais livres presentes do meio reativo. Essa capacidade de eliminação pode ser calculada através das absorvâncias obtidas nas diferentes concentrações das soluções das frações polissacarídicas avaliadas na AAT (0,012; 0,2 e 0,3mg/mL de polissacarídeos). Na presente pesquisa os valores referentes à capacidade das frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá, estão presentes na Figura 15.

Observou-se que todas as frações dos polissacarídeos estudados apresentaram relações proporcionais concentração x taxa de eliminação de radicais ABTS•+ (FIGURA 15), constatando-se uma maior eliminação do radical com o aumento da concentração da solução. Tal fato também foi evidenciado nos trabalhos de Hu et al. (2014), Jia et al. (2014) e Wang et al. (2009). Os resultados aqui apresentados estão de acordo com o apontado na Tabela 13 para AAT.

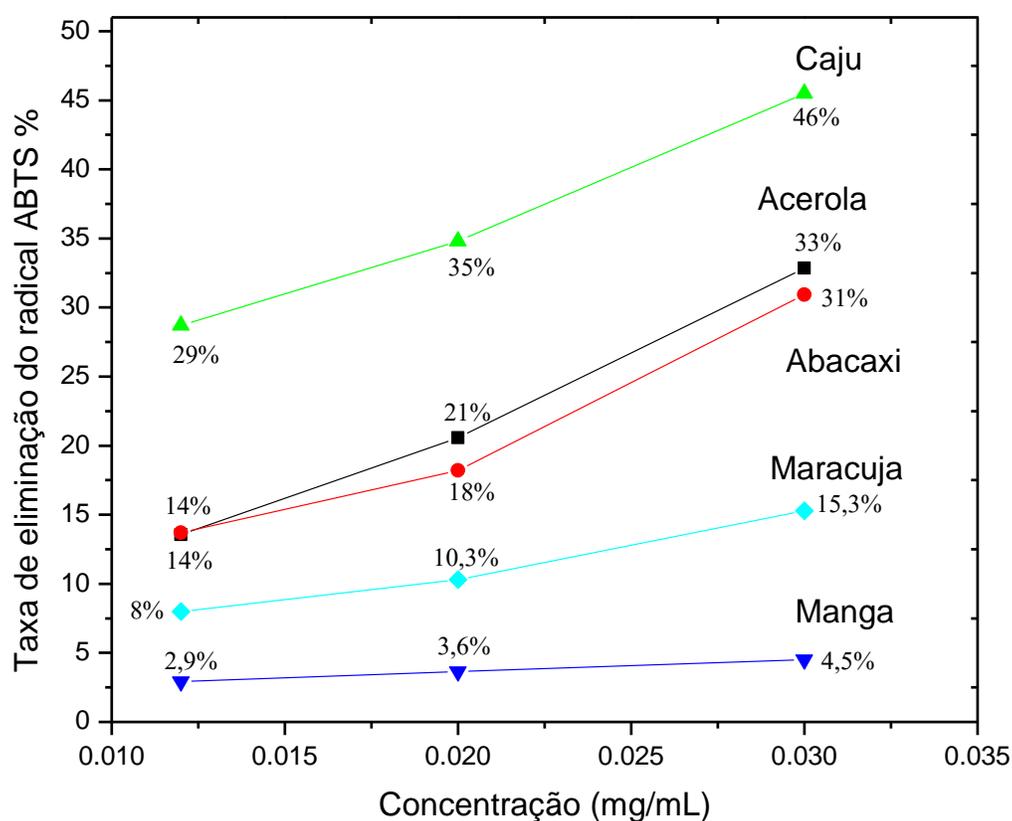
Observou-se que dentre os materiais estudados, aquele obtido do caju apresentou uma maior habilidade em eliminar os radicais de ABTS•+ presentes na solução. Os resultados indicaram que utilizando concentrações de 0,03, 0,02 e 0,012mg/mL houve uma eliminação de 46, 35 e 29% dos radicais de ABTS•+ presentes no meio reativo. Estes resultados são considerados elevados, uma vez que uma baixa concentração deste material (máximo 0,03mg/mL) foi suficiente para promover uma redução de quase 50% da presença do radical.

Na Tabela 13, observar-se que mesmo próximos, a AAT da fração extraída do abacaxi, apresentou-se sensivelmente superior ao da acerola. Entretanto, observou-se que na concentração de 0,03mg/mL o material extraído da acerola, apresentou uma maior capacidade de

eliminar radicais de  $ABTS^{\bullet+}$  quando comparado com o abacaxi, sendo estes valores respectivamente 33 e 31%.

O material extraído do maracujá apresentou valores de eliminação do radical  $ABTS^{\bullet+}$  que variaram de 8 a 15,3% e, como esperado, o polissacarídeo proveniente da manga, apresentou uma menor capacidade de eliminar radicais livres assumindo valores iguais a 4,5, 3,6, e 2,9% da maior à menor concentração avaliada.

Figura 15 – Taxa de eliminação (%) do radical livre  $ABTS^{\bullet+}$  pelas frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos do processamento de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá.



Diferentes taxas de eliminação de radicais para diferentes polissacarídeos extraídos de vegetais são reportadas na literatura.

Estudando a atividade antioxidante dos polissacarídeos extraídos de *Panax japonicus*, Yang et al. (2014), determinaram para concentrações de 5 e 10mg/mL, taxas de eliminação de  $ABTS^{\bullet+}$  iguais a 54,59 e 85,77% respectivamente. Valores aproximados aos anteriormente mencionados, foram observados por Jia et al. (2014) para o polissacarídeo extraído de *Cedrus deodara*, com respectivas taxas de eliminação de 37,58 a 86,78% para doses de 0,25 e 4mg/mL.

Luo et al. (2010), reportaram uma taxa de eliminação de 82,6%, para os polissacarídeos extraídos de *Dendrobium nobile* Lindl., utilizando uma dose de 2mg/mL.

Uma baixa concentração de polissacarídeo para uma alta taxa de eliminação de ABTS•+ foi apontada por Rout e Benerjee (2007) ao estudarem o polissacarídeo proveniente da casca de romã (*Punica granatum*). Os autores verificaram uma eliminação de 88% utilizando uma concentração de 0,04mg/mL. Avaliando a mesma concentração, as frações polissacarídicas da acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá aqui estudados, apresentariam uma taxa de eliminação de 44; 41; 61,33; 20,4 e 10,67% respectivamente.

Visto que, dentre outras alterações, o método aplicado à extração de polissacarídeos está relacionado a modificações estruturais (*ver item 5.1*), é possível que diferentes técnicas conduzam a respostas diferentes quanto a AAT de polissacarídeos e, por consequência, na sua capacidade de eliminar radicais presentes no meio. Essa afirmativa pode ser endossada por Wang et al. (2014) que ao estudarem os polissacarídeos extraídos de *Phellinus linteus*, verificaram para extração com água, ácido e base, diferentes capacidades de eliminar radicais de ABTS•+, sendo os valores respectivamente 58,6 ,65,5, e 72,1%, sendo atribuído ao o meio ácido e básico extrair maior capacidade de extrair ácidos urônicos, que são grupos químicos associados a uma alta AAT, como mencionado anteriormente.

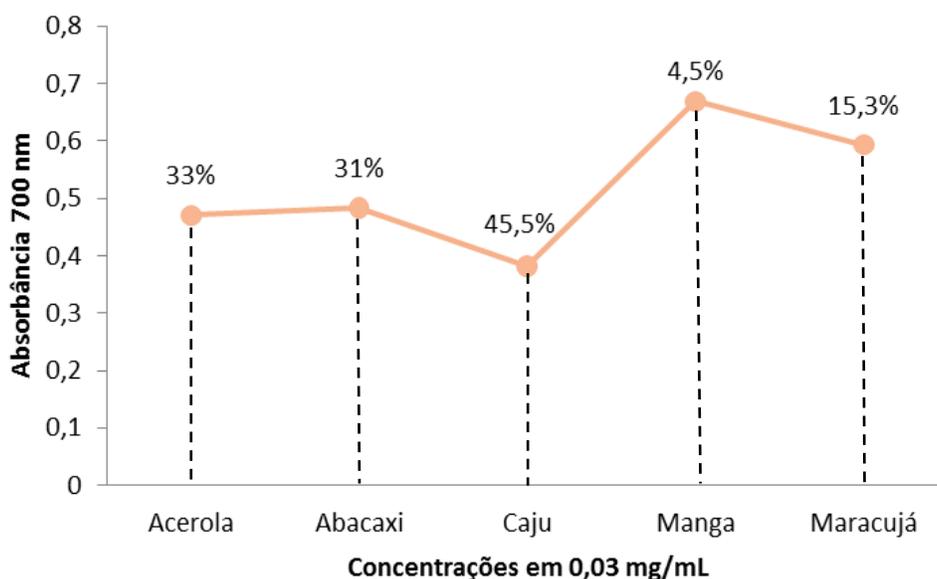
Ainda se tratando da capacidade de eliminar radicais livres, fixando-se a maior concentração trabalhada (0,03 mg/mL), foi possível determinar o quanto cada fração estudada foi capaz de reduzir a absorvância inicial da solução alcoólica de ABTS•+ (FIGURA 16), o que corresponde a uma outra forma de apresentar os resultados para a eliminação de radicais.

A concentração de antioxidante requerido para diminuir a concentração inicial do radical a 50% é conhecida como IC<sub>50</sub>, sendo este um parâmetro muito utilizado para medir a atividade antioxidante de diferentes compostos. O IC<sub>50</sub> apresenta relação inversamente proporcional a AAT, ou seja, quanto mais baixo seu valor, maior será a atividade antioxidante e vice-e-versa (ZHANG et al., 2014).

Na presente pesquisa os IC<sub>50</sub> das frações polissacarídicas foram calculados a partir dos resultados apresentados na Figura 15, sendo as concentrações que inibiram 50% dos radicais, identificadas pela extrapolação dos valores de inibição na concentração máxima estudada (0,3 mg/mL de polissacarídeos).

Na presente pesquisa os valores do  $IC_{50}$  foram estimados como sendo aproximadamente de 0,03mg/mL para o polissacarídeo do subproduto do caju, 0,05mg/mL para os de acerola, abacaxi e maracujá e 0,33mg/mL para o de manga, sendo estes valores considerados elevados, uma vez que baixas concentrações dos polissacarídeos aqui estudados seriam necessárias para promover a redução em 50% dos radicais de  $ABTS^{\bullet+}$  presentes no meio reativo.

Figura 16 – Redução (%) da absorvância inicial da solução alcóolica de  $ABTS^{\bullet+}$  pelas frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá.



A literatura apresenta diferentes valores para o  $IC_{50}$  de polissacarídeos extraídos de vegetais. Valores de  $IC_{50}$  maiores do que os apresentados na presente pesquisa foram reportados por Jia et al. (2014), Cheng et al. (2013) e Xu et al. (2014) ao analisarem respectivamente a AAT dos polissacarídeos extraídos de *Cedrus deodara* ( $IC_{50}$  de 0,64mg/mL), *Epimedium acuminatum* ( $IC_{50}$  de 1,53mg/mL) e chá “chinês” ( $IC_{50}$  de 0,5 mg/mL). O mesmo foi observado por Yang et al. (2014) e Xu et al. (2014) utilizando o radical livre DPPH [di(phenyl)-(2,4,6-trinitrophenyl)iminoazanium] para os polissacarídeo de *Panax japonicus* ( $IC_{50}$  de 10mg/mL) e de chá “chinês” ( $IC_{50}$  de 2mg/mL).

