

LUCIANE LAZARINI

POLISSACARÍDEOS DE
Mimusops coriacea
(A. de Candolle) Miquel (abricó)

Monografia realizada no Laboratório de Química de Carboidratos Vegetais, do Departamento de Bioquímica e entregue à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

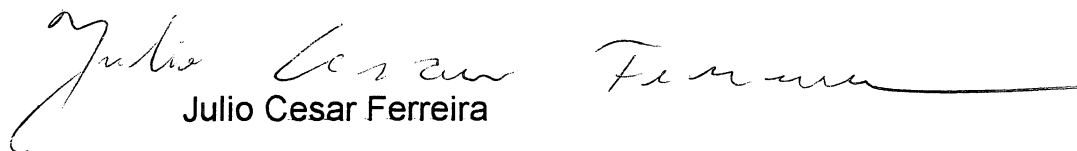
Curitiba
1998

“ POLISSACARÍDEOS DE *Mimusops coriacea* (A. de Candolle) Miquel (abricó)”

LUCIANE LAZARINI

Monografia aprovada como requisito final para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas, do curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela comissão formada pelos professores:


Dra. Joana Léa Meira Silveira Ganter – Orientadora


Julio Cesar Ferreira


Juliana Maurer Menestrina

Orientadora: Prof^a Dr^a Joana Léa Meira Silveira Ganter

“ A esperança adiada desfalece o coração,
mas o desejo atendido é árvore de vida.”

Provérbios 13:12.

Ao meu noivo Giovanni, com muito amor, o meu muito obrigada pelo estímulo, paciência, carinho e dedicação.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Joana Léa Meira Silveira Ganter, por sua amizade, carinho, incentivo e apoio.

À Prof^a Dr^a Fany Reicher por sua colaboração e incentivo.

À doutoranda Eliana Beleski Carneiro por seu incentivo, amizade, carinho e colaboração.

Aos meus amigos do Laboratório de Química de Carboidratos Vegetais: Ana Paula Busato, Angela Okasaki, Carmen Petkowicz, Eloisa Vizquete, Fabíola Iagher, Gisele Peressutti, Renato Bochicchio, Silvia Schaefer, Tânia Mora e Tânia Bresolin o meu muito obrigada por tudo, principalmente pelas suas amizades.

À amiga Juliana Martins pelo incentivo e amizade.

À amiga Vanessa Gomes Alves Borges, pelo incentivo e colaboração na realização de parte das extrações.

Ao César Tischer, pelas análises de g.l.c.-ms e ¹³C-NMR.

Aos professores do Departamento de Botânica, Alexandre Ulhman e Sandro Menezes Silva pela identificação do abricó.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para que esta monografia pudesse ser desenvolvida e concluída.

Ao CNPq pelo suporte financeiro.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	IX
LISTA DE FIGURAS.....	XII
SUMÁRIO.....	VII
RESUMO.....	XIII
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Carboidratos.....	6
1.2. Hemiceluloses.....	8
1.3. Xilanas.....	11
1.4. <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Condolle) Miquel.....	12
1.5. Classificação Botânica.....	14
2. OBJETIVOS	
2.1 Objetivo Geral.....	17
2.2 Objetivos Específicos.....	17
3. METODOLOGIA	
3.1.Obtenção dos frutos.....	18
3.2. Extrações Aquosas.....	19

3.3. Extrações Alcalinas.....	19
3.4. Hidrólise.....	20
3.5. Hidrólise de Saeman.....	21
3.6. Redução.....	21
3.7. Acetilação.....	22
3.8. Cromatografia Líquido-Gasosa (g.l.c.).....	23
3.9. Dosagem de açúcar total.....	23
3.10. Dosagem de proteína.....	24
3.11. Dosagem de ácido urônico.....	25
3.12. Oxidação com Metaperiodato de Sódio.....	26
3.13. Ressonância Magnética Nuclear de carbono 13.....	27
3.14. Metilação.....	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5. CONCLUSÃO.....	54
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela I. Componentes da parede celular (BRETT & WALDRON, 1990).....	7
Tabela II. Proporção em massa dos componentes dos frutos verdes e maduras de <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Condolle) Miquel (abricó).....	30
Tabela III. Rendimento das diferentes extrações de <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Condolle) Miquel (abricó) em relação aos tegumentos dos frutos verdes e maduros deslipidificados.....	32
Tabela IV. Composição monossacarídica das frações obtidas por extrações dos tegumentos dos frutos verdes e maduros de <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Condolle) Miquel (abricó)	33
Tabela V. Rendimento das diferentes extrações de <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Condolle) Miquel (abricó) em relação aos tegumentos das sementes verdes e maduras deslipidificadas.....	35
Tabela VI. Composição monossacarídica das frações obtidas por extrações dos tegumentos das sementes verdes e maduras de <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Condolle) Miquel (abricó).....	36

Tabela VII. Porcentagens de açúcar total, proteína e ácido urônico das hemi Al) dos tegumentos dos frutos e das sementes verdes e maduras de <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Condolle) Miquel (abricó).....	37
Tabela VIII. Análise dos produtos obtidos por Oxidação com Periodato de Sódio de frações de <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Condolle) Miquel (abricó).....	38
Tabela IX. Análise dos Derivados Metilados de <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Condolle) Miquel (abricó).....	39
Tabela X. Comparação dos δ (ppm) de ^{13}C -RMN das unidades de xilose obtida das frações de maior rendimento dos tegumentos.....	45
Tabela XI. Rendimento das diferentes extrações de <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Condolle) Miquel (abricó) em relação às polpas dos frutos verdes e maduros deslipidificados.....	47
Tabela XII. Composição monossacarídica das frações obtidas por extrações das polpas dos frutos verdes e maduros de <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Condolle) Miquel (abricó).....	48
Tabela XIII. Rendimento das diferentes extrações de <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Condolle) Miquel (abricó) em relação às amêndoas verdes e maduras deslipidificadas.....	49

Tabela XIV. Composição monossacarídica das frações obtidas por extrações das amêndoas verdes e maduras de <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Condolle) Miquel (abricó).....	50
Tabela XV. Porcentagens de açúcar total, proteína e ácido urônico das hemiceluloses da polpa dos frutos e das amêndoa das sementes verdes e maduras de <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Condolle) Miquel (abricó).....	52
Tabela XVI. Composição monossacarídica dos resíduos finais das extrações do abricó obtidos por Hidrólise de Seaman.....	53

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Árvore de <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Condolle) Miquel (abricó).....	15
Figura 2. Frutos e sementes verdes e maduros de <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Condolle) Miquel (abricó).....	16
Figura 3. Esquema de reações da oxidação com metaperiodato de sódio.....	27
Figura 4. Fluxograma de extrações de <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Condolle) Miquel (abricó).....	31
Figura 5. Espectro de RMN- ¹³ C da xilana obtida do tegumento do fruto maduro (hem Al) em D ₂ O.....	41
Figura 5. Espectro de RMN- ¹³ C da xilana obtida do tegumento do fruto verde (hem Al) em D ₂ O.....	42
Figura 6. Espectro de RMN- ¹³ C da xilana obtida do tegumento da semente madura (hem Al) em D ₂ O.....	43
Figura 7. Espectro de RMN- ¹³ C da xilana obtida do tegumento da semente verde (hem Al) em D ₂ O.....	44

RESUMO

A composição de polissacarídeos dos frutos verdes e maduros de *Mimusops coriacea* (A. de Candolle) Miquel foram investigadas. Esta espécie é comumente conhecida como abricó-da-praia, possui os frutos amarelos de polpa doce, farinhosa e sementes de testa duras e brilhantes. É encontrado principalmente em regiões litorâneas. As diferentes partes do fruto foram separadas, moídas e deslipidificadas em extrator Soxhlet (tolueno-etanol 2:1). O resíduo foi submetido a extrações seqüenciais com H₂O a 25°C e 60°C e com NaOH 2N e 4N. Dentre as extrações alcalinas dos tegumentos dos frutos maduros e verdes encontrou-se como amostras de maior rendimento as hem Al com 4,4g% e 13,4g%, respectivamente. As frações obtidas foram hidrolisadas, reduzidas, acetiladas e analisadas por cromatografia líquido-gasosa (g.l.c.). Nas frações extraídas com NaOH 2N (hem Al), para o tegumento das sementes verdes e maduras obteve-se como monossacarídeo predominante a xilose, nas proporções de 94% e 98%, respectivamente. No tegumento dos frutos verdes e maduros constatou-se que a xilose estava presente nas proporções de 90% e 96%, respectivamente. Estes polissacarídeos, foram submetidos à análise de metilação, oxidação com periodato de sódio e espectroscopia de ressonância nuclear magnética (¹³C-RMN). Foram caracterizados como xilanas com ligações glicosídicas do tipo β-(1→4) substituídas em O-2 por ácido urônico (8.0%). Na polpa dos frutos as extrações alcalinas (hem Al) apresentaram rendimentos superiores para as frações verdes em relação às maduras, contendo 45% de açúcar e 6% de proteína. Apresentam altas porcentagens de xilose (68%) além de arabinose, galactose e glucose. Nas amêndoas verdes as extrações aquosas e alcalinas apresentam maior rendimento em comparação com as amêndoas maduras. Entretanto, a composição monossacarídica de ambas é semelhante, apresentando predominância para a xilose e a glucose. Galactose e arabinose também encontram-se presentes, porém em menor percentagem. Dentre todas as partes do fruto analisadas, verificou-se que a diferença nas condições de maturação só foi evidenciada nas amêndoas. Provavelmente devido às condições metabólicas de biossíntese do embrião.