Para diferentes frações do polissacarídeo extraídos dos frutos de goji (*Lycium barbarum*), Zhang et al. (2014) reportaram para o IC<sub>50</sub> variações de concentrações de 0,2 a 5,10 mg/mL. Utilizando o radical livre DPPH, os mesmos autores detectaram variações de concentração de 1,98 a 18,20mg/mL. O fracionamento pode atuar reduzindo a massa molar nas diferentes frações do mesmo polissacarídeo (ZHANG et al., 2014) o que justifica os menores valores de AAT nas frações estudadas.

Os valores apresentados pela literatura consultada, para ambos radicais, foram superiores aos detectados na presente pesquisa, indicando a eficiência, mesmo em baixas concentrações, dos polissacarídeos aqui estudados em reduzir em 50% a concentração dos radicais presentes no meio reativo. Tal fato reforça o potencial antioxidante dos polissacarídeos extraídos dos subprodutos aqui estudado.

## 5.2 Citotoxicidade frente a células epiteliais humanas

Sabe-se que diferentes polissacarídeos apresentam atividades farmacologicamente ativas (DREYFUSS et al., 2009). Deste modo, a procura de novos compostos, novos alvos e novas formulações passam a ser estudo importante e requerido. O experimento de citotoxicidade celular utilizados na presente pesquisa objetivou determinar se os polissacarídeos extraídos dos subprodutos estudados afetariam a integridade da cultura celular testada.

Através da aplicação do teste com o MTT pode-se observar uma correlação direta entre a integridade física e funcional da membrana plasmática e do metabolismo mitocondrial das células expostas as diferentes concentrações (50 e 100%) dos materiais estudados. Na Tabela 14, estão presentes os resultados encontrados para a porcentagem de células viáveis, após a exposição a frações dos polissacarídeos estudados.

As densidades óticas, apresentadas na Tabela 14, refletem a viabilidade das células frente à exposição das mesmas ao controle negativo (células e meio de cultura), controle positivo (toxina A do *C. difficile*) e as frações dos polissacarídeos estudados.

Observou-se que o controle negativo apresentou absorvância de  $0,166 \pm 0,040$ , enquanto o positivo foi de  $0,0675 \pm 0,03$ , indicando que a toxina empregada causou morte de 60% da cultura celular estudada. Os extratos na concentração de 50% para as frações da acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá apresentaram absorvâncias de  $0,3215 \pm 0,015$ ;  $0,2953 \pm 0,03$ ;

0,2810 ± 0,036; 0,2218 ± 0,022 e 0,2398 ± 0,028, respectivamente. Na concentração de 100%, foram obtidas absorvâncias de 0,3885 ± 0,048; 0,3685 ± 0,0134; 0,3373 ± 0,008; 0,2338 ± 0,056 e 0,2935 ± 0,04631, na mesma ordem mencionada anteriormente. As duas concentrações analisadas apresentaram valores de absorvância superiores ao controle positivo, o que indica que a não inibição do crescimento celular e conseqüentemente, a não toxicidade dos polissacarídeos estudados.

Mesmo não sendo verificada na presente pesquisa, a literatura discorre sobre ensaios similares ao aqui apresentado, que detectaram alterações nos mecanismos celulares em resposta à exposição de culturas celulares a alguns polissacarídeos. Fortes e Novaes (2006) apontaram atividades citotóxicas de uma β-glucana contra células tumorais humanas, câncer de mama e sarcoma 180, em experimentos *in vivo* utilizando ratos. Zhang et al. (2007) sugerem que alguns polissacarídeos podem atuar inibindo a proliferação celular através do comprometimento da importação de proteínas nucleares, em um experimento *in vitro* utilizando células da linhagem MCF-7 27 (câncer de mama).

Tabela 14 – Absorvâncias das culturas celulares expostas aos polissacarídeos extraídos dos subprodutos da acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá

Polissacarídeo	Absorvância (570 nm)	
	50%	100%
Acerola	0,3215 ± 0,015	0,3885 ± 0,048
Abacaxi	0,2953 ± 0,030	0,3685 ± 0,0134
Caju	0,2810 ± 0,036	0,3373 ± 0,008
Manga	0,2218 ± 0,022	0,2338 ± 0,056
Maracujá	0,2398 ± 0,028	0,2935 ± 0,04631
Controles	Absorvância (570 nm)	
C (-)	0,166 ± 0,04	
C (+)	0,0675 ± 0,03	

C(-): Controle negativo – Células e meio de cultura; C(+): Controle positivo: Cultura celular e toxina A do *Clostridium difficile*; Células epiteliais (cultura IEC 6) expostas a extratos contendo concentração de 50 e 100% dos polissacarídeos estudados. Resultados apresentados em média e desvio padrão pelo teste de Bonferroni's.

Comportamento semelhante ao apresentado na presente pesquisa foi determinado por Ferreira (2012) para os polissacarídeos solúveis extraídos da *Artemisia absinthium* e *Artemisia*

*vulgaris*, que não apresentaram efeitos tóxicos na cultura celular testada (Cultura de macrófagos, THP-1). O autor observou um aumento da densidade ótica das culturas expostas aos polissacarídeos quando comparada com o controle negativo, justificando o aumento na viabilidade celular devido ao estímulo do metabolismo induzido pelos polissacarídeos.

Deters et al. (2005) ao estudarem o polissacarídeo extraído do fruto *Abelmoschus esculentus* L. Moench isolaram, um polímero rico em Rha e GalA, o qual não foi citotóxico frente a cultura de queratinócitos humanos e ainda proporcionou a proliferação destas células, mesmo em baixas concentrações como de 10 µg/mL.

Frações polissacarídicas neutras (0,3 a 1000µg/mL), ricas em monose e glicose, obtidas de extrações aquosas de espécies do gênero *Dendrobium spp.* não apresentaram efeito citotóxico em tratamento de 24h frente à linhagem de macrófagos RAW 264.7. As concentrações mais baixas testadas, 0,3 a 30µg/mL, também promoveram a proliferação celular (MENG et al., 2013).

Estudando os efeitos do polissacarídeo extraído de *Phyllanthus niruri*, Mellinger (2006) verificou uma redução da viabilidade celular de macrófagos peritoneais de camundongos e sugeriu que a possível toxicidade de alguns polissacarídeos poderia estar relacionada à forma, o tamanho, a conformação e/ou a sequência de monossacarídeos no polissacarídeo.

Uma vez que existe uma grande preocupação quanto à toxicidade de diferentes produtos de origem vegetal quando utilizadas para o tratamento de patologias, também é de interesse se avaliar seu potencial tóxico, a fim de se garantir seu uso seguro. Os resultados aqui apresentados, mesmo preliminares, sugerem uma maior investigação e estudos, quanto à potencialidade dos polissacarídeos estudados, principalmente pela adoção de técnicas mais específicas *in vivo* e *in vitro*, que possam comprovar o potencial biológico dos mesmos.

### **5.3 Ensaio antioxidante *in vivo* utilizando o modelo de lesão gástrica induzida por etanol**

***5.3.1 Determinação dos níveis de malondialdeído (MDA) e dos grupos sulfidrílicos não protéicos (glutathiona – GSH) na mucosa gástrica de camundongos previamente tratados soluções de frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos de acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá na gastropatia induzida por etanol 50%***

A GSH é uma molécula encontrada em altas concentrações na mucosa gástrica de ratos e humanos, exercendo um papel muito importante na conservação da integridade da mucosa (BODY et al., 1979; HOPPENKAMPS et al., 1984) sendo um dos principais antioxidantes hidrossolúveis e reconhecido como o mais importante componente endógeno dentre os grupos sulfidrílicos não-proteicos do organismo humano (GONZALES et al, 2001; OLIVEIRA et al, 2004; PARK et al, 2000). Observou-se na Figura 17A que o tratamento dos animais com etanol 50% (grupo controle) depletou os níveis de glutaniona reduzida (GSH) da mucosa gástrica em 71% em média, quando comparado ao grupo *naive* ( $84, 8 \pm 8,73$ mg de NPSH/g). Entretanto, observou-se que o pré-tratamento com as soluções das frações polissacarídicas da acerola, abacaxi e caju (1mg/Kg), promoveu um aumento significativo nos níveis de GSH em 66,7, 64 e 62%, respectivamente, ao se comparar os valores apresentados no grupo controle. As médias apontadas para a concentração de GSH destas frações foram estatisticamente iguais ( $p < 0,05$ ) ao grupo que não sofreu estresse alcoólico (*naive*), indicando que estes materiais foram capazes, mesmo em baixas concentrações, de manter os níveis de GSH na mucosa gástrica semelhantes ao observado para o grupo *naive*.

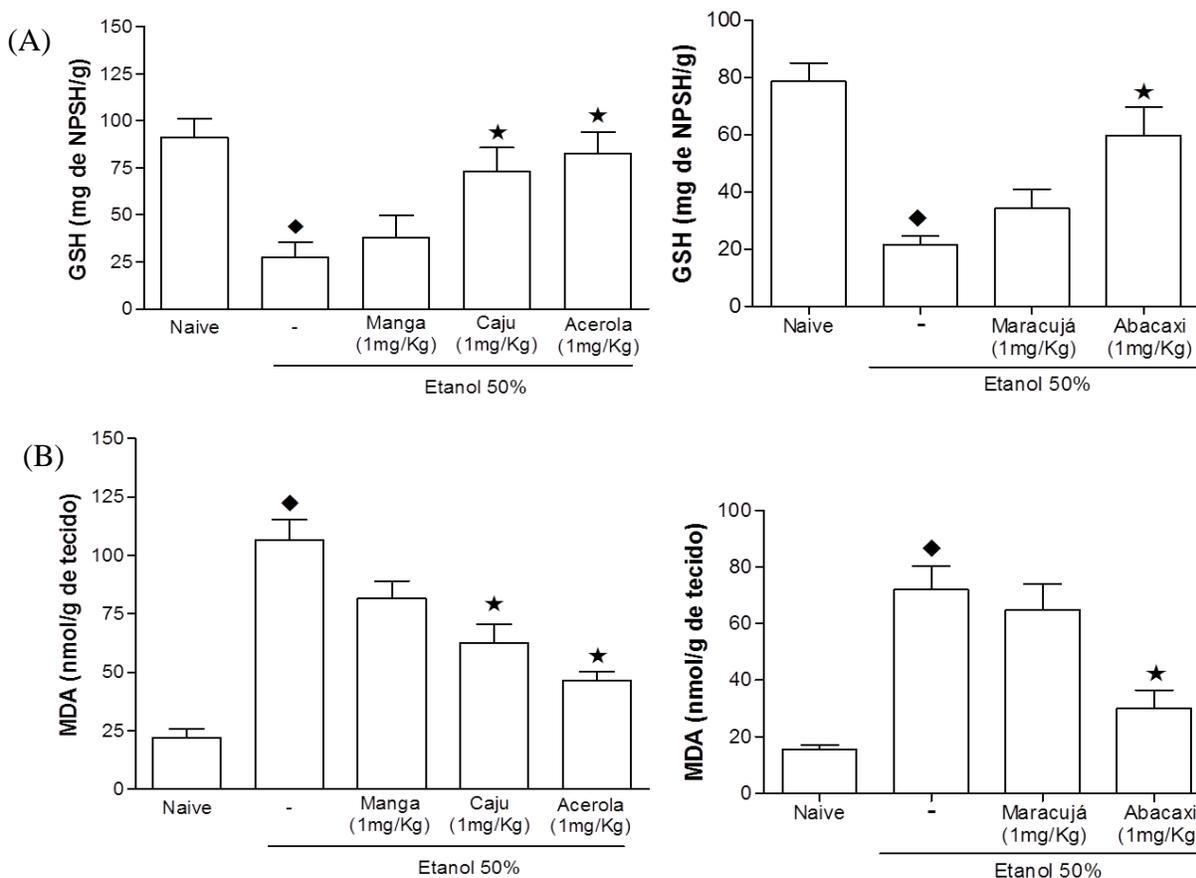
A avaliação da mucosa gástrica dos animais tratados com os materiais da manga e maracujá indicou que estes materiais mantiveram os níveis de GSH em 27,3 e 37,3%, respectivamente. Estes valores, menores que os apresentados pelas demais frações, não diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ) dos níveis de GSH apresentados pelos animais do grupo controle, o que demonstra que os mesmos não foram eficientes na manutenção dos níveis de GSH da mucosa gástrica, após estresse alcoólico.