1. INTRODUÇÃO

A flora brasileira é considerada, dentre as vegetações mundiais, uma das mais importantes, tanto em termos de diversidade, como também em quantidade, contribuindo desta forma como uma grande fonte econômica, com aplicabilidade comercial, ornamental, ecológica e medicinal.

Dentre todas as espécies nativas e cultivadas decorrentes no Brasil, encontram-se algumas plantas cujas sementes são ricas em óleos, polissacarídeos e proteínas (FIGUEIREDO, 1986).

As plantas apresentam frutos para auxiliar na disseminação das sementes. Os frutos são originados a partir do desenvolvimento de um ovário, após a fecundação do (s) óvulo (s). O amadurecimento dos frutos envolve numerosas transformações. Em frutos carnosos, a clorofila é degradada e outros pigmentos podem formar-se, alterando assim a coloração dos frutos. Simultaneamente, a parte carnosa do fruto amolece como resultado da digestão enzimática da pectina, o principal componente da lamela média da parede celular. Durante este mesmo período, amido, ácidos orgânicos e óleos, como no caso do abacate (*Persea americana*), são metabolizados em açúcares. Como consequência destas transformações, os frutos tornam-se visíveis e saborosos (RAVEN *et al.*, 1996).

Uma das mais importantes inovações que aparecem durante a evolução das plantas vasculares foi a semente. As sementes parecem ser um dos fatores responsáveis pela dominação das espermatófitas (plantas com

sementes) na flora atual. A razão é simples: a semente tem capacidade de sobrevivência. Nos estágios críticos da germinação e do estabelecimento, a semente protege o embrião e o alimento disponível ao embrião, fazendo com que as plantas com sementes tenham uma maior vantagem seletiva sobre os grupos ancestrais portadores de esporos (RAVEN *et al.*, 1996).

Muitos aspectos do crescimento e desenvolvimento das plantas dependem de modificações na estrutura da parede celular (FOSKET, 1994). A parede celular é composta basicamente por complexos ligno-celulósicos, constituídos por celulose, hemicelulose e lignina (ESAU, 1976). As sementes são resultantes de profundas modificações processadas no rudimento seminal, após a ocorrência da fecundação (CUTTER, 1986). São constituídas por um tegumento que envolve o embrião, possuindo cotilédones e endosperma. No entanto as plantas com sementes podem possuir um ou dois cotilédones e apresentar ou não o endosperma (AGAREZ, 1994).

Uma característica marcante das sementes é a propriedade de permanecerem em estado de dormência com um mínimo de atividade metabólica, podendo crescer e se desenvolver de acordo com as condições ambientais (BEWLEY & BLACK, 1978).

LABOURIAU (1983) cita que na América Latina, existe uma vasta fonte de problemas sobre a germinação de sementes, assunto este que se encontra muito pouco explorado. As informações sobre a germinação de sementes, principalmente de espécies tropicais, será imprescindível a qualquer iniciativa de melhoramento genético dessas espécies.

As sementes possuem três tipos básicos de tecidos: um meristemático, que em condições propícias para a germinação vai crescer e dar origem à planta; um de reserva e finalmente o de proteção mecânica, que se constitui no envoltório da semente, ou seja, a casca (tegumento) (CARCHON & BRUYNE, 1975).

Algumas sementes caracterizam-se por possuírem uma casca que pode afetar a dormência das sementes e oferecer resistência mecânica ao crescimento da radícula. Esta casca pode estar constituída apenas pelo tegumento ou também pelo pericarpo. O tegumento é formado por camadas celulares originárias nos tegumentos do óvulo, enquanto o pericarpo é originário da parede do ovário (BEWLEY & BLACK, 1978). Acredita-se portanto, que esta camada externa da semente pode constituir uma barreira física impedindo o acesso do oxigênio ao embrião (CARVALHO, 1994).

Em muitas plantas, as reservas alimentares não estão no próprio embrião, mas particularmente nos tecidos adjacentes, como o endosperma (FOSKET, 1994). O endosperma, encontrado em quantidade variável nas sementes, é resultado da fusão dos núcleos polares com um dos núcleos reprodutivos do grão de pólen (CARVALHO & NAKAGAWA, 1980). Possui função de reserva durante a germinação e para a nutrição do embrião. Age também como um tecido de absorção de água para a semente, prevenindo contra a sua perda no período de seca, o que poderia causar a desnaturação das proteínas, e em particular das enzimas essenciais para a germinação (REID, 1985).

Em plantas dicotômicas, os cotilédones são os órgãos de armazenagem, não armazenando apenas proteínas, mas também óleos e amido (FOSKET, 1994).

Os metabólitos secundários são muito importantes na evolução das angiospermas. Estes produtos não são mais considerados resíduos metabólicos e incluem uma gama de compostos químicos, como alcalóides, óleos essenciais, glicosídeos, flavonóides e até mesmo ráfides (cristais aciculares de oxalato de cálcio). A presença de alguns destes compostos pode caracterizar famílias inteiras, ou grupos de famílias de angiospermas. Na natureza, estas substâncias parecem ter um papel importante, seja restringindo a palatabilidade das plantas nas quais ocorrem, ou fazendo com que animais evitem estas plantas. (RAVEN et al, 1996).

Em todas as angiospermas estudadas, a quantidade de aminoácidos consumida pela semente em desenvolvimento excede muito a quantidade exportada dos respectivos frutos, o que evidencia que nesta fase, a semente drena aminoácidos de toda a planta. O caráter fortemente heterotrófico da semente imatura também se demonstra e se estuda através da chamada "germinação precoce", isto é, da germinação de sementes isoladas antes do seu amadurecimento e postas em meio apropriado (KLEIN & POLLOCK, 1968).

Sementes maduras contêm substâncias de reserva em quantidades apreciáveis que são geralmente sintetizadas, concomitantemente, durante o seu processo de desenvolvimento (BEWLEY & BLACK, 1986). Considerando-

se os constituintes metabólicos, o tecido de reserva é constituído principalmente por três substâncias: carboidratos, lipídeos e proteínas. A quantidade com que cada uma destas substâncias entra na composição da semente é variável, dependendo principalmente da espécie. Normalmente, uma destas três substâncias predomina sobre as outras, resultando em sementes amiláceas, oleaginosas ou protéicas (CARVALHO, 1980).

A estrutura da semente também é considerada de grande importância na Taxonomia. Por meio de várias características, muitas sementes de importância econômica podem ser identificadas até o nível de espécie (CORRÊA, 1984).

Estas sementes também podem fornecer vários produtos para fins econômicos. Como exemplo de fonte de carboidratos temos o amido, um polissacarídeo utilizado como fonte energética, presente em grãos de cereais, em sementes e frutas. Outros biopolímeros são utilizados como ingredientes funcionais no processamento de alimentos, sendo chamados de hidrocolóides, que não são metabolizados na forma de energia, desempenhando um papel importante como fibras dietéticas, dentre elas as xiloglucanas e as galactomananas (COLLINS *et al.*, 1995).

1.1. Carboidratos

Os carboidratos são as moléculas orgânicas mais abundantes na natureza, possuindo uma ampla faixa de funções, incluindo o fornecimento de energia na dieta da maioria dos organismos, depósito de energia no corpo e a atuação como componentes da membrana celular (CHAMPE & HARVEY, 1997). São constituídos de compostos aldeídicos ou cetônicos com múltiplas hidroxilas, devido a suas múltiplas funções em todas as formas de vida (STRYER, 1992). Possuem como unidades monoméricas os monossacarídeos (aldoses e cetoses), e a associação destes por ligações glicosídicas dará origem aos oligossacarídeos e polissacarídeos (CHAMPE & HARVEY, 1997).

Os polissacarídeos são constituídos por centenas de monossacarídeos e incluem os homopolissacarídeos, constituem-se de uma única espécie de monossacarídeo, e os heteropolissacarídeos que contém uma série de espécies diferentes de monossacarídeos (CHAMPE & HARVEY, 1997).

Dentre estes polissacarídeos destacam-se os de origem vegetal (YALPANI, 1987). A forma da parede celular das plantas é determinada pela celulose (Tabela I). Este carboidrato forma um esqueleto interpenetrado pela matriz, constituída por polissacarídeos não celulósicos como hemiceluloses e substâncias pécticas (ESAU, 1976).

Atenções especiais tem sido voltadas para a análise metabólica de polissacarídeos pécticos durante o amadurecimento de frutos, germinação de sementes e alongamento de tecidos do caule. Durante o armazenamento de tecidos suculentos, a xilose pode associar-se a polissacarídeos pécticos

constituindo uma xilana-péctica ou complexos xilana-xiloglucana-péctica, nas quais ocorrem transformações decorrentes do metabolismo da parede celular (WALDRON & SELVENDRAN, 1992).

Tabela I. Componentes da parede celular (BRETT & WALDRON, 1990)

PARTES DA PAREDE CELULAR		COMPONENTES
MICROFIBRILAS	celulose	
MATRIZ	pectinas	ramnogalacturonana I arabinana galactana arabinogalactana I homogalacturonana ramnogalacturonana II
	hemiceluloses	xilana glucomanana manana manana galactomanana glucuromanana xiloglucana calose glucanas β -(1→3) e β -(1→3) arabinogalactana II
	proteínas	extensina arabinogalactana - proteína outras
	fenólicos	lignina ácido ferulico outros

1.2. Hemiceluloses

O termo hemiceluloses designa polissacarídeos de baixa massa molecular, com pouco mais de 100 unidades de açúcar e que ocorrem em tecidos de plantas, em geral associados à celulose, especialmente em tecidos lignificados e, que podem ser isolados do material original ou deslignificado por extrações com soluções alcalinas (ASPINALL, 1959; WHISTLER & FEATHER, 1965).

Hemiceluloses e celulosas são as mais abundantes matérias orgânicas renováveis do mundo. Estão presentes em plantas terrestres em quantidades consideráveis. As plantas vivas apresentam cerca de 6×10^{11} toneladas de hemiceluloses e cerca de 3×10^{10} toneladas são fotossintetizadas anualmente por plantas terrestres superiores, constituindo um terço do seu peso seco (com exceção dos frutos, sementes e tubérculos) (WILKIE, 1983).

As hemiceluloses estabelecem importantes ligações cruzadas entre os biopolímeros celulósicos e não celulósicos (STEPHEN, 1982).

As hemiceluloses e o amido são as maiores formas de reserva de carboidratos de muitas sementes, particularmente no endosperma das leguminosas (BEWLEY & BLACK, 1986). Possuem um grande poder hidratante, isto é, devido a ausência de cristalinidade, baixa massa molecular e configuração estrutural irregular, as hemiceluloses absorvem água mais facilmente ao comparar-se com celulosas (WILKIE, 1983).

As principais unidades monossacarídicas que constituem as

hemiceluloses em plantas terrestres são: D-xilose, D-manose, D-galactose, L-arabinose, ácidos urônicos e seus metil éster derivados e em menor quantidade L-ramnose (6-deoxy-manose) e L-fucose (6-deoxy-galactose). A composição e a proporção destes constituintes variam dentro do mesmo vegetal com o estágio de desenvolvimento e com as várias partes morfológicas (TIMELL, 1964).

Em função de sua composição em monossacarídeos predominantes, as hemiceluloses são classificadas como xilanas, mananas e galactanas. Como uma grande parte das hemiceluloses apresentam-se constituídas por dois ou mais açúcares, esta designação é utilizada para denominar os polímeros contendo como principal componente a xilose, manose e galactose, respectivamente (ASPINALL, 1954).

Em geral, as hemiceluloses ligam-se à lignina, cuja propriedade física é a rigidez, que confere resistência mecânica aos tecidos vegetais e impede o colapso do sistema vascular das plantas (FENGEL *et al.*, 1989). São depositadas simultaneamente com a celulose durante a biogênese da parede celular e com as mudanças na matriz hemicelulósica no curso do desenvolvimento (ATALLA, 1993). Podem ser classificadas como fibrosas, compactas ou cristalinas, onde podem assumir funções estruturais, ou como gel compacto nas paredes celulares em crescimento, com importantes funções biológicas (MORRAL, 1978).

A natureza química destas hemiceluloses varia de um tecido para outro e de uma espécie para outra (YOUNG & RONELL, 1986), podendo ser

classificadas em: 1) cadeias principais lineares com ligação do tipo (1→4), como exemplo tem-se as xilanas e as mananas; 2) cadeias ramificadas na posição (1→4) como as xiloglucanas e as galactoglucomananas; 3) cadeias com ligação do tipo (1→3); 4) cadeias de pectina, constituídas por unidades de ácido galacturônico intercaladas por unidades ramnose, denominadas de ácido poli-ramnogalacturônico.

As hemiceluloses podem afetar a moagem de grãos de cereais e as propriedades reológicas de qualquer substância em estado pastoso, e seu comportamento durante o cozimento (WILKIE, 1983).

Entre os múltiplos usos das hemiceluloses, pode-se destacar o fato de poder modificar as propriedades da água, para a estabilização da espuma, gelação, lubrificação e emulsificação de óleo em água. Podem desenvolver também o papel de gomas naturais, sintéticas e mucilagens. Além disso, podem influenciar no malte, na fabricação de cerveja e no processamento de alimentos, podendo atuar no controle de qualidade e na textura dos produtos comercializados (WILKIE, 1983).

No Laboratório de Química de Carboidratos Vegetais, do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Paraná, estudos foram e vem sendo realizados visando determinar a estrutura e as propriedades de polissacarídeos de espécies vegetais. Algumas destas pesquisas envolvem análises estruturais de diversas hemiceluloses de espécies vegetais, tais como *Mimosa scabrella* (bracatinga) (CORRÊA, 1978; DOROSO, 1980; GOMES, 1975; REICHER, 1984; ZERMINIANI, 1980); *Chorisia speciosa*

(CARNEIRO, 1994); *Schizolobium parahybum* (DEVINCENZI, 1985); *Coffea arabica* (WENZEL, 1976); entre outros.

1.3. Xilanas

As xilanas são polissacarídeos hemicelulósicos encontrados na maioria das plantas terrestres e em algumas plantas marinhas. São universalmente encontradas em angiospermas e em gimnospermas em menor quantidade, sendo importantes constituintes das hemiceluloses de madeira (WHISTLER, 1950).

O termo xilanas é usado para denominar polissacarídeos contendo uma cadeia principal de unidades de D-xilose. Vários polissacarídeos deste grupo apresentam variações quanto à natureza e número das unidades de açúcares presentes, bem como o seu modo de ligação à cadeia principal da molécula (ASPINALL, 1959). São polissacarídeos hemicelulósicos que apresentam propriedades gerais de insolubilidade em água e solubilidade em soluções alcalinas (WHISTLER, 1950).

As xilanas de cereais e gramíneas foram amplamente estudadas e constatou-se que são heteroglicanas geralmente caracterizadas pela presença de unidades de L-arabinofuranose ligadas como cadeia lateral simples, usualmente na posição 3 da D-xilose, mas em muitos casos, unidades de

ácido glucurônico e de ácido 4-O-metil-glucurônico, ou ambos, estão também presentes em menores proporções (ASPINALL, 1959).

Isolou-se das hemiceluloses presentes em sabugo de milho (WHISTLER & LAUTERBACH, 1958), complexos polissacarídeos, que apresentam grande variedade de cadeias laterais. Entretanto, após a clivagem das cadeias laterais mais lábeis, observou-se uma estrutura básica típica de xilanas, composta por unidades de β -D-xilose, à qual se ligam cadeias simples de ácidos D-glucurônicos.