Segundo Pacheco et al. (2006) o etanol é considerado um agente irritante da mucosa gástrica, o qual destrói a camada de muco e o bicarbonato, que atuam na proteção da mucosa gástrica contra o ácido clorídrico e outros agentes agressores. Além disso, também é atribuído ao etanol o bloqueio da citoproteção gástrica por precipitação das proteínas, liberação de radicais livres e redução da concentração de GSH nas células da mucosa.

A presença de radicais livres em sistemas biológicos pela acarretar na formação de malonaldeído (MDA) que ocorre pela decomposição dos hidroperóxidos lipídicos, sendo sua concentração utilizada para estimar a intensidade da peroxidação lipídica em células e tecidos (BONNES; GUÉRIN, 1992). Significa, portanto que presença de MDA pode ser evitada pela ação antioxidante promovida pela GSH em sistemas biológicos, sendo o balanço entre estes dois

parâmetros inversamente proporcionais, uma vez que esta última molécula acaba sendo consumida durante o processo de oxidação.

Figura 17 - Determinação dos níveis de glutatona (A) e malonaldeído (B) no tecido gástrico de camundongos pré-tratados com (1 mg/kg) de polissacarídeos extraídos dos subprodutos no curso da contra lesões gástricas induzidas por etanol 50%



Tratando-se da concentração de MDA, observou-se (FIGURA 17B) efeito semelhante ao apontado anteriormente, frente à relação que existe entre sua presença e os níveis de GSH na mucosa gástrica. Como era de se esperar, o grupo tratado com etanol, apresentou uma maior concentração de MDA ( $89,22 \pm 24,43$  nmol/g) quando comparado ao grupo *naive* ( $18,6 \pm 4,54$  nmol/g), sendo a concentração desta substância no primeiro grupo 79,15% superior ao segundo grupo.

Dentre os polissacarídeos avaliados no grupo teste, aqueles provenientes da acerola, abacaxi e caju, que foram os mesmos que mantiveram os maiores de valores de GSH na mucosa, apresentaram menores níveis de MDA, sendo inferiores ao grupo controle em 56,5; 58,1 e

41,2%, respectivamente não diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ) do grupo *naive*. Este fato indica que estes polissacarídeos foram capazes de reduzir a concentração de MDA na mucosa lesada a valores próximos aos estabelecidos para o tecido normal, evitando o consumo de GSH. Este fato sugere que esses polissacarídeos podem exercer ação antioxidante reduzindo a possibilidade de peroxidação lipídica dos tecidos, que são sinalizadas mediante a presença de MDA nos tecidos lesionados.

Comparando a concentração o grupo controle os grupos onde foram administrados os materiais isolados da manga e do maracujá, observou-se uma redução de 23,34 e 10% nos níveis de MDA. Estes resultados foram distantes do verificado para os grupos tratados com os demais polissacarídeos e o *naive* e estatisticamente iguais ( $p < 0,05$ ) aos apresentados para o grupo controle. Estes resultados indicam que estes polissacarídeos não apresentaram efeito antioxidante tão efetivo quanto os demais, uma vez que as concentrações de MDA foram semelhantes ao apresentado nos tecidos lesionados com álcool.

Correlações podem ser estabelecidas entre os resultados apresentados nesta seção, com os verificados para a atividade antioxidante *in vitro* (AAT) utilizando o radical ABTS•+. No experimento *in vitro*, maiores AAT foram atribuídas aos polissacarídeos provenientes da acerola, abacaxi e caju, com destaque para este último que apresentou a maior AAT e conseqüentemente maior capacidade de eliminação dos radicais livres e menor  $IC_{50}$ . No experimento *in vivo*, dentre os três polissacarídeos, maior destaque obteve aquele proveniente na acerola, que foi capaz de manter os níveis de GSH (acerola:  $82,82 \pm 24,95$ mg de NPSH/g; *naive*:  $84,8 \pm 8,73$ mg) e MDA (acerola:  $46,4 \pm 8,6$ nmol/g; *naive*:  $21,81 \pm 8,9$ nmol/g) próximos aos verificados para o tecido em condições normais. Ainda assim, tanto o polissacarídeo do abacaxi como o do caju, também apresentaram efeitos satisfatórios semelhantes quanto à redução nos níveis de MDA e o consumo de GSH associados aos tecidos lesionados.

Semelhança também foi observada para os materiais da manga e maracujá que em ambos os testes antioxidantes, apresentaram os resultados menos satisfatórios, considerando as dosagens avaliadas.

Alguns trabalhos demonstraram que diferentes polissacarídeos extraídos de fontes vegetais ou não, apresentam atividade gastroprotetora tanto em modelos de lesão aguda quanto em modelos crônicos (AUSTARHEIM et al., 2012; SRIKANTA et al., 2010; YANG et al., 2012). Observa-se que a proteção proveniente destes polímeros é comumente atribuída ao

aumento da produção de muco, conforme verificado em animais tratados com polissacarídeos extraídos de vegetais (YANG et al., 2012). Entretanto, segundo Mellinger-Silva et al. (2011), além da síntese de muco, alguns polissacarídeos podem ser capazes de modular sistemas antioxidantes, conforme foi verificado pelo autores para uma arabinosilana.

Os resultados apresentando nesta seção para os materiais da acerola, abacaxi e caju, concordam com verificado por Srikanta et al. (2010), que observaram um aumento dos níveis de GSH com o tratamento dos animais com o polissacarídeo péptico isolado da *Decalepis hamiltoni* após a indução de lesões gástricas por estresse ou por etanol.

Estudando a atividade antioxidante do polissacarídeo extraído do *Ganoderma lucidum*, Zhonghui et al. (2014), observaram efeitos semelhantes ao reportado na presente pesquisa, quanto a manutenção de GSH e redução de MDA em fígados de ratos tratados com a solução do polissacarídeo e após condições de estresse físico.

Cheng e Kong (2011) ao estudarem a ação antioxidante do polissacarídeo extraído de *Lycium barbarum*, verificaram que nos tecidos de fígado dos animais tratados com o polissacarídeo, os níveis de GSH foram 23% superiores e os de MDA 27% inferiores, quando comparados com os tecidos nos animais estressados com etanol.

## 6 CONCLUSÕES

Os resultados indicaram que as frações polissacarídicas extraídas dos subprodutos da acerola, abacaxi, caju, manga e maracujá apresentaram natureza péctica que foi evidenciada principalmente pela presença de unidades de ácido galacturônico e urônico em todas as estruturas. O material obtido da acerola, abacaxi e caju se destacaram quanto aos parâmetros antioxidantes avaliados (AAT, GSH, MDA), apresentando valores superiores aos exibidos pelas frações da manga e do maracujá, possivelmente devido à diferença da grandeza molecular entre eles. De um modo geral, o avaliado nesta pesquisa pode servir de base para diferentes estudos que venham verificar aplicação destes materiais como potenciais antioxidantes naturais, por exemplo, ou que ainda possam elucidar os diferentes mecanismos envolvidos em outras ações biológicas associadas. Soma-se ao exposto até aqui a não toxicidade destes polímeros podendo resultar em diversas aplicações na indústria alimentícia e/ou farmacêutica sem maiores complicações.

## REFERÊNCIAS

ABRACEN. **Associação Brasileira das Centrais de Abastecimento**. Manual Operacional das CEASAS do Brasil, 2011. Disponível em: <<http://www.abracen.org.br>>. Acesso em: 30 novembro 2013.

ABRAHÃO, S. A.; PEREIRA, R. G. F. A.; DUARTE, S. M. S.; LIMA, A. R.; ALVARENGA, D. J.; FERREIRA, E. B. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffe arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.34, p.414-420, 2010.

ABREU, R. F.; MOREIRA, R. A.; MONTEIRO-MOREIRA, A. C. O. IN: XXXV REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOQUÍMICA, 2006, Águas de Lindóia, SP. **Anais...** Brasil, 2006.

AGRIANUAL: **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria & Agroinformativo, 2000.

ALBERT, B.; BRAY, D.; LEWIS J.; RAFF, M.; ROBERTS K.; WATSON, J. D. **Molecular biology of the cell**. Nova York, Garland Publishing, 1983.

ALEXANDRINO, A. M.; FARIA, H.G DE; SOUZA, C. G. M. DE; PERALTA, R. M. **Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por *Pleurotus ostreatus* (jack:Fr)**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 27, n.2, p. 364-368, abril/junho, 2007.

AL-SHERAJI, S. H.; ISMAIL, A.; MANAP, M. Y.; MUSTAFA, S.; YUSOF, R. M.; HASSAN, F. A. Purification, characterization and antioxidant activity of polysaccharides extracted from the fibrous pulp of *Mangifera pajang* fruits. **LWT. Food Science and Technology**, vol. 48, n.2, p. 291–296, 2012.

ALVES, C. Q.; JORGE M. DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Quím. Nova** vol.33 n.10, 2010

ANEEL. **Atlas de energia elétrica do Brasil**. 3ªed. Brasília: ANEEL, 2008. Disponível em: <[http://www.aneel.gov.br/arquivos/PDF/atlas\\_par2\\_cap4.pdf](http://www.aneel.gov.br/arquivos/PDF/atlas_par2_cap4.pdf)>. Acesso em: 22 de Novembro de 2013.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA 2008. **Editora Gazeta**, 2008. 136 p.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA 2013. **Editora Gazeta**, 2013.

ANTUNES, L. E. C. **Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil**. Ciência Rural, vol.32, n.1. Santa Maria. Fev. 2002.

ASPINALL, G. O. Chemistry of cell wall polysaccharides. In: STUMPF, P. K. e CONN, E. E. (Ed.). **The Biochemistry of Plants**. New York: Academic Press, v.3, 1980. p. 473-500.

AUSTARHEIM, I., MAHAMANE, H., SANOGO, R., TOGOLA, A., KHALEDABADI, M., VESTRHEIM, A.C., INNGJERDINGEN, K.T., MICHAELSEN, T.E., DIALLO, D., PAULSEN, B.S. Anti-ulcer polysaccharides from *Cola cordifolia* bark and leaves. **Journal of Ethnopharmacology**. vol. 143, p. 221-227, 2012.

BAGHERIAN, H.; ASHTIANI, F. Z.; FOULADITAJAR, A.; MOHTASHAMY, M. Comparisons between conventional, microwave- and ultrasound-assisted methods forextraction of pectin from grapefruit. **Chemical Engineering and Processing**, vol. 50, p. 1237–1243, 2011.

BARBOSA, J. A; RIBEIRO, W. S.; ALMEIDA, E. I. B. **Levantamento das perdas pós-colheita de frutos, hortaliças e flores no estado da Paraíba**. Brasília, Ed. Kiron, 2012. 289p.

BELESKI-CARNEIRO, E. B.; GANTER, J. L. M. S.; REICHER, F. Structural aspects of the exudate from the fruit of *Chorisia speciosa* St Hil. Intern. **J. Biol. Macromol.**,v. 26, p. 219-224, 1999.