A estrutura geral das xilanas, em plantas superiores, compreende uma cadeia principal com unidades de D-xilopiranoses unidas por ligações β -(1 \rightarrow 4). Xilanas típicas de gimnospermas contém maiores proporções de unidades de ácido 4-O-metil-D-glucurônico (15 a 20%) e, várias cadeias laterais de L-arabinofuranose. As xilanas típicas de angiospermas contém menos unidades de ácido 4-O-metil-D-glucurônico (8 a 15%), as quais estão distribuídas aleatoriamente ao longo da cadeias principal e raramente possuem unidades de L-arabinose (ASPINALL, 1959; NORTHCOTE, 1972).

1.4. *Mimusops coriacea* (A. de Candolle) Miquel

Dentre todas as características dos polissacarídeos expostas, propõe-se investigar aqueles presentes nas sementes e nos frutos do *Mimusops coriacea* (A. de Candolle) Miquel (PENNINGTON. 1990). uma espécie

exótica conhecida como abricó. Comumente encontrado no litoral brasileiro, o abricó possui frutos amarelos de polpa doce, farinhosa e sementes de testa dura e brilhante (JOLY, 1993).

Na Martinica (Antilhas – América Central), prepara-se a popular “água dos Creoulos” , que é feita com a água destilada das flores da árvore. Com os ramos pisados, depois que estes fermentam, se fabrica uma bebida geralmente apreciada e de uso muito difundido nas Antilhas. O abricoteiro é uma planta que se encontra em vários estados do Brasil. Emprega-se este vegetal nas picadas de insetos e para expelir os vermes intestinais. Usa-se igualmente contra as feridas comuns e úlceras (CRUZ, 1965).

Existem vários nomes comuns para denominar o abricó. Pode ser chamado por: Abricote, Abricó-do-Pará, Abricó de São Domingos, Abricó Selvagem (CRUZ, 1965), Abricó-do-Mato (LUETZELBURG, 1923).

A *Mimusops coriacea* pertence à família Sapotaceae, que compreende cerca de 50 gêneros de ampla distribuição nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo. No Brasil, a família é representada por cerca de 12 gêneros e 103 espécies (BARROSO, 1978). Geralmente são árvores inteiras contendo flores pequenas não vistosas, hermafroditas, cíclicas, diclamídeas e com o fruto carnoso (PENNINGTON, 1990).

Em levantamento bibliográfico realizado na Biblioteca do Setor de Ciências Biológicas, procurando-se entre os anos de 1972 a agosto de 1998, não se encontrou nenhum assunto relacionado à espécie em questão. Apenas

alguns estudos foram realizados com outra espécie, o *Mimusops elengi*, onde se encontraram algumas saponinas diferenciadas (SAHU, 1996).

1.5. Classificação Botânica

Posição Sistemática segundo CRONQUIST, 1988

Divisão: Magnoliophyta (Angiospermae)

Classe: Magnoliopsida (Dicotyledonae)

Subclasse: Dilleniidae

Ordem: Ebenales

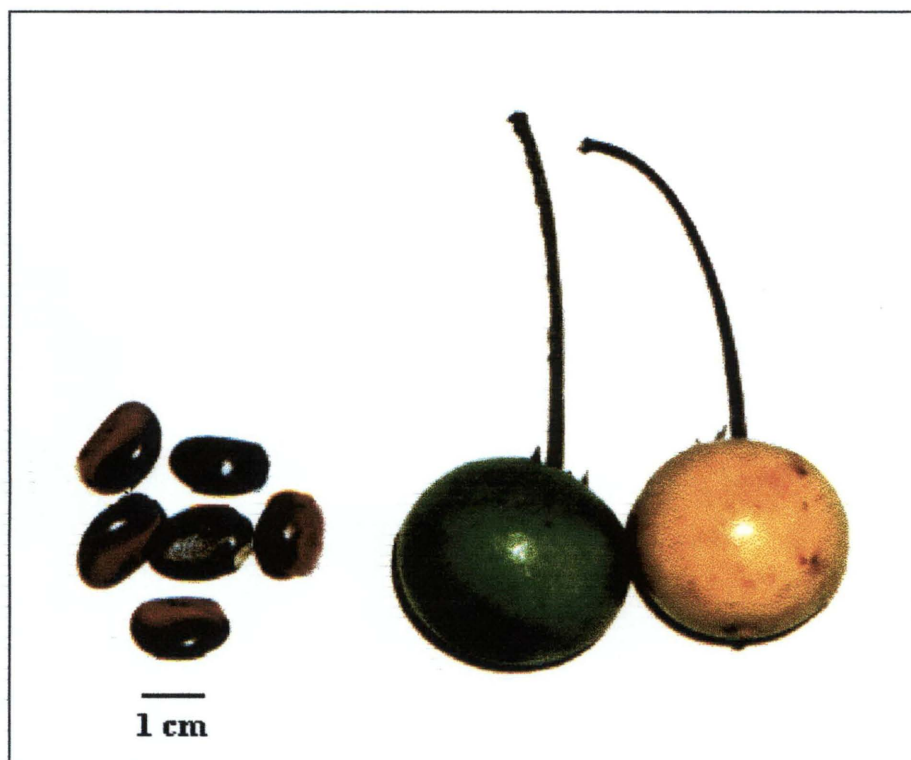
Família: Sapotaceae

Espécie: *Mimusops coriacea* (A. de Candolle) Miquel

Figura 1: Árvore de *Mimusops coriacea* (A. de Condolle) Miquel (abricó)



Figura 2: Frutos e sementes verdes e maduros de *Mimusops coriacea* (A. de Condolle) Miquel (abricó).



2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

- Analisar comparativamente a composição em carboidratos dos frutos de *Mimusops coriacea* em diferentes fases de maturação

2.2. Objetivos Específicos

- Extrair os polissacarídeos da casca e da amêndoa das sementes, casca e polpa dos frutos de *Mimusops coriacea* verde e maduro.
- Determinar os rendimentos e analisar a composição monossacarídica nas diferentes frações obtidas.
- Realizar a análise estrutural do polissacarídeo de maior rendimento.

3. METODOLOGIA

3.1. Obtenção dos frutos

Os frutos de *Mimusops coriacea* foram coletados na praia de Ubatuba, litoral do Estado de São Paulo em janeiro de 1996, e na praia de Matinhos, litoral do Estado do Paraná em fevereiro de 1998.

Coletou-se juntamente com os frutos, exemplares de folhas e flores, que foram levados ao Departamento de Botânica da UFPR, para sua identificação botânica.

Após coletar-se frutos tanto verdes quanto maduros, estes foram descascados. A polpa do fruto foi separada manualmente das sementes. As sementes foram quebradas com um martelo onde separou-se o tegumento (externo) da amêndoa (interna). No final, obteve-se de um fruto, quatro diferentes tipos de materiais: tegumento e polpa do fruto, tegumento e amêndoa da semente.

Após separados os materiais foram colocados para secar a temperatura ambiente, moídos separadamente em moinho Willey e submetidas a extração em extrator tipo Soxhlet, em solução de Tolueno-Etanol (2:1).

3.2. Extrações aquosas

Após a deslipidificação, o material foi levado à capela para a evaporação do solvente. A 1ª extração foi então realizada em meio aquoso, a 25° C, com 200 ml de água destilada em agitador magnético por 24 horas. Após esse período o material foi filtrado, resultando um FILTRADO I e um RESÍDUO I. O filtrado I foi centrifugado, concentrado em rotaevaporador e precipitado com etanol e levado à 4°C por 12 a 18 horas. Em seguida a solução foi centrifugada. O sobrenadante etanólico foi desprezado e o resíduo lavado 3 vezes com etanol 95%. Após centrifugado, o material foi colocado para secar na estufa à vácuo.

Este processo foi repetido por mais 2 vezes, obtendo-se os resíduos II e III, sendo que o III foi obtido a partir de extração aquosa a 60°C.

3.3. Extrações alcalinas (WHISTLER & FEATHER, 1965)

O resíduo III foi submetido a extração alcalina com NaOH 2N. Adicionou-se a este resíduo 50 ml de NaOH 2N e aproximadamente 10 mg de boridreto de sódio, e deixou-se em agitação por 24 horas. A solução foi então filtrada e obteve-se um RESÍDUO IV e um FILTRADO IV. A este filtrado foi adicionado ácido acético até um pH de aproximadamente 5. Após permanecer a 4°C, por aproximadamente 18 horas, esta solução foi centrifugada, o resíduo foi lavado com etanol, resultando a hemicelulose A (hem AI). O filtrado IV foi

colocado para dialisar (em água corrente) por 24 horas. Após a diálise, concentrou-se a solução em rotaevaporador e em seguida foi precipitada com etanol, centrifugada e o resíduo originou a hemicelulose B (hem BI). O resíduo IV foi submetido a uma extração com NaOH 4N, seguindo o mesmo procedimento da extração com NaOH 2N, obtendo-se hem AII e BII.

Durante a extração alcalina podem ocorrer transformações químicas nas hemiceluloses (ASPINALL, 1959; MORRINSON, 1974), tais como: a) desesterificação de polissacarídeos parcialmente acetilados; b) degradação alcalina iniciada pela extremidade redutora da cadeia, reação de poda; c) hidrólise alcalina de ligações glicosídicas. Visando minimizar estas alterações, as extrações alcalinas foram realizadas em temperatura ambiente, com a adição prévia de uma pequena quantidade de NaBH₄ para reduzir a extremidade da cadeia polimérica.

3.4. Hidrólise (ADAMS, 1965)

As amostras foram hidrolisadas por hidrólise ácida total. Cerca de 10 mg de amostra de cada fração foram colocadas, separadamente, em tubos de hidrólise. Acrescentou-se a cada amostra 1 ml de água destilada e 1 ml de solução de TFA 2N. Os tubos foram fechados e colocados em banho aquecido (100°C), por 5 horas. Após as 5 horas os tubos foram retirados do banho. O conteúdo de cada tubo foi colocado em um vidro de relógio, separadamente, e permaneceram na capela até secarem completamente.

3.5. Hidrólise de Saeman (SAEMAN et al, 1963)

Esta hidrólise foi realizada com os resíduos finais das extrações de todas as partes do abricó estudadas.

Realizou-se uma pré-hidrólise pesando-se 10 mg da amostra que foram transferidas para um tubo de hidrólise. Adicionou-se ao tubo 0,5 ml de ácido sulfúrico 72%. As amostras foram agitadas e colocadas em banho de gelo sucessivamente durante uma hora. Para a hidrólise, adicionou-se 6,7 ml de água destilada aos tubos, que foram fechados e levados em banho a 100°C por 5 horas. Após a hidrólise, as amostras foram neutralizadas com carbonato de bário e filtradas em algodão, reduzidas, acetiladas e analisadas em g.l.c.

3.6. Redução (WOLFROM & THOMPSON, 1963)

As frações submetidas à hidrólise ácida total foram submetidas à secura e ressuspensas em H₂O e adicionado boroidreto de sódio (NaBH₄), para a redução dos grupamentos, por um período de duas horas.

Depois da redução, adicionou-se Resina Catiônica (LEWATTIT, forma H⁺), para a remoção dos íons sódio (Na⁺) e neutralização dos extratos. Retirou-se, então, a resina através de filtração com algodão, este extrato filtrado foi evaporado à secura em rotaevaporador (à 40°C). Em seguida adicionou-se metanol e evaporado até a secura novamente, repetindo-se este processo por três vezes. O metanol foi adicionado ao sistema para a formação

de tetraborato de metila, que é volátil na temperatura de evaporação. Desta forma, os monossacarídeos, antes constituídos pelo grupo funcional aldeído, passaram a configurar-se como álcool, pela adição de dois átomos de hidrogênio à ponta das moléculas passando, a partir daí, a forma de alditóis.

BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS / UFPA

3.7. Acetilação (WOLFROM, 1963)

Foram acrescentados aos alditóis, 1 ml de anidrido acético e 1 ml de piridina, em capela, dentro de tubos com rosca, permanecendo 12 a 18 horas à temperatura ambiente. A piridina atua clivando as moléculas de anidrido acético, que então irá acetilar o polissacarídeo. Nesta fase não pode haver a presença de água, pois poderá se formar ácido acético e a acetilação não ocorrerá.

O processo foi interrompido com a adição de gelo moído ao sistema. Os acetatos de alditóis foram extraídos com clorofórmio. A fase clorofórmica foi submetida a sucessivos tratamentos com solução aquosa de sulfato de cobre (CuSO_4) 5%, a fim de remover a piridina residual. Lavagens da fração clorofórmica com água destilada foram efetuadas, para eliminação total do cobre remanescente.

A fase clorofórmica foi retirada cuidadosamente com pipeta. A seguir, os tubos foram deixados em capela para evaporação do clorofórmio.

Depois disso, as amostras já se encontravam prontas para análise em g.l.c. (cromatografia líquido-gasosa).

3.8. Cromatografia Líquido-Gasosa (g.l.c.)

A análise dos alditóis acetato foi realizada usando-se um cromatógrafo a gás modelo Hewlett Packard 5890 Series II, com detector de ionização de chama (FID), utilizando-se nitrogênio como gás de arraste, com fluxo de 2,0 ml/min, a 220°C sendo que a temperatura do detector e do injetor de 250°C. O aparelho estava equipado com coluna capilar (0,25 mm di x 30m), modelo DB-210, com espessura de filme de 0,25 μ m.

3.9. Dosagem de açúcar total (DUBOIS *et al.*, 1956)

O método do fenol-sulfúrico foi utilizado para a determinação da concentração e detecção de carboidrato total. O método consiste na formação do derivado furfural, na presença de ácido sulfúrico concentrado, que reage com o fenol formando um complexo de cor amarela.

A amostra contendo 100 μ g/ml foi pipetada para tubos de ensaio, em um volume de 0,5 ml adicionando-se posteriormente 0,5 ml de fenol 5% e 2,5 ml de ácido sulfúrico concentrado, a solução foi agitada. A leitura foi realizada após 30 minutos do início da reação, em espectrofotômetro Spectronic 20 Genesys em absorvância de 490 nm.

A absorvância encontrada foi comparada com uma curva padrão realizada com concentrações conhecidas, variando de 20 a 100 μ g/ml, do

monossacarídeo predominante na amostra. A sensibilidade do método varia de 1 a 100 $\mu\text{g}/\text{m}$.

3.10. Dosagem de proteína (BRADFORD, 1976)

Esta dosagem foi utilizada para determinar a quantidade de proteína presente nas amostras. O princípio do método se baseia na ligação do corante (Coomassie Brilliant Blue G-250) com a proteína, formando um complexo de cor azul.

Para a realização do método, utilizou-se o protocolo original, conforme descrito:

Solução estoque: 100 mg de Coomassie Blue G-250 foram dissolvidos em 5 ml de etanol 95 %; adicionou-se a esta solução 10 ml de ácido fosfórico a 85 % e água destilada até um volume de 100ml.

Solução de uso: realizou-se uma diluição (1:4 v/v) da solução estoque em água, seguida de uma filtração com papel de filtro.

Procedimento: um volume de 0,1 ml da amostra, em concentração de 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, foi pipetado para os tubos de ensaio, adicionando-se 1 ml de reagente (solução de uso)

A leitura foi realizada em espectrofotômetro U-2001Hitachi em absorvância de 595 nm, num período de 2 a 20 minutos após o início da reação. Os cálculos de concentração foram feitos através de curva de calibração com albumina, proteína de soro bovino (BSA), em faixas de

concentração que variam de acordo com o teor protéico estimado nas amostras a serem dosadas.

3.11. Dosagem de ácido urônico

O método descrito por BLUMENKRANTZ & ASBOE-HANSEN (1973) foi empregado para a determinação quantitativa de ácidos urônicos. As amostras (0,4 ml) foram colocadas em um tubo de ensaio, dentro de uma bacia com gelo, onde adicionou-se aos tubos 2,4 ml de solução de H₂SO₄ / tetraborato de sódio. Esta mistura foi agitada em Vortex e aquecida em banho-maria a 100°C por 5 minutos. Após os cinco minutos, as amostras foram retiradas do banho quente e colocadas novamente em banho com gelo, até que atingissem aproximadamente a temperatura ambiente, quando então foram adicionados 40 µl de m-hidroxi-bifenil e as amostras foram novamente agitadas em Vortex. Para cada amostra fez-se um branco, pois alguns polissacarídeos possuem uma cor após reagirem com o ácido. Este branco foi realizado do mesmo modo que as demais amostras, apenas sem a adição do m-hidroxi-bifenil. Após 5 minutos todas as amostras foram analisadas em espectrofotômetro Spectronic 20 Genesys em absorvância de 520 nm.