BEZERRA, G. P.; TEIXEIRA-SÁ, D. M. A.; SOARES, D. L.; MOREIRA, R. A. In: XXXV REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOQUÍMICA, 2006, Águas de Lindóia, SP. **Anais...** Brasil, 2006.

BODY, S. C., SASAME, H.A., BODY, M.R. High concentrations of glutathione in glandular stomach: possible implications for carcinogenesis. **Science**, vol. 205, p.1010–1012, 1979.

BONNES, T., GUÉRIN, T. Is malonaldeyde a valuable of peroxidation?. **Biochemical Pharmacology**, vol. 44, p.985-988, 1992.

BOSCO, J.; SOARES, K. T.; AGUIAR FILHO, S. P. de; BARROS, R. V. **A cultura da cajazeira**. João Pessoa: Emepa, 2000. 229 p. (Documentos, 28)

BOTELHO, L.; CONCEIÇÃO, A.; CARVALHO, V.D. Caracterização de fibras alimentares da casca e cilindro central do abacaxi Smooth cayenne. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.2, p.362-367, 2002.

BORCHERS, A. T.; KEEN, C. L.; GERSHWIN, M. E. Mushrooms, tumors, and immunity: An update. **Experimental Biology and Medicine (Maywood, NJ)**, vol. 229, n. 5, p. 393–406, 2004.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. v. 722, p. 248-254, 1976.

BRASIL, **Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA)**. Decreto nº 6268 de 22 de novembro de 2007. Regulamenta a Lei nº 9.972, de 25 de maio de 2000, que institui a classificação de produtos vegetais, seus subprodutos e resíduos de valor econômico, e dá outras

providências. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=vizualizar&id=1351>> . Acesso em 02 de setembro de 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa n. 12, de 04 de setembro de 2003.Regulamento técnico para fi xação dos padrões de identidade e qualidade gerais para suco tropical de abacaxi, acerola,cajá, caju, goiaba, graviola, mamão, manga, mangaba, maracujá e pitanga; e os padrões de identidade e qualidade dos néctares de abacaxi, acerola, cajá, caju, goiaba, graviola, mamão, manga, maracujá, pêssego e pitanga. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 09 de setembro de 2003. Seção 1, p. 2.

BRAZILIAN FRUIT. Disponível em: <<http://www.brazilianfruit.org/>>. Acesso em: 24 de janeiro de 2015.

BRONDSTED, H.; HOVGAARD, L.;SIMONSEN, L. Dextran hydrogels for colon-specific drug delivery. V. Degradation in human intestinal incubation models. **Pharma Sciences**,vol. 5, p.65-69, 1995

BUCKERIDGE, M.S.; DIETRICH, S.M.C. Galactomannans from Brazilian legume seeds. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo. v. 13, p. 109-112, 1992.

BURTON, R. A.; GIDLEY, M. J.; FINCHER, G. B. Heterogeneity in the chemistry, structure and function of plant cell walls. **Nature Chemical Biology**, v. 6, n. 10, p. 724-732, 2010.

CAEL, J. J., CANNON, R. E., DIGGS, A. O., **Solution Properties of Polysaccharides**, ACS Symposium Series, Washington, 43p., 1980.

CANILHA, L.; SILVA, D. D. V.; CARVALHO, W.; MANCILHA, M. Aditivos alimentares produzidos por via fermentativa, Parte 3: polissacarídeos e enzimas. **Revista Analytica**, vol. 20 p. 332–341, 2005.

CAREY, P. R. **Biochemical Application of Raman and Resonance Raman Spectroscopy**, Academic Press, New York, 1992.

CARIOCA, J. O. B.; ARORA, H. L. **Recycling process for human food and feed from residues and resources**. Fortaleza: UFC/ Banco do Nordeste, 2000. 428 p.

CARPITA, N. C.; GIBEAUT, D. M. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. **Plant Journal**, v. 3, n. 1, p. 1-30, 1993.

CARPITA, N.; MCCANN, M. The cell wall. In: BUCHAMAN, B. B.; WILHELM, G., et al (Ed.). **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. Rockville American Society of Plant Physiologists, p.52-108, 2000.

CARPENTIERI-PÍPOLO, V.; PRETE, C. E. C.; GONZALEZ, M. G. N.; POPPER, I. O. Novas cultivares de acerola (*Malpighia emarginata* DC). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, p. 124-126, abril, 2002.

149, 2005

CATANEO, C. B.; CALLARI, V.; GONZAGA, L. V.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Ciências Agrárias**. v. 29, n. 1, p. 93-102, 2008.

CERQUEIRA, M. A.; LIMA, A. M. P.; MONTEIRO-MOREIRA, A. C. O.; MOREIRA, H. H. T.; VICENTE, A. A.; TEIXEIRA, J. A.; MOREIRA, R. A. In: XXXV REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOQUÍMICA, 2006, Águas de Lindóia, SP. **Anais...** Brasil, 2006.

CERQUEIRA, M. A.; BOURBON, A. I.; PINHEIRO, A. C.; MARTINS, J. T.; SOUZA, B. W. S.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. Galactomannans use in the development of edible films/coatings for food applications. **Trends in Food Science & Technology** v.22, p. 662-671, 2011.

CHEMAT, et al. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, vol.18, p.813–835, 2011.

CHEND, D; KONG, K. The effect of *Lycium Barbarum* polysaccharide on alcohol-Induced oxidative stress in rats. **Molecules**, vol.16, p. 2542-2550, 2011.

CHENG, H.; FENG, S.; JIA, X.; LI, Q.; ZHOU, Y.; DING, C. Structural characterization and antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Epimedium acuminatum*. **Carbohydrate Polymers**. vol. 92, p. 63–68, 2013.

CHIDOUH, A.; AOUADI, S.; HEYRAUD, A. Extraction, fractionation and characterization of water-soluble, polysaccharide fractions from myrtle (*Myrtus communis* L.) fruit., **Food Hydrocolloids**, vol. 35, p.733-739, 2014.

CHINNICI, F.; BENDINI, A.; GAIANI, A.; RIPONI, C. Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. Golden delicious apples as related to their phenolic composition. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 52, p. 4684-4689, 2004.

CHO, Y.J.; HWANG J. K. J. Modeling the yield and intrinsic viscosity of pectin in acidic solubilization of apple pomace. **Food Eng.**, vol.44, p.85, 2000.

CHOI, J. I.; KIM, J. K.; SRINIVASAN, P.; KIM, J. H.; PARK, H. J.; BYUN, M. W., Comparison of gamma ray and electron beam irradiation on extraction yield, morphological and antioxidant properties of polysaccharides from tamarindseed. **Radiation Physics and Chemistry**, vol. 78, p. 605-609, 2009.

CHOI, E. Y.; HWANG, H. J.; KIM, I. H.; NAM, T. J. Protective effects of a polysaccharide from *Hizikia fusiformis* against ethanol toxicity in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 1, p. 134-139, 2009.

- COIMBRA, M. A.; BARROS, A.; BARROS, M.; RUTLEDGE, D. N.; DELGADILLO, I. Multivariate analysis of uronic acid and neutral sugars in whole pectic samples by FT-IR spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, vol.37, p. 241–248, 1998.
- COLLINS, H. M.; BURTON, R. A.; TOPPING, D. L.; LIAO, M. –L.; BACIC, A.; FINCHER, G. B. Variability in fine structures of noncellulosic cell wall polysaccharides from cereal grains: potential importance in human health and nutrition. **Cereal Chemistry**, vol.87, p. 272–282, 2010.
- COSGROVE, D. J. Growth of the plant cell wall. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 6, n. 11, p. 850-861, 2005.
- COSTA, R.P.; MENENDEZ, G.; BRICARELLO, L.P.; ELIAS, M.C.; ITO, M. Óleo de peixe, fitosteróis, soja e antioxidantes: impactos nos lipídios e aterosclerose. **Revista da Sociedade de Cardiologia**, São Paulo, v.10, n.1, p.819-832, 2000.
- COUTO, S.R.M.; DERIVI, S. C. N.; MENDEZ, M.H.M. Utilização tecnológica de subprodutos da indústria de vegetais. **Higiene alimentar**, São Paulo, v. 124, n. 18, p. 12-22, set. 2004.
- CIPRIANI, T. R.; MELLINGER, C. G.; GORIN, P. J.; IACOMINI, M. Anarabinogalactan isolated from the medicinal plant *Maytenus ilicifolia*. **J. Nat. Prod.**, v.67, p. 703-706, 2004.
- CUNHA, P. L. R.; FEITOSA, J. P. A.; PAULA, R. C. M. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: Uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química nova**, v.32, n.3, p.649-660, 2009
- DELGOBO, C. L.; GORIN, P. A. J.; JONES, C.; IACOMINI, M. Gum heteropolysaccharides and free reducing mono- and oligosaccharides of *Anadenanthera colubrina*. **Phytochemistry**, v. 47, p. 1207-1214, 1998.
- DETERS, A. M.; LENGSELD, C.; HENSEL, A. Oligo- and polysaccharides exhibit a structure dependent bioactivity on human keratinocytes in vitro. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 102, p. 391-399, 2005.
- DEY, P. M.; BROWNLEADER, M. D.; HARBORNE, J. B. The plant, the cell and its molecular components. In: DEY, P. M. e HARBORNE, J. B. (Ed.). **Plant Biochemistry**. Bristol: Academic Press, p. 6-9, 1997.
- DINIZ, L. T. **Resposta da banana “prata anã” minimamente processada e conservada em solução de sacarose e polpa de maracujá**: UFV, 2009. 66p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2009.
- DONG, Q.; FANG, J. Structural elucidation of a new arabinogalactan from the leaves of *Nerium indicum*. **Carbohydr. Res.**, v. 332, p. 109-114, 2000.
- DREYFUSS, J. L.; REGATIERI, C. V.; JARROUGE, T. R.; CAVALHEIRO, R. P.; SAMPAIO, L. O.; NADER, H. B. Heparan sulfate proteoglycans: structure, protein interactions and cell signaling. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, p.409-429, 2009.

EDASHIGE, Y; ISHII, T. Rhamnogalacturonan I from xylem differentiating zones of *Cryptomeria japonica*. **Carbohydr. Res.**, v. 304, p. 357-365, 1997

EIRAS, C., PASSOS, I. N. G., BRITO, A. C. F. de; SANTOS JÚNIOR, J. R. dos, ZUCOLOTO, V., OLIVEIRA JR, OSVALDO N., KITAGAWA, I. L., CONSTANTINO, C. J. L., CUNHA, H. N. da, Nanocompósitos eletroativos de poli-*o*-metoxianilina e polissacarídeos naturais. **Química Nova**, vol.30, p. 1158-1162, 2007.

FERNANDES, A. N.; THOMAS, L. H.; ALTANER, C.M.; CALLOW, P.; FORSYTH, V. T.; APPERLEY, D.C.; KENNEDY, C. J.; JARVIS, M. C. Nanostructure of cellulose microfibrils in spruce wood. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, vol.108, p. 1195–1203, 2011.

FERREIRA, A. C. H.; NEIVA, J. N. M.; RODRIGUEZ, N. M.; LÔBO, R. N. B.; V. R VASCONCELOS. Valor nutritivo das silagens de capim-elefante com diferentes níveis de subprodutos da indústria do suco de caju. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 1380-1385, 2004.

FERREIRA, M. L.C. **Polissacarídeos solúveis de folhas de *Artemisia absinthium* e *Artemisia vulgaris*: Isolamento, caracterização e efeitos sobre células THP-1**: UFPR, 2012.138p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

FOLEGAATI, M. I. S.; MATSUURA, F. C. A. U. Produtos. In: RITZINGER, R.; KOBAYASHI, A. K.; OLIVEIRA, J. R. P. **A cultura da acerola**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p. 164-184, 2003.

FIGUEIRO, S. D.; GÓES, J. C.; MOREIRA, R. A.; SOMBRA, A. S. B. On the physico-chemical and dielectric properties of glutaraldehyde crosslinked galactomannan–collagen films. **Carbohydrates Polymers**, vol. 56, p.313-320, jul, 2004.

FORTES, R. C.; TAVEIRA, V. C.; NOVAES, M. R. C. G.. The immunomodulator role of  $\beta$ -D-Glucans as co-adjuvant for cancer therapy. **Rev. Bras. Nutr. Clin.**, vol.2, p.163-168., 2006.

FREITAS, N. C. de. **Crescimento e produção do abacaxizeiro pérola, com mudas tipo filhote, em Dom Aquino-MT**: UFMT, 2003. 73 p. Dissertação (Mestrado)– Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2003.

GALEMBECK, F.; BARBOSA, C. A. S.; SOUSA, R. A. Aproveitamento Sustentável de Biomassa e de Recursos Naturais na Inovação Química. **Química Nova**, v. 32, p. 571-581, 2009.

GAMAL-ELDEEN, A. M. G.; AMER, H.; HELMY, W. A.; TALAAT, R. M.; RAGAB, H. Chemically-modified polysaccharide extract derived from *Leucaena leucocephala* alters Raw 264.7 murine macrophage functions. **International Immunopharmacology**. v. 7, p. 871 – 878, 2007.

GANTER, J. L. M. S.; HEYRAUD, A.; PETKOWICZ, C. L. O.; RINAUDO, M.; REICHER, F. Galactomannans from Brazilian seeds: characterization of the oligosaccharides produced 90

by mild acid hydrolysis. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 17, p. 13-19, 1994.

GONZAGA, M. L. C. **Agaricus blazei Murill: Isolamento, Caracterização Estrutural e Atividades Biológicas dos Polissacarídeos e/ou Glicoconjugados Presentes**: UFC, 2006. 155p. Tese (Doutorado em Química Inorgânica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

GONZALEZ, F.G.; PORTELA, T.Y.; STIPP, E.J.; DI STASI, L.C. Antiulcerogenic and analgesic effects of *Maytenus aquifolium*, *Sorocea bomplandii* and *Zolernia ilicifolia*. **J Ethnopharmacol.**, v. 77, p. 41-47, 2001.

GOULAO, L. F. Pectin de-esterification and fruit softening: revisiting a classical hypothesis. **Stewart Postharvest Review**, vol.6, p. 1–12, 2010.

GOLOVCHENKO, V, V.; KHRAMOVA, D.S.; OVODOV, R. O.; SHASHKOV, A. S. OVODOV, Y.S. Structure of pectic polysaccharides isolated from onion *Allium cepa* L. using a simulated gastric medium and their effect on intestinal absorption. **Food Chemistry**. vol .134, p. 1813–1822, 2012.

GROSEV, V. M.; BOZAC, R.; PUPPELS, G. J. Vibrational spectroscopic characterization of wild growing mushrooms and toadstools. **Spectrochimica Acta** (part a), v.57, p.2815-2829,2001.

HAPPI-EMAGA, T.; RONKART, S. N.; ROBERT, C.; WATHELET, B.; PAQUOT, M. Characterisation of pectins extracted from banana peels (*Musa AAA*) under different conditions using an experimental design. **Food Chemistry**, v. 108, p. 463–471, 2008.

HAUER, J.; ANDERER, F. A. Mechanism of stimulation of human natural killer cytotoxicity by arabinogalactan from *Larix occidentalis*. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, vol. 36, n.4, pp. 237–244, 1993.

HAZEN, S et al. Quantitative trait loci and comparative genomics of cereal cell wall composition. **Plant Physiology**, vol.32, pp. 263–271, 2003.

HOPPENKAMPS, R., THIES, E., YOUNES, M., SIEGERS, C.P. "Glutathione and GSH dependant enzymes in the human gastric mucosa." **Wien Klin Wochenschr** vol. 62, p.183–186, 1984.

HU, YUHONG.; YANPING WANG., YI LIU. Optimization of polysaccharides extraction from *Trametes robiniophila* and its antioxidant activities. **Carbohydrate Polymers**, vol.111 p.324–332, 2014

HWANG, H. J.; KWON, M. J.; KIM, I. H.; NAM, T. J. The effect of polysaccharide extracted from the marine alga *Capsosiphon fulvescens* on ethanol administration. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 8, p. 2653-2657, 2008.

IACOMINI, M.; SERRATO, R. V.; SASSAKI, G. L.; LOPES, L.; BUCHI, D. F.; GORIN, P. A. J. Isolation and partial characterization of a pectic polysaccharide from the fruit pulp of *Spondias*

*cytherea* and its effect on peritoneal macrophage activation. **Fitoterapia**, v. 76, n. 7-8, p. 676-683, 2005.

IAGHER, F.; REICHER, F.; GANTER, J. L. M. S. Structural and rheological properties of polysaccharides from mango (*Mangifera indica* L.) pulp. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 31, n. 1-3, p. 9-17, 2002.

INNGJERDINGEN, K. T.; KIYOHARA, H.; MATSUMOTO, T.; PETERSEN, D.; MICHAELSEN, T. E.; DIALLO, D.; INNGJERDINGEN, M.; YAMADA, H.; PAULSEN, B. S. An immunomodulating pectic polymer from *Glinus oppositifolius*. **Phytochemistry**, v. 68, p. 1046–1058, 2007.

INTERMEDIATE TECHNOLOGY DEVELOPMENT GROUP- ITDG- Fruits Wastes Utilization. Disponível em: <[http://www.itdg.org/docs/technical\\_information\\_service/fruit\\_waste\\_utilisation.pdf#search=%22wastes%20fruits%22](http://www.itdg.org/docs/technical_information_service/fruit_waste_utilisation.pdf#search=%22wastes%20fruits%22)>. Acesso em: 30 de agosto, 2013.

KAUR, D.; WANI, A. A.; OBEROI, D. P. S.; SOGI, D. S. Effect of extraction conditions on lycopene extractions from tomato processing waste skin using reponse surface methodology. **Food Chemistry**, Barking, v. 108, n.2, p.711 – 718, Maio, 2008.

KAUR, M. et al. Physicochemical, morphological, thermal, and rheological properties of starches separated from kernels of some Indian mango cultivars (*Mangifera indica* L.). **Food Chemistry**, v. 85, p. 131-140, 2004.

KIM, G. Y.; OH, Y. H.; PARK, Y. M. Acidic polysaccharide isolated from *Phellinus linteus* induces nitric oxide-mediated tumoricidal activity of macrophages through protein tyrosine kinase and protein kinase C. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, vol. 309, p. 399–407, 2003.

KIM, Y.; GIRAUD, D.W.; DRISKELL, J.A. Tocopherol and carotenoid contents of selected Korean fruits and vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, Netherlands, v.20, n. 6, p. 458-465, 2007.

KIM, Y.; TENG, Q.; WICKER, L. Action of *Valencia orange* PME deesterification of high methoxyl pectin and characterization of modified pectins. **Carbohydrate Research**, v. 340, p. 2620-2629, 2005.

KIYOHARA, H.; HIRANO, M.; WEN, X. G.; MATSUMOTO, T.; SUN, X. B.; YAMADA, H. Characterisation of an anti-ulcer pectic polysaccharide from leaves of *Panax ginseng* CA Meyer. **Carbohydrate Research**, v. 263, n. 1, p. 89-101, 1994

KOROPATKIN, N. M.; CAMERON, E. A.; MARTENS, E. C. How glycan metabolism shapes the human gut microbiota. **Nature Reviews - Microbiology**, v. 10, p. 323-335, 2012.

KRCMAR, P.; NOVOTNY, C.; MARAIAS, M-F; JOSELEAU, J-P. Structure of extracellular polysaccharide produced by lignin-degrading fungus *Phlebiaradiata* in liquid culture. **International Journal of Biological Macromolecules** vol.24, p. 61-64., 1999.

- KUBO, I.; MUROI, H.; KUBO, A. Structural functions of antimicrobial long-chain alcohols and phenols. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, vol.3,n. 7, p. 873–880, 1995.
- KURITA, O.; FUJIWARA, T.;YAMAZAKI, E. Characterization of the pectinextracted from citrus peel in the presence of citric acid. **Carbohydrate Polymers**, vol. 74, p. 725–730, 2008.
- JAFARI, S. M., ASSADPOOR, E., BHANDARI, B. E HE, Y. Nanoparticle encapsulation of fish oil by spray drying. **Food Research International**, 41, pp. 172-183, 2008.
- JOSELEAU, J. P.; COMTAT, J.; RUEL, K. Chemical structure of xylans and their interaction in the plant cell walls. In: VISSER, J.;BELDMAN, G., *et al* (Ed.). **Xylans and Xylanases**. Amsterdam: Elsevier, p.1-15.1992.
- JOYE, D.D.; LUZIO, G.A. Process for selective extraction of pectins from plant material by differential pH. **Carbohyd. Polym.**, vol.43, p.337, 2000.
- JIA, X.; DINGA, C.; YUANB, S.; ZHANGB, Z.; CHENA, Y.; DUB, L.; YUAN, M . Extraction, purification and characterization of polysaccharides from Hawk tea. **Carbohydrate Polymers** 99 (2014) 319– 324, 2013.
- JIA, L. R.; ZHANG, Z.; ZENG, WC. Antioxidant activity and characterization of antioxidantpolysaccharides from pine needle (*Cedrus deodara*). **Carbohydrate Polymers** vol.108, p. 58–64, 2014.
- JUNIOR, I, V. J. S; VEREDAS V.; SANTOS, M. A. G. S.; SANTANA C. C.; CARPES, M. J. S.; CORREIA, C. R. D. Cromatografia em leito móvel simulado na produção de substâncias enantiomericamente puras ou enriquecidas em larga escala. **Química Nova**, vol.29, n.5, 2006.
- KACURÁKOVÁ, M., CAPEK, P., SASINKOVÁ, V., WELLNER, N., & EBRINGEROVÁ, A. FT-IRstudy of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicel-luloses. **Carbohydrate Polymers**, v. 43, p.195–203, 2000.
- KO, J. K.; CHO, C. H. Histological study of mechanisms of adaptive cytoprotection on ethanol-induced mucosal damage in rat stomachs. **Dig Dis Sci.**, vol.43, p. 1248-57, 1998.
- KRAVTCHENKO, T. P.; VORAGEN, A. G. J.; PILNIK, W. Analytical comparison of three industrial pectin preparations. **Carbohydrate Polymers**, vol. 18, p.17–25, 1992.
- LAUFENBERG, G., 2003. Transformation of vegetable waste into added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. **Bioresource Technology**, 87, p.167-198.
- LAUFENBERG, G.; KUNZ, B.; NYSTROM, M. Transformation of vegetable waste into value added products: (A) The upppgrading concept; (B) Pratical implementations. **Bioresource Technology**, v.87, n.2, p.167-198, 2003.

LEE, J.S.; SYNYTSYA, A.; KIM, H.B.; CHOI, D. J.; LEE, S.; LEE, J.; KIM, W. J.; JANG, S.; PARK, Y. I. Purification, characterization and immunomodulating activity of a pectic polysaccharide isolated from Korean mulberry fruit Oddi (*Morus alba* L.). **International Immunopharmacology**, vol. 17, p.858–866, 2013.