Para a comparação das amostras, realizou-se uma curva padrão de ácido glucurônico em concentrações de 20, 40, 60, 80 e 100 µg/ml, que foram preparadas da mesma forma que as amostras acima citadas.

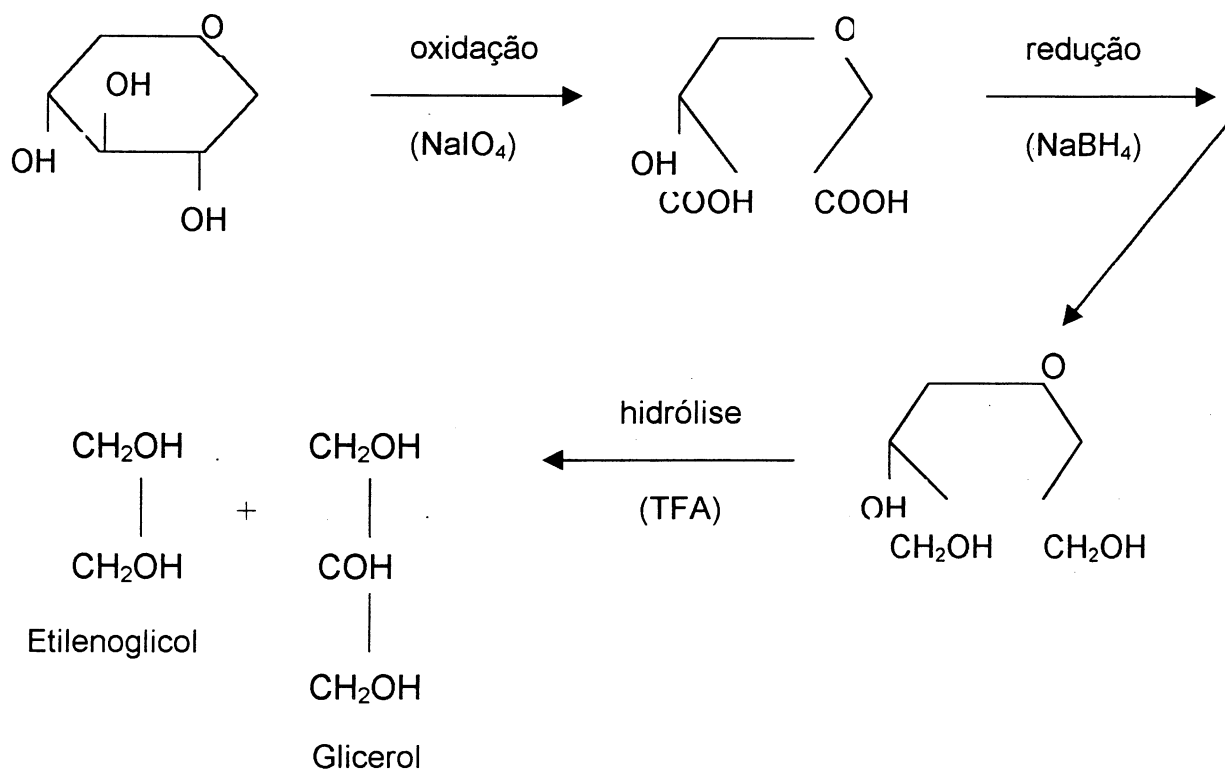
Para cada amostra foi realizado um branco. Este branco foi feito da mesma forma que as demais amostras, apenas com a ausência da adição do reagente m-hidroxi-bifenil, pois alguns polissacarídeos ao reagirem com o ácido (H_2SO_4 / tetraborato de sódio) apresentam uma cor que pode interferir na leitura precisa das amostras. O valor obtido da leitura deste branco, foi descontado do valor obtido pela leitura das amostras.

3.12. Oxidação com Metaperiodato de Sódio (HAY *et al.*, 1965)

Utilizou-se 100 mg da amostra exatamente pesada que foram colocadas em um Erlenmeyer. Adicionou-se à amostra 20 ml de H_2O e 20 ml de metaperiodato de sódio (NaIO_4) a 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$. As amostras permaneceram oxidando no escuro por 168 horas (1 semana). Para que as amostras ficassem completamente no escuro, o erlenmeyer contendo as amostras foi envolto por papel alumínio e colocado em um agitador magnético para agitação. Após as 168 horas adicionou-se 0,5 ml de etileno glicol nas amostras, que posteriormente foram colocadas para dialisar e depois foram reduzidas com NaBH_4 . As amostras foram novamente dialisadas, reduzidas, hidrolisadas, acetiladas e analisadas por g.l.c., pelos métodos anteriormente descritos.

O esquema das reações da oxidação com metaperiodato de sódio está descrito na Figura 3.

Figura 3. Esquema de reações da oxidação com metaperiodato de sódio



3.13. Ressonância Magnética Nuclear de carbono-13

As frações de maior rendimento obtidas nas extrações alcalinas dos tegumentos dos frutos e das sementes (hemi A1) foram analisadas por RMN- ^{13}C . Pegou-se 40 mg das amostras que foram solubilizadas em 0,5 ml de D_2O (água deuterada), adicionou-se a esta mistura cerca de 2 mg de hidróxido de sódio. A análise de RMN- ^{13}C foi realizada em espectrômetro Bruker AC-300, no modo FT. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm, em relação ao padrão externo DMSO (dimetil-sulfóxido), $\delta = 0$. Os

espectros foram obtidos a 45°C (GORIN, 1981).

3.14. Metilação (CIUCANU & KEREK, 1984)

As amostras (50 mg) de polissacarídeo previamente seco foram dissolvidos em 1 ml de dimetilsulfóxido (DMSO). Acrescentou-se 50 mg de hidróxido de sódio pulverizado e seco, agitando-se em Vortex por 20 minutos e então adicionou-se 0,5 ml de iodeto de metila (agente alquilante) sendo a amostra novamente agitada. O sistema foi neutralizado com ácido acético 50% e a extração do polímero parcialmente metilado foi feito com clorofórmio. A metilação foi monitorada por espectrometria de infra-vermelho, onde observa-se a ausência de banda de OH na região de 3200 a 3600 cm^{-1} . A amostra foi submetido à hidrólise, redução, acetilação e análise por g.l.c. e g.l.c. -m.s.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O *Mimusops coriacea*, popularmente conhecido como abricó, foi escolhido como fonte de matéria prima para o presente trabalho, seus frutos foram coletados tanto verdes como maduros, na mesma época.

Folhas, frutos e flores da espécie foram levadas ao Departamento de Botânica da UFPR para sua identificação. Após passar por duas identificações errôneas, novo material foi coletado e este novamente analisado, onde se chegou ao verdadeiro nome da espécie, *Mimusops coriacea*, uma espécie pertencente à família Sapotacea. O processo de identificação da espécie contou com a colaboração dos professores Alexandre Uhlman e Sandro Menezes Silva.

O fruto de abricó é formado a partir de uma única flor, com ovário súpero, sendo portanto um fruto simples, carnoso e do tipo baga (RAVEN, et al, 1996). A casca do fruto é formada a partir do epicarpo e o mesocarpo origina a polpa do fruto. Na composição da semente tem-se o endocarpo formando o tegumento externo (casca) e no interior tem-se a amêndoa, que compreende o embrião e o endosperma (ESAU, 1976). No presente trabalho separou-se o tegumento e a polpa do fruto e o tegumento e a amêndoa (embrião + endosperma) da semente.

O processo de coleta dos frutos deu-se nos meses de janeiro e fevereiro, quando observou-se um maior número de frutos disponíveis. Os

frutos em média possuem 44g. A proporção dos componentes dos frutos verdes e maduros encontra-se na Tabela II.