LEONTOWICZ, M.; GORINSTEIN, S.; LEONTOWICZ, H.; KRZEMINSKI, R.; LOJEK, A.; KATRICH, E.; CIZ, M.; MARTIN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, S.; HARUENKIT, R.; TRAKHTENBERG, S. Apple and pear and pulp and their influence on plasma lipids and antioxidant potentials in rats fed cholesterol-containing diets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 5780-5785, 2003.

LEUNG, M. Y.; LIU, C.; KOON, J. C.; FUNG, K. P. Polysaccharide biological response modifiers. **Immunology Letters**, vol.105, n.2, p. 101–114, 2006.

LEVIGNE, S.; THOMAS, M.; RALET, M.; THIBAULT, J.F. Determination of the degrees of methylation and acetylation of pectins using a C18 column and internal standards **Carbohydr. Polym.**, vol. 49,p. 145, 2002.

LI, J.; LIU, Y.; FAN, L.; AI, L.; SHAN, L. Antioxidant activities of polysaccharides from the fruiting bodies of *Zizyphus Jujuba* cv. Jinsixiaozao. **Carbohydrate Polymers**, vol.84, n.1,p 390–394, 2011.

LI, T.; QU, X.; ZHANG, Q.; WANG, Z.-Z. Ultrasound-assisted extraction and profile characteristics of seed oil from *Isatis indigotica* Fort. **Industrial Crops and Products**. Vol. 35, p. 98–104, 2012.

LIMA, L. M. O. **Estudo do aproveitamento dos bagaços de frutas tropicais, visando a extração de fibras**: UFRN, 2001. Dissertação -(Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2001.

LIMA, V. L. A.; MÉLO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, D. E. S. Avaliação do teor de antocianinas em polpa de acerola congelada proveniente de frutos de 12 diferentes aceroleiras (*Malpighia emarginata* D. C.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 101-103, 2003.

LO, T. C. T.; CHANG, C. A.; CHIU, K. H.; TSAY, P. K.; JEN, J. F. Correlation evaluation of antioxidant properties on the monosaccharide components and glycosyl linkages of polysaccharide with different measuring methods. **Carbohydrate Polymers**, v.86, p.320-327, 2011

LOUSADA JUNIOR, J. E.; NEIVA, J. N. N.; RODRIGUEZ, N. M.; PIMENTEL, J. C. M. P.; LÔBO, R. N. B. Consumo e digestibilidade de subprodutos do processamento de frutas em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.34, n.2, p.659-669, 2005.

LOUSADA JUNIOR, J. E. et al. Caracterização físico-química de subprodutos obtidos do processamento de frutas tropicais visando seu aproveitamento na alimentação animal. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.37, n.1, p. 70-76, 2006.

LUCYSZYN, N.; QUOIRIN, M.; KOEHLER, H. S.; REICHER, F.; SIERAKOWSKI, M.-R. Agar/galactomannan blends for strawberry (*Fragaria x ananassa* Duchesne) cv. Pelican micropropagation. **Scientia Horticulturae** vol. 107, p. 358-364, fev, 200

LU, J. M.; LIN, P. H.; YAO, Q.; CHEN, C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidant: Experimental approaches and model system. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, vol.14, p. 840–860, 2010.

LUO, M.; YANG, L. Q.; YAO, X. H.; MU, F. D.; ZHANG, D. Y.; ZHUO-YUE SONG, Z. Y.; QIAO, Q.; FU, Y. J.; ZU, Y. G. Optimization of enzyme-assisted negative pressure cavitation extraction of five main indole alkaloids from *Catharanthus roseus* leaves and its pilot-scale application. **Separation and Purification Technology** vol. 125, p. 66–73, 2014.

LUO, A. X.; HE, X. J.; ZHOU, S. D.; FAN, Y. J.; LUO, A. S.; CHUN, Z. Purification, composition analysis and antioxidant activity of the polysaccharides from *Dendrobium nobile* Lindl. **Carbohydrate Polymers**, vol.79, p.1014–1019, 2010.

LV, L.; CHENGB, Y.; ZHENG, T.; LIA, X.; ZHAI, R. Purification, antioxidant activity and antiglycation of polysaccharides from *Polygonum multiflorum* Thunb. **Carbohydrate Polymers**, vol. 99, p. 765– 773, 2014

MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; LIMA, A. S. L. **Processamento de Frutas Tropicais**. Fortaleza, Edições UFC, 2007. 320p.

MACEDO, M. G.; LACROIX, C.; GARDNER, N. J.; CHAMPAGNE, C. P. Effect of medium supplementation on exopolysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* RW-9595M in whey permeate. **International Dairy Journal** ,vol. 12, p.419, 2002.

MANTOVANI, J. R. et al. Uso fertilizante de resíduo da indústria processadora de goiabas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.26, p.339-342. 2004.

MARCON, M. V. **Extração e caracterização de pectinas obtidas de farinha de bagaço de maçã**. 123f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2004.

MARCON, M. V.; VRIESMANN, L.C.; WOSIACKI, G.; BELESKI-CARNEIRO, E. Pectins from Apple Pomace. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 15, p. 127-129, 2005

MARODIN, G.A.B.; SARTORI, I.A. Situação das frutas de caroço no Brasil e no mundo. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE FRUTAS DE CAROÇO: PÊSSEGOS, NECTARINAS E AMEIXAS, 2000, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000, p. 7-16.

MARTINS, C. R.; FARIAS, R.M. Produção de alimentos x desperdício: tipos, causas e como reduzir perdas na produção agrícola. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v.9, n.1, p.83-93, 2002.

MATIAS, M. F. O.; OLIVEIRA, E.L.; GERTRUDES, E.; MAGALHÃES, M.A. Use of fibres obtained from the cashew (*Anacardium occidentale*, L) and guava (*Psidium guayava*) fruits for enrichment of food products. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, p. 143-150, 2005.

MELLINGER, C. G. Caracterização estrutural e atividade biológica de carboidratos de phyllanthus niruri (quebra-pedra). UFPR, 2006, 156p. Tese - (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2006.

MELLINGER-SILVA, C.; SIMAS-TOSIN, F. F.; SCHIAVINI, D. N.; WERNER, M. F.; BAGGIO, C. H.; PEREIRA, I. T.; DA SILVA, L. M.; GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M. Isolation of a gastroprotective arabinoxylan from sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 22, p. 10524-10528, 2011.

MENG, L. Z.; LV, G. P.; HU, D. J.; CHEONG, K. L.; XIE, J.; ZHAO, J.; LI, S. P. Effects of polysaccharides from different species of *Dendrobium* (Shihu) on macrophage function. **Molecules**, vol. 18, p. 5779-5791, 2013.

MERCE, A. L. R.; FERNANDES, E.; MANGRICH, A. S.; SIERAKOWSKI, M. R.; SZPOGANICZ, B. Fe(III) - Galactomannan Solid and Aqueous Complexes. Potentiometric, EPR Spectroscopy and Thermal Data. **Journal of The Brazilian Chemical Society**. v.12-6, p. 791-798, 2001.

MIGUEL, A. C. A.; ALBERTINI, S., BEGIATO, G. F.; DIAS, J. R. P. S.; SPOTO, M. H. F. Aproveitamento agroindustrial de resíduos sólidos provenientes do melão minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.3, p. 733-737, 2008.

MINJARES-FUENTAS, R.; FEMENIA, A.; GARAU, M.C.; MEZA-VELAZQUEZ, J.A.; SIMAL, S., ROSSELLO, C. Ultrasound-Assisted Extraction of Pectins from Grape Pomace using Citric Acid: A Response Surface Methodology Approach. **Carbohydrate Polymers** vol. 106, p.179-180, 2014.

MOHNEN, D. Pectin structure and biosynthesis. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 11, n. 3, p. 266-277, 2008.

MONDAL, S.; CHAKRABORTY, I.; PRAMANIK, M.; ROUT, D.; ISLAM, S. S. Structural studies of water-soluble polysaccharides of an edible mushroom, *Termitomyces eurhizus*. A reinvestigation. **Carbohydrate Research**, vol. 339, pp. 1135-1140, 2004.

MORETTI, C. L. Processamento mínimo de hortaliças: Tendências e desafios. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 172, 2001 (Suplemento).

MORETTI, C. M.; MACHADO, C. M. M. Aproveitamento de resíduos sólidos do processamento mínimo de frutas e hortaliças. 4, 2006, São Pedro. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS. **Palestras, Resumos**,

**Fluxogramas e Oficinas...** Piracicaba: USP/ESALQ, 2006. p. 25-32.

MORRISON, I. M. (2001). **Polysaccharides: Plant non cellulosic**. In Encyclopedia of life sciences. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, vol. 65, p. 55-63, 1983.

MIHARA, M.; UCHIYAMA, M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. **Anal Biochem.**, vol.86, p.271-278, 1978.

NASCIMENTO, G. E. **Caracterização da estrutura química e avaliação da atividade antinociceptiva de polissacarídeos extraídos da polpa de *Solanum betaceum***: UFPR, 2013. 104p. Dissertação – (Mestrado em Ciência Bioquímica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

NASCIMENTO, J. S. **Competitividade das exportações brasileiras de frutas: uma análise a partir dos obstáculos comerciais encontrados na União Européia**: UFPB, 2001. 92 p. Dissertação (Mestrado em Economia) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2001.

NODA, I.; DOWREY, A. E.; MARCOTT, C. (1999). Two-dimensional infrared (2D IR) spectroscopy. In G. Zerbi, **Modern polymer spectroscopy** (p 1-32). Weinheim: VCH.

OLIC, N. B. Brasil: exportações frutificando. **Revista Pangea – Quinzenário de Política, Economia e Cultura**. Disponível em: <<http://www.clubemundo.com.br/revistapangea/show-news.asp?>>. Acesso em: 1 de setembro 2013.

OLIVEIRA, F.A.; VIEIRA-JÚNIOR, G.M.; CHAVES, M.H.; ALMEIDA, F.R.; FLORÊNCIO, M.G.; LIMA, R.C. JR; SILVA, R.M.; SANTOS, F.A.; RAO, V.S. Gastroprotective and anti-inflammatory effects of resin from *Protium heptaphyllum* in mice and rats. **Pharmacol Res.**, v. 49, p. 105-111, 2004.

OLIVEIRA, L. F.; BORGES, S. V.; NASCIMENTO, J.; CUNHA, A. C.; JESUS, T. B.; PEREIRA, P. A. P.; PEREIRA, A. G. T.; FIGUEIREDO, L. P.; VALENTE, W. A. Utilização de casca de banana na fabricação de doces de banana em massa. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 4, p. 581-589, 2009.

OLIVEIRA, L.F. et al. Aproveitamento alternativo da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) para produção de doce em calda. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 33, n. 3, p. 259-262, 2002.

ONO, L.; WOLLINGER, W.; ROCCO, I. M.; COIMBRA, T. L. M.; GORIN, P. A. J.; SIERAKOWSKI, M-R. In vitro and in vivo antiviral properties of sulfated galactomannans against yellow fever virus (BeH111 strain) and dengue 1 virus (Hawaii strain). **Antiviral Research**, vol. 60, n.3, p. 201-208, 2003.

PACHECO, M. T. B.; ÉRICA BIGHETTI, E.; ANTÔNIO, M.; CARVALHO, J. E.; ROSANELI, C. F.; SGARBIERI, V. C. Efeito de um hidrolisado de proteínas de soro de leite e de seus peptídeos na proteção de lesões ulcerativas da mucosa gástrica de ratos. **Rev. Nutr.** vol.19 n.1 2006

PAIVA, F. F. A.; GARRUTI, D. S.; SILVA NETO, R. M. **Aproveitamento industrial do caju.** Fortaleza: CNPAT/SEBRAE/CE (Embrapa CNPAT, 38), 2000, 85p.

PARK, J.S.; CHOI, M.A.; KIM, B.S.; HAN, I.S.; KURATA, T.; YU, R.. Capsaicin protects against ethanol-induced oxidative injury in the gastric mucosa of rats. **Life Sci.**, v. 67, p. 3087-3093, 2000.

PAZUR, J. H. IN: **Carbohydrate analysis: a practical approach**; CHAPLIN, M. F.; KENNEDY, J. F., eds.; Oxford University Press; Oxford, 1994, p. 73.

PECTIN. Disponível em: <http://sci-toys.com/ingredients/pectin-2gifs> Acesso em :19 de novembro de 2013.

PELIZER, L. H; PONTIERI, M. H.; MORAES, I. O. Utilização de resíduos agro-industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **Journal of Technology Management e Innovation**, vol 2, 2007.

PEREIRA, G. I. S. et al. Avaliação química da folha de cenoura visando ao seu aproveitamento na alimentação humana. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, vol. 27, n. 4, agosto, 2003.

PESRISLIN, A. S., CASU, B. **The Polysaccharides**, ed. G. O. Aspinall, Academic Press, vol. 1, p.133, 1982.

PETKOWICK, C. L. O.; DALONSO, N. Guarana powder polysaccharides: Characterisation and evaluation of the antioxidant activity of a pectic fraction. **Food Chemistry**, vol. 134, p. 1804–1812, 2012

PIENIZ, S.; COLPO, E.; OLIVEIRA, V. R. de; ESTEFANEL, V.; ANDREAZA, R. Avaliação *in vitro* do potencial antioxidante de frutas e hortaliças. **Ciência e Agrotecnologia**, vol. 33, n. 2, p.552-559, março/abril, 2009.

PINHEIRO, E. R. **Pectina da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*): otimização da extração com ácido cítrico e caracterização físicoquímica**: UFSC, 2007.79 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007

PINHO, L. X. **Aproveitamento do resíduo do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale L.*) para alimentação humana**: UFC, 2009. 99 p, Dissertação - (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

PINTO, S. A. A. **Processamento mínimo de melão tipo Orange Flesh e de melancia ‘Crimson Sweet’**: UEP, 2002. 120 p. Dissertação - (Mestrado em Fitotecnia), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 2002.

PINTO, W. S.; DANTAS, A. C. V. L.; FONSECA, A. A. O.; LEDO, C. A.; JESUS, S. C.; CALAFANGE, L. P.; ANDRADE, E. M. Caracterização física, físico-química e química de frutos de genótipos de cajazeiras. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 38, p. 1059-1066, 2003.

POPOV, S. V.; OVODOVA, R. G.; GOLOVCHENKO, V. V.; POPOVA, G. Y.; VIATYASEV, F. V.; SHASHKOV, A. S.; OVODOV, Y. S. Chemical composition and anti-inflammatory activity of a pectic polysaccharide isolated from sweet pepper using a simulated gastric medium. **Food Chemistry**, vol. 124, p.309–315, 2011.

PRABASARI, I.; PETTOLINO, F.; LIAO, M. L.; BACIC, A. Pectic polysaccharides from mature orange (*Citrus sinensis*) fruit albedo cell walls: Sequential extraction and chemical characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 484-494, 2011.

RAMÍREZ-TRUQUE, C.; ESQUIVEL, P.; CARLE, R. Neutral sugar profile of cell wall polysaccharides of pitaya (*Hylocereus* sp.) fruits. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 1134-1138, 2011.

ROGÉRIO, M.C.P.; BORGES, I.; NEIVA, J.N.M.; PIMENTEL, J.C.M.; CARVALHO, F.C.; PONTE, T.R.; COSTA, J.B.; CATUNDA, A.G.V. Valor nutritivo do resíduo da indústria processadora de abacaxi (*Ananas comosus* L.) em dietas para ovinos. 1. Consumo, digestibilidade aparente e balanços energético e nitrogenado. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, vol. 59, n. 3, Junho 2007.

ROUT, S.; BANERJEE, R. Free radical scavenging, anti-glycation and tyrosinase inhibition properties of a polysaccharide fraction isolated from the rind from *Punica granatum*. **Bioresource Technology**, vol. 98, p.3159–3163, 2007.

RUFINO, M. S. M., RICARDO, E., ALVES, R. E., BRITO, E. S., JIMÉNEZ, J. P., CALIXTO, F. S. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p. 996–1002, 2010

RUSSO, V. C.; DAIUTO, É. R.; VIEITES, R. L. Fresh cut yellow melon (CAC) submitted to different type cuts and concentrations of calcium chloride stored under modified passive atmosphere. **Semina: Ciências Agrárias**, vol. 33, p. 227-236, 2012.

SACRAMENTO, C. K.; SOUZA, F. X. **Cajá** (*Spondias mombin* L.). Jaboticabal: Funep, 2000.

SAMAL, K. P.; JAWAHAR, S.D. Isolation, preliminary characterization and hepatoprotective activity of polysaccharides from *Tamarindus indica* L. **Carbohydrate Polymers**, vol. 102 p.1–7, 2014.

SANTOS, M. S.; PETKOWICZ, C. L. O.; HAMIÑUIK, C. W. I.; CÂNDIDO, L. M. B. Polissacarídeos Extraídos da Gabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg): Propriedades

Químicas e Perfil Reológico. **Polímeros**, vol. 20, p. 352-358, 2010.

SARZI, B.; DURIGAN, J. F.; JÚNIOR, O. D. R. Temperatura e tipo de preparo na conservação de produto minimamente processado de abacaxi-pérola. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, p. 376-378, 2002.

SCHOTT, H., REOLOGIA, IN: GENNARO, A. R., **Remington: Farmácia**, Buenos Aires, Panamericana, vol. 2, p. 461, 1992.

SEBRAE. Série **Perfil de Projetos: Unidade produtora de polpa de frutas**. Vitória (ES), dezembro, 2009. Disponível em: << <http://pt.scribd.com/doc/93975416/Unidade-Produtora-de-Polpa-de-Frutas>>>. Acesso em 04 de set. 2013.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Anal Biochem.**, vol. 25, p. 1192-1205, 1968.

SENA, R. F.; NUNES, M. L. Utilização de subprodutos agroindustriais no processamento de rações para carcinicultura. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, vol.7, p. 94-102, 2006.

SIERAKOWSKI, M.-R.; FREITAS, R. A.; FUJIMOTO, J.; PETRI, D. F. S. Adsorption behavior of oxidized galactomannans onto amino-terminated surfaces and their interaction with bovine serum albumin. **Carbohydrate Polymers** vol. 49, p. 167-175, 2002.

SILVA, M. L. C.; MARTINEZ, P. F.; IZELI, N. L.; SILVA, I. R.; VASCONCELOS, A. F. D.; CARDOSO, M. S. Caracterização química de glucanas fúngicas e suas aplicações biotecnológicas. **Quim. Nova**, vol. 29, p. 85-92, 2006.

SILVA, D. C.; FREITAS, A. L. P.; BARROS, F. C. N.; LINS, K. O. A. L.; ALVES, A. P. N. N.; ALENCAR, N. M. N.; FIGUEIREDO, I. S. T.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V.; FEITOSA, J. P. A.; MACIEL, J. S.; PAULA, R. C. M. Polysaccharide isolated from *Passiflora edulis*: Characterization and antitumor properties. **Carbohydrate Polymers**, vol. 87, p. 139-145, 2012.

SILVA, T. M.; SANTIAGO, P. O.; PURCENA, L. L. A.; FERNANDES, K. F. Study of the cashew gum polysaccharide for the horseradish peroxidase immobilization—Structural characteristics, stability and recovery. **Materials Science and Engineering C**. vol.30, p. 526–530, 2010.

SILVESTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**, Guanabara Koogan, 1994.

SIMAS-TOSIN, F. F.; ABUD, A. P. R.; OLIVEIRA, C.; GORIN, P. A. J.; SASSAKI, G. L.; BUCCHI, D. F.; IACOMINI, M. Polysaccharides from peach pulp: structure and effects on mouse peritoneal macrophages. **Food Chemistry**, vol. 134, p. 2257-2260, 2012.

SITTIKIYOTHIN, W.; TORRES, D.; GONÇALVES, M.P. Modelling the rheological

behavior of galactomannan aqueous solution. **Carbohydrate Polymers**. vol. 59, p. 339-350, 2005.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stress-ful conditions. **Journal of Botany**, vol. 26, 2012.

SOMERVILLE, C.; BAUER, S.; BRININSTOOL, G.; FACETTE, M.; HAMANN, T.; MILNE, J.; OSBORNE, E.; PAREDEZ, A.; PERSSON, S.; RAAB, T.; VORWERK, S.; YOUNGS, H. Toward a systems approach to understanding plant cell walls. **Science**, vol. 306, p. 2206–2211, 2004

SONG, H.; ZHANG, Q.; ZHANG, Z.; WANG, J. In vitro antioxidant activity of polysaccharides extracted from *Bryopsis plumosa*. **Carbohydrate Polymers**, vol. 80, p. 1057–1061, 2010.

SOUSA, E. B. S.; CARVALHO, F. W. A.; WANDERLEY, R. O. S.; SILVA, E. R.; ANDRADE, J. A. M.; WANDERLEY, P. A. Caracterização físico-química da Banana Prata (*Musa sapientum*) comercializada em quatro cidades do Sertão da Paraíba. *IV: CONGRESSO NORTE NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO – CONNEPI*, 6, Palmas-TO, **Anais...** Palmas: IFTO, 2012.

SOUSA, F. D.; MARTÍNEZ-ÁVILA, C. G.; MONTEIRO-MOREIRA, A. C. O.; AGUILAR, C. N. A.; MOREIRA, R. A. Perspectivas biotecnológicas de hemicelulosas vegetales. **Acta Química Mexicana**, vol. 2, n. 4, 2010

SOUSA, M. S. B. et al. Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. **Ciência e Agrotecnologia**, vol. 35, n. 3, 2011.

SOUZA, B. S.; DURIGAN, J. F.; DONADON, J. R.; SOUZA, P. S. Mangas minimamente processadas amadurecidas naturalmente ou com etileno e armazenadas em diferentes embalagens. **Revista Brasileira de Fruticultura**, vol. 28, n. 2, p. 271-275, 2006.

SOUZA, G. **Características físicas, químicas e sensoriais do fruto de cinco variedades de mamão (*Carica papaya L.*) cultivadas em Macaé, RJ**: UFRJ, 1998. 89 p. Dissertação (Mestrado), Campos dos Goytacases, 1998.

SRIKANTA, B. M., SATHISHA, U. V., DHARMESH, S. M. Alterations of matrix metalloproteinases, gastric mucin and prostaglandin E(2) levels by pectic polysaccharide of swallow root (*Decalepis hamiltonii*) during ulcer healing. **Biochimie**. vol. 92, p. 194-203, 2010.

STEPHEN, A. M.; PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A., eds.; **Food Polysaccharides and their applications**, ed. 2., CRC Press : Flórida, 2006, Cap 6 e 8.

SZABO, S. Mechanisms of gastric mucosal injury and protection, **J. Clin. Gastroenterol.** vol. 13, p. 21–34, 1991.

TISCHER, C. A.; GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M. The free reducing oligosaccharides of gun Arabic: aids for structural assignments in the polysaccharide. **Carbohydr. Polym.**, v. 47, p. 151-158, 2002.