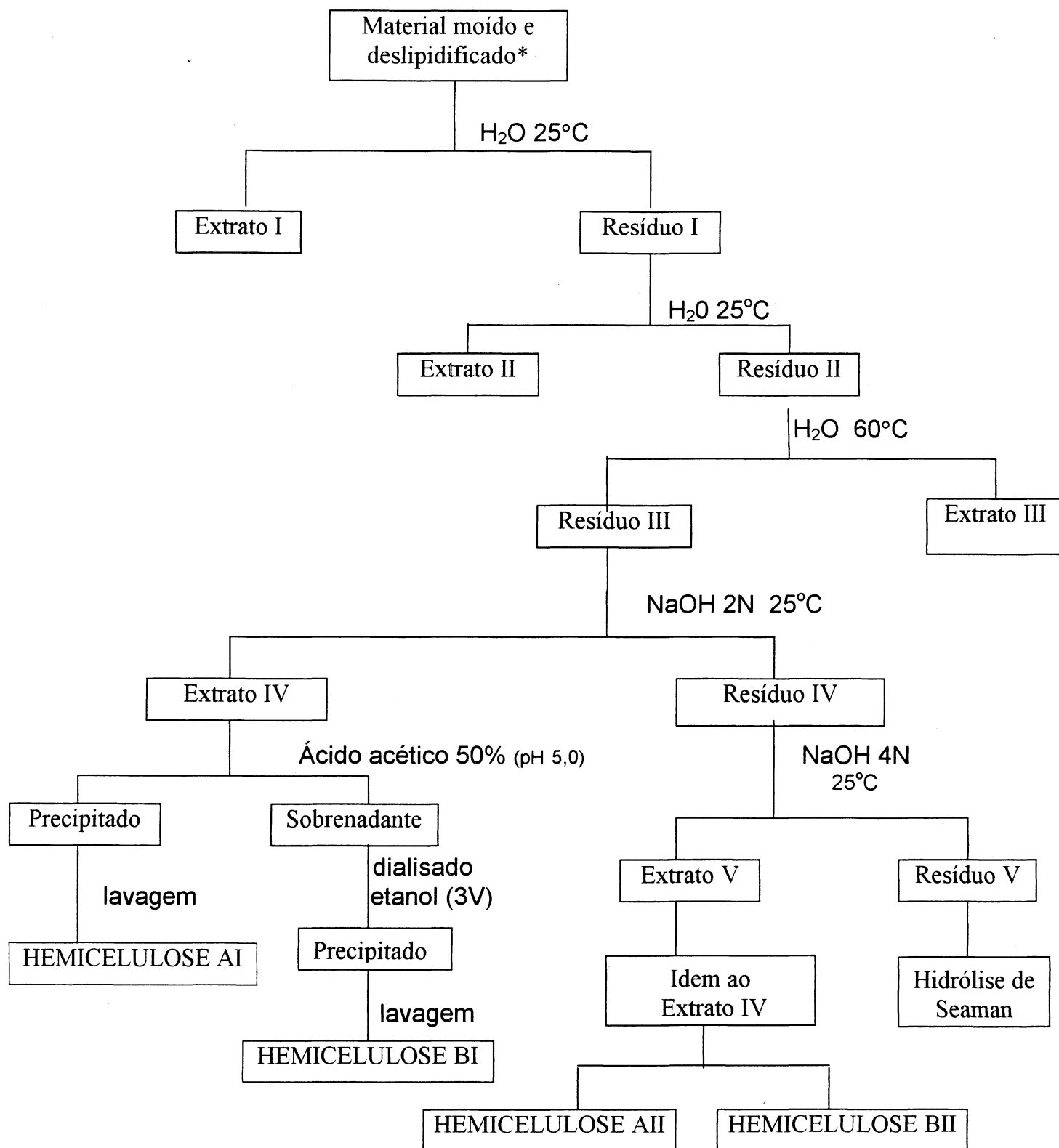
Tabela II. Proporção em massa dos componentes dos frutos verdes e maduros de *Mimusops coriacea* (A. de Candolle) Miquel (abricó).

Componentes do fruto ^a	%	
	verdes	maduros
casca do fruto	22,0	18,0
polpa do fruto	59,0	61,5
casca da semente	9,0	10,5
amêndoa	10,0	10,0

a: os resultados correspondem a uma média de 15 frutos.

Antes de proceder as extrações (Figura 4) todas as partes dos frutos foram submetidos ao processo de deslipidificação para eliminar as ceras, lipídeos e pigmentos. O produto desta deslipidificação em Soxhlet, após secos à temperatura ambiente, resultaram em aproximadamente 3g% (P/P) de material lipídico para todas as frações extraídas.

Figura 4. Fluxograma de extração de *Mimusops coriacea* (abricó)



* O mesmo procedimento foi realizado com todas as parte do fruto.

Com as extrações dos tegumentos dos frutos em diferentes estágios de maturação, após a prévia deslipidificação, pode-se fazer uma relação entre os rendimentos obtidos com as extrações aquosas e as alcalinas. Nota-se que as aquosas possuem rendimento em g% inferior às extrações alcalinas, não ultrapassando 1,5g%. Dentre as extrações alcalinas encontrou-se como amostras de maior rendimento as hem AI, com 4,4g% e 13,4g% para tegumentos maduros e verdes, respectivamente.

Tabela III. Rendimento das diferentes extrações de *Mimusops coriacea* (A. de Candolle) Miquel (abricó) em relação aos **tegumentos dos frutos** verdes e maduros deslipidificados (g% - P/P).

FRAÇÃO	TEMP. (° C)	RENDIMENTO
H ₂ O ^V	25	0,9
H ₂ O ^M	25	0,9
H ₂ O ^V	60	1,4
H ₂ O ^M	60	1,5
Hem AI ^V	25	13,4
Hem AI ^M	25	4,4
Hem AII ^V	25	1,4
Hem AII ^M	25	2,4
Hem BI ^V	25	3,9
Hem BI ^M	25	4,2
Hem BII ^V	25	3,9
Hem BII ^M	25	3,7

M. Tegumento dos frutos maduros

V. Tegumento dos frutos verdes

A partir da análise dos acetatos de alditóis obtidos por g.l.c. obteve-se a composição monossacarídica de todas as extrações, onde pode se observar que as extrações aquosas possuem com monossacarídeos mais significativos a arabinose (47,7%) e a galactose (28%). Já as extrações alcalinas possuem como monossacarídeo predominante a xilose (85,6%) para as hem A e arabinose (22,6%), xilose (27%) e galactose (27,5%) para as hem B.

Tabela IV. Composição monossacarídica das frações obtidas por extrações dos **tegumentos dos frutos** verdes e maduros de *Mimusops coriacea* (abricó).

FRAÇÃO	MOLES % ^a					
	RHA	ARA	XIL	MAN	GAL	GLC
H ₂ O ^V 25°C	15,7	57,0	0,5	2,8	22,0	2,1
H ₂ O ^M 25°C	18,8	48,6	1,2	2,0	22,7	6,7
H ₂ O ^V 60°C	6,4	41,2	1,6	-	29,7	21,0
H ₂ O ^M 60°C	-	44,1	5,0	3,3	37,4	10,3
Hem AI ^V	1,7	2,5	90,3	-	2,7	2,9
Hem AI ^M	0,9	1,2	96,3	-	1,0	0,6
Hem AII ^V	-	3,2	90,7	1,7	1,9	2,6
Hem AII ^M	-	16,7	65,4	3,9	9,4	4,5
Hem BI ^V	7,9	25,0	16,4	-	37,3	13,1
Hem BI ^M	-	27,7	37,4	2,9	19,3	12,6
Hem BII ^V	-	17,7	26,8	1,9	25,6	27,8
Hem BII ^M	-	18,8	28,2	4,3	29,0	19,6

a. Acetatos de alditóis analisados por g.l.c.

M. Tegumento dos frutos maduros

V. Tegumento dos frutos verdes

Analisando as extrações realizadas com o tegumento das sementes, pode-se observar que os rendimentos são significativos apenas para as hem A, e que as extrações com NaOH 2N são as de maior rendimento, como mostra a Tabela V. Comparando os tegumentos, viu-se que a hem AI do tegumento verde apresenta maior rendimento em relação ao maduro.

O monossacarídeo característico dos tegumentos das sementes verdes e maduras, após análise em g.l.c. é a xilose, em proporções razoavelmente significativas para as extrações aquosas e alcalinas realizadas, ficando em média de 70% porém, como também ocorreu para o tegumento dos frutos, observa-se uma porcentagem mais elevada para as hem A (96%). Nota-se que não há diferenças significativas na composição monossacarídica obtida nas extrações aquosas a 60°C, quando se comparam o tegumento da semente verde com o maduro. Ocorre a predominância para a composição em carboidratos de xilose e galactose, sendo que a temperatura de 60°C vê-se o aumento na composição em arabinose, comparando-se com aquelas a 25°C, conforme indica a Tabela VI.

Tabela V. Rendimento das diferentes extrações de *Mimusops coriacea* (A. de Candolle) Miquel (abricó) em relação aos **tegumentos das sementes** verdes e maduras deslipidificadas (g%).