THOMAS, L. H.; FORSYTH, V. T.; ŠTURCOVÁ, A.; KENNEDY, C. J.; MAY, R. P.; ALTANER, C. M.; APPERLEY, D.C.; WESS, T. J.; JARVIS, M. C. Structure of cellulose microfibrils in primary cell walls from collenchymas. **Plant Physiology**, vol.161, pp. 465–476, 2013.

TONG, H.; LIANG, Z.; WANG, G. Structural characterization and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the fruit of *Physalis alkekengi* L. **Carbohydrate Polymers**, vol.71, p.316-323, 2008.

TROMP R. H.; KRUIT C. G.; EIJK, M. V.; ROLIN, C. On the mechanism of stabilization of acidified milk drinks by pectin, **Food Hydrocolloids**, vol. 18, p.565, 2003.

TSIAPALI, E.; WHALEY, S.; KALBFLEISCH, J.; ENSLEY, H. E.; BROWDER, I. W.; WILLIAMS, D. L. Glucans exhibit weak antioxidant activity, but stimulate macrophage free radical activity. **Free Radical Biology and Medicine**, v.30, p.393-402, 2001.

TZIANABOS, O. A. Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: Structural aspects and biologic function. **Clinical Microbiology Reviews**, vol.13, n. 4, p. 523–533, 2000.

VANETTI, M. C. D. Controle microbiológico e higiene no processamento mínimo. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 2, 2000, Viçosa. **Palestras...** Viçosa: UFV, 2000. p. 44-52.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Oregon. OeB Books, 1982

VASCONCELOS, V.R., NEIVA, J.N.M, PIMENTEL, J.C.M. et al. Utilização de subprodutos do processamento de frutas na alimentação de caprinos e ovinos. *IN: SEMINÁRIO NORDESTINO DE PECUÁRIA – PECNORDESTE*, 6, Fortaleza-CE, **Anais...** Fortaleza: FAEC, 2002. p.83-99.

VENDRUSCOLO, C. W.; ANDREAZZA, I. F.; GANTER, J. L. M. S.; FERRERO, C.; BRESOLIN, T. M. B. Xanthan and galactomannan (from *M. scabrella*) matrix tablets for oral controlled delivery of theophylline. **International Journal Pharmaceutics**, vol. 296, n. 1. p. 1-11, maio 2005.

VIEIRA, P. A. F. et al. Caracterização química do resíduo do processamento agroindustrial da manga (*Mangifera Indica* L.) Var. Ubá. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, vol. 20, n. 4, p.617-623, 2009.

VIJAYANAND, P.; KULKARNI, S. G. Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis f. flavicarpa* L.). **LWT - Food Science and Technology**, v.43, p.1026–1031, 2010.

VILAS BOAS et al. **Manejo de Resíduos da Agroindústria**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001, 110 p.

VILAS BOAS, E. V. de B. Tecnologia de processamento mínimo de banana, mamão e kiwi. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE PÓS-COLHEITA E PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 2002, Brasília, DF. **Anais...** Brasília:EMBRAPA, 2002. p. 1-7.

VRIESMANN, L. C. Extração, caracterização e aspectos reológicos de polissacarídeos da polpa dos frutos de *Theobroma grandiflorum* (cupuaçu): UFPR, 2008. 118p. Dissertação – (Mestrado em Bioquímica), Faculdade de Ciências Bioquímicas, Universidade Federal do Paraná, 2008.

VRIESMANN, L. C.; PETKOWICZ, C. L. Polysaccharides from the pulp of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*): Structural characterization of a pectic fraction. **Carbohydrate Polymers**. vol.77, p.72–79, 2009.

VRIESMANN, L. C.; PETKOWICZ, C. L. O.; CARNEIRO, P. I. B.; COSTA, M. E.; BELESKI-CARNEIRO, E. Acidic Polysaccharides from *Psidium cAATleianum* (Araçá). **Brazilian Archives of Biology and Technology**. vol. 52 n. 2, p. 259-264,2009.

WANG, Y.; LIU, Y.; HU, Y. Optimization of polysaccharides extraction from *Trametes robiniophila* and its antioxidant activities. *Carbohydrate Polymers*, vol. 111, p. 324–332, 2014.

WANG, Q. J.; FANG, Y. Z. Analysis of sugars in traditional Chinese drugs. **Journal of Chromatography B.**, vol. 812, p. 309-324, 2004.

WANG, S. H.; FERNANDES, S. M.; CABRAL, L. C. Solubilidade de nitrogênio, dispersibilidade de proteína e propriedades emulsificantes dos extratos hidrossolúveis desidratados de arroz e soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 12-17, 2000.

WANG, S.; GE, Y.; DUAN, Y.; FANG, G.; , ZHANG, Y. Polysaccharides from fruit calyx of *Physalis alkekengi var. francheti*: Isolation, purification, structural features and antioxidant activities. **Carbohydrate Polymers**, vol.77, p.188–193, 2009.

WASSER, S. P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. **Applied Microbiology and Biotechnology**, vol. 60, p. 258–274, 2002.

WESTERENG, B., MICHAELSEN, T. E., SAMUELSEN, A. B., & KNUTSEN, S. H. Effects of extraction conditions on the chemical structure and biological activity of white cabbage pectin. **Carbohydrate Polymers**, vol.72, p.32–42, 2008.

WILLATS, W. G. T.; KNOX, P.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science & Technology**, vol. 17, p. 97-104, 2006.

WILLATS, W. G.; MCCARTNEY, L.; MACKIE, W.; KNOX, J. P. Pectin: cell biology and prospects for functional analysis. **Plant Mol. Biol.**, vol.47, p. 9–27, 2001.

WU, X. J.; HANSEN, C. Antioxidant capacity, phenol content, and polysaccharide content of *Lentinus edodes* grown in whey permeate-based submerged culture. **Journal of Food Science**, vol.73, p.1–8, 2008.

- XU, J.; LIU, W.; YAO, W. B.; PANG, X. B.; YIN, D. K.; GAO, X. D. Carboxymethylation of a polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum* enhances its antioxidant activities in vitro. **Carbohydrate Polymers**, 78, p.227-234, 2009.
- XU, P.; WU, J.; ZHANG, Y.; CHEN, H.; WANG, Y. Physicochemical characterization of puerh tea polysaccharides and their antioxidant and  $\alpha$ -glycosidase inhibition. **Journal of Functional Food.**, vol.6, p. 545-554, 2014
- XU, W. T.; ZHANG, F. F.; LUO, Y. B.; MA, L. Y.; KOU, X. H.; HUANG, K. L. Antioxidant activity of a water-soluble polysaccharide purified from *Pteridium aquilinum*. **Carbohydrate Research**, v. 44, p.217–222, 2009.
- XU, Y.; ZHANG, L.; BAILINA, Y.; GE, Z., DING, T.; YE, X., LIU, D. Effects of ultrasound and/or heating on the extraction of pectin from grape fruit peel. **Journal Food Engineering**, vol. 126, p.72-81, 2014.
- YAMADA, H.; HIRANO, M.; KIYOHARA, H. Partial structure of an anti-ulcer pectic polysaccharide from the roots of *Bupleurum falcatum* L. **Carbohydrate Research**, v. 219, p. 173-192, 1991.
- YANG, B.; JIANG, Y.; ZHAO, M.; SHI, J.; WANG, L. Effects of ultrasonic extraction on the physical and chemical properties of polysaccharides from longan fruit pericarp. **Polymer Degradation and Stability**, vol.93, p.268-272, 2008.
- YANG, B.; WANG, J.; ZHAO, M.; LIU, Y.; WANG, W.; JIANG, Y.. Identification of polysaccharides from pericarp tissues of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit in relation to their antioxidant activities. **Carbohydrate Research**, vol.341, p.634–638,2006.
- YANG, X.; WANG, R.; ZHANG, S.; ZHU, W.; JIN TANG, J.; LIU, J.; CHEN, P.; DONGMEI ZHANG, D.; WENCAI YE, W.; ZHENG, Y. Polysaccharides from *Panax japonicus* C.A. Meyer and their antioxidant activities. **Carbohydrate Polymers**, vol.101, p.386– 391, 2014.
- YANG, L. Q.; ZHANG, L. M. Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources. **Carbohydrate Polymers**, vol. 76, p. 349-361, 2009.
- YANG, Q.; HUANG, B.; LI, H.; ZHANG, C.; ZHANG, R.; HUANG, Y.; WANG, J. Gastroprotective activities of a polysaccharide from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus* in rats. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 50, p. 1224–1228, 2012.
- YANG, Z.; ZHENG, Y.; CAO, S. Effect of high oxygen atmosphere storage on quality, antioxidant enzymes, and DPPH-radical scavenging activity of Chinese bayberry fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 57, p. 176-181, 2009.
- YAPO, B. M. Pectic substances: from simple pectic polysaccharides to complex pectins - A new hypothetical model. **Carbohydrate Polymers**, vol. 86, n. 2, p. 373-385, 2011.

YAPO, B. M.; KOFFI, K. L. Yellow passion fruit rind a potential source of low-methoxyl pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2738-2744, 2006.

YAPO, B. M.; ROBERT, C.; ETIENNE, I.; WATHELET, B.; PAQUOT, M. Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. **Food Chemistry**, v.100, p.1356–1364, 2007.

YINHUA, W.; HUIFANG, W. Study on technology of extracting pectin from Kiwi fruit peel. **Food Science and Technology**, vol.1, p.85–86, 2003.

YUAN, J. F.; ZHANG, Z. Q.; FAN, Z. C.; YANG, J. X. Antioxidant effects and cytotoxicity of three purified polysaccharides from *Ligusticum chuanxiong* Hort. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, p.822-827, 2008.

ZENG, H.; ZHANG, Y.; ZHAO, Y.; TIAN, Y.; MIAO, S.; ZHENG, B. Extraction optimization, structure and antioxidant activities of *Fortunella margarita* Swingle polysaccharides. **International Journal of Biological Macromolecules** vol.74, p. 232–242, 2015.

ZHANG et al. Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure and rheological properties of apple pectin. **Ultrasonics Sonochemistry**, vol.20, p. 222–231, 2013.

ZHANG, M.; CUI, S. W.; CHEUNG, P. C. K.; WANG, Q. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, p. 4-19, 2007.

ZHANG, D.; HUA, D.; HUANG, B.; YI, P.; YAN, C. Structural characterization and DPPH· radical scavenging activity of apolysaccharide from Guara fruits. **Carbohydrate Polymers**. v. 103 p.143– 147, 2014

ZHANG, M.; ZHANG, L.; CHEUNG, P.C.K., OOI, V.E.C. Molecular weight and anti-tumor activity of the water-soluble polysaccharides isolated by hot water and ultrasonic treatment from the sclerotia and mycelia of *Pleurotus tuberregium*. **Carbohydrate Polymers**, vol. 56, p. 123–128, 2004.

ZHANG, M.; WANG, F.; LIU, R.; TANG, X.; ZHANG, Q.; ZHANG, Z. Effects of superfine grinding on physicochemical and antioxidant properties of *Lycium barbarum* polysaccharides. **Food Science and Technology**, vol. 58, p.594-601, 2014.

ZHAO, G.; KAN, J.; LI, Z.; CHEN, Z. Structural features and immunological activity of a polysaccharide from *Dioscorea opposita* Thunb roots. **Carbohydrate Polymers**, vol.61, p.125–131, 2005.

ZHONGHUI, Z.; XIAOWEI, Z.; FANG, F. Ganoderma lucidum polysaccharides supplementation attenuates exercise-induced oxidative stress in skeletal muscle of mice. **Saudi Journal of Biological Sciences**, vol. 21, p.119–123, 2014.