FRAÇÃO	TEMP. (° C)	RENDIMENTO
H ₂ O ^V	25	0,2
H ₂ O ^M	25	0,8
H ₂ O ^V	60	0,1
H ₂ O ^M	60	0,1
Hem AI ^V	25	17,3
Hem AI ^M	25	10,8
Hem AII ^V	25	4,9
Hem AII ^M	25	5,0
Hem BI ^V	25	0,9
Hem BI ^M	25	0,2
Hem BII ^V	25	0,9

M. Tegumento das sementes maduras

V. Tegumento das sementes verdes

Após a análise das extrações, observou-se que as frações de maior rendimento, para os diferentes tegumentos, são equivalentes ou seja, tanto para o tegumento das sementes como para o tegumento dos frutos verdes e maduros, as frações de maior rendimento são as hem AI. Estas frações são constituídas principalmente por xilose, o que indica que estas frações podem ser constituídas por xilanas, que apresentam insolubilidade em água e solubilidade em soluções alcalinas (WHISTLER, 1950).

Tabela VI. Composição monossacarídica das frações obtidas por extrações dos **tegumentos das sementes** verdes e maduras de *Mimusops coriacea* (A. de Candolle) Miquel (abricó).

FRAÇÃO	MOLES % ^a					
	RHA	ARA	XIL	MAN	GAL	GLC
H ₂ O ^V 25°C	7,0	7,2	56,0	-	25,0	4,8
H ₂ O ^M 25°C	1,4	3,7	51,0	-	41,0	2,9
H ₂ O ^V 60°C	8,1	15,0	51,1	0,7	20,2	4,9
H ₂ O ^M 60°C	5,0	12,0	46,0	1,0	30,0	6,0
Hem AI ^V	3,6	0,8	94,0	-	1,0	0,6
Hem AI ^M	0,5	0,8	98,1	-	0,4	0,2
Hem AII ^V	1,4	0,7	96,5	-	0,5	0,9
Hem AII ^M	2,0	1,2	95,0	-	0,7	1,1
Hem BI ^V	10,4	10,2	52,0	12,7	12,4	2,3
Hem BI ^M	9,9	13,5	58,8	1,6	10,5	5,7
Hem BII ^V	11,6	14,4	59,0	-	15,0	-

a. Acetatos de alditóis analisados por g.l.c.

M. Tegumento das sementes maduras

V. Tegumento das sementes verdes

As frações de hem A foram então submetidas a análises complementares. Estas frações possuem em média 60% de açúcar total, conforme a técnica descrita por DUBOIS (1956), 8,3% de proteína (BRADFORD, 1972) e 7,4% de ácido urônico (BLUMENKRANTZ & ASBOE-HANS, 1973). As porcentagens referentes a cada uma das frações estão descritas na Tabela VII.

Tabela VII. Porcentagens de açúcar total, proteína e ácido urônico das hemiceluloses A1 dos tegumentos dos frutos e das sementes verdes e maduras de *Mimusops coriacea* (A. de Candolle) Miquel (abricó).

FRAÇÕES HEM A1	AÇÚCAR TOTAL (DUBOIS, 1956)	PROTEÍNA (BRADFORD, 1976)	ÁCIDO URÔNICO (BLUMENKRANTZ & ASBOE-HANS, 1973)
tegumento da semente verde	43,8%	8,5%	6,3%
tegumento da semente madura	66,5%	7,9%	5,6%
tegumento do fruto verde	55,5%	8,2%	9,0%
tegumento do fruto maduro	73,8%	8,4%	8,7%

Para a caracterização estrutural das hem A, submeteu-se inicialmente as amostras a oxidação com metaperiodato de sódio (HAY *et al.*, 1965). Com o tratamento com periodato de sódio ocorre a oxidação do polissacarídeo, rompendo a ligação carbono-carbono (C-C) onde há hidroxilas vicinais (Figura 3). Os polissacarídeos através da oxidação tornam-se um polialdeído. O produto resultante da oxidação de uma xilana de estrutura convencional, deve ser glicerol, proveniente das unidades de xilose ligadas β - $(1 \rightarrow 4)$. A análise dos produtos obtidos com a oxidação com periodato, hidrólise, redução e acetilação das frações de maior rendimento dos tegumentos dos frutos e das sementes verdes e maduras forneceu mais de

88% de glicerol e xilose (Tabela VIII). A presença de glicerol em pentoses indica a presença de ligações glicosídicas (1 → 4).

Tabela VIII. Análise dos produtos obtidos por oxidação com periodato de sódio de frações de *Mimusops coriacea* (A. de Candolle) Miquel (abricó).

Fração do Abricó	Composição Monossacarídica (moles %)	
	GLICEROL	XILOSE
Hem Al casca do fruto verde	94,3	5,7
Hem Al casca do fruto maduro	95,7	4,3
Hem Al casca da semente verde	95,0	5,0
Hem Al casca da semente madura	88,3	11,7

Estes resultados indicam que as unidades de D-xilose estão ligadas glicosidicamente através de ligação (1 → 4). A presença de xilose residual em todas as amostras deve-se provavelmente a ligações de substituintes de ácido urônico.

Alíquotas destas mesmas amostras foram metiladas (CIUCANU & KERÉK, 1984) e após hidrólise, seus produtos foram analisados por g.l.c. e g.l.c.-m.s. na forma de alditóis parcialmente metilados (Tabela IX).

Tabela IX. Análise dos derivados metilados de *Mimusops coriacea* (A. de Candolle) Miquel (abricó).

Frações de abricó (derivados O-metilados)	2,3,di-O- metil-xilose (lig. 1→4)	2,3,4-tri-O- metil-xilose (terminal não reduzidor)	3-O- metil-xilose (lig. 1→2)
Hem Al casca do fruto verde	99,0%	-	-
Hem Al casca da semente verde	93,5%	1,4%	5,1%
Hem Al casca do fruto maduro	94,0%	1,2 %	4,8%
Hem Al casca da semente madura	98,3%	-	1,7%

Pela análise dos dados obtidos pela metilação observou-se a presença de ligações do tipo (1 → 4) entre as unidades de xilose da cadeia principal, devido à presença de 1,4,5-tri-O-acetil-2,3,-di-O-metil-xilitol em proporções superiores a 93%. As porcentagens do derivado 1,2,4,5-tetra-O-acetil-3-metil-xilitol (aproximadamente 4%) indicam a quantidade de unidades de xilose que estão substituídas em O-2 por unidades de ácidos urônicos e/ou xilose.

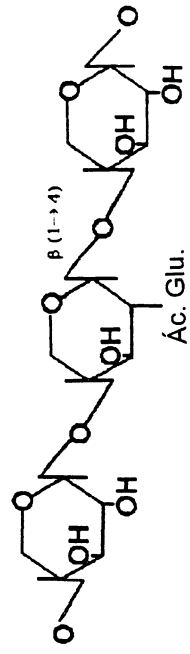
As unidades de ácidos urônicos estão ligadas ao O-2 das unidades de D-xilose. A presença do derivado 1-5-di-O-acetil-2,3,4-tri-O-metil-xilitol, correspondente a extremidade não redutora do polissacarídeo, derivado das unidades de xilose substituídas por ácidos urônicos. A análise dos derivados

metilados estão de acordo com os resultados obtidos pela oxidação com periodato de sódio.

Estas frações foram analisadas por ressonância magnética nuclear de carbono-13 (RMN-¹³C), um dos mais eficientes métodos espectroscópicos disponíveis para investigar a estrutura, conformação e configuração dos carboidratos. A análise dos sinais foi feita por comparação com dados disponíveis na literatura (GORIN, 1981) e conhecidas leis de deslocamento químicos (BREITMEIER & VOELTER, 1987). Os espectros desacoplados de RMN-¹³C das frações são apresentados nas Figuras 5, 6, 7 e 8.

A análise dos espectros (Figuras 5, 6, 7 e 8) mostram que os sinais mais intensos referem-se aos carbonos das unidades não substituídas (1 → 4)-β-D-Xilp, que apresentam os deslocamentos químicos presentes na Tabela X.

Figura 5. Espectro de RMN-¹³C da xilana obtida do tegumento do fruto maduro (hem A1) em D₂O



102.528
102.006
98.463
89.127
77.691
77.322
74.663
73.603
73.417
72.332
70.055
63.906
63.730
62.177
61.570
60.310
56.879

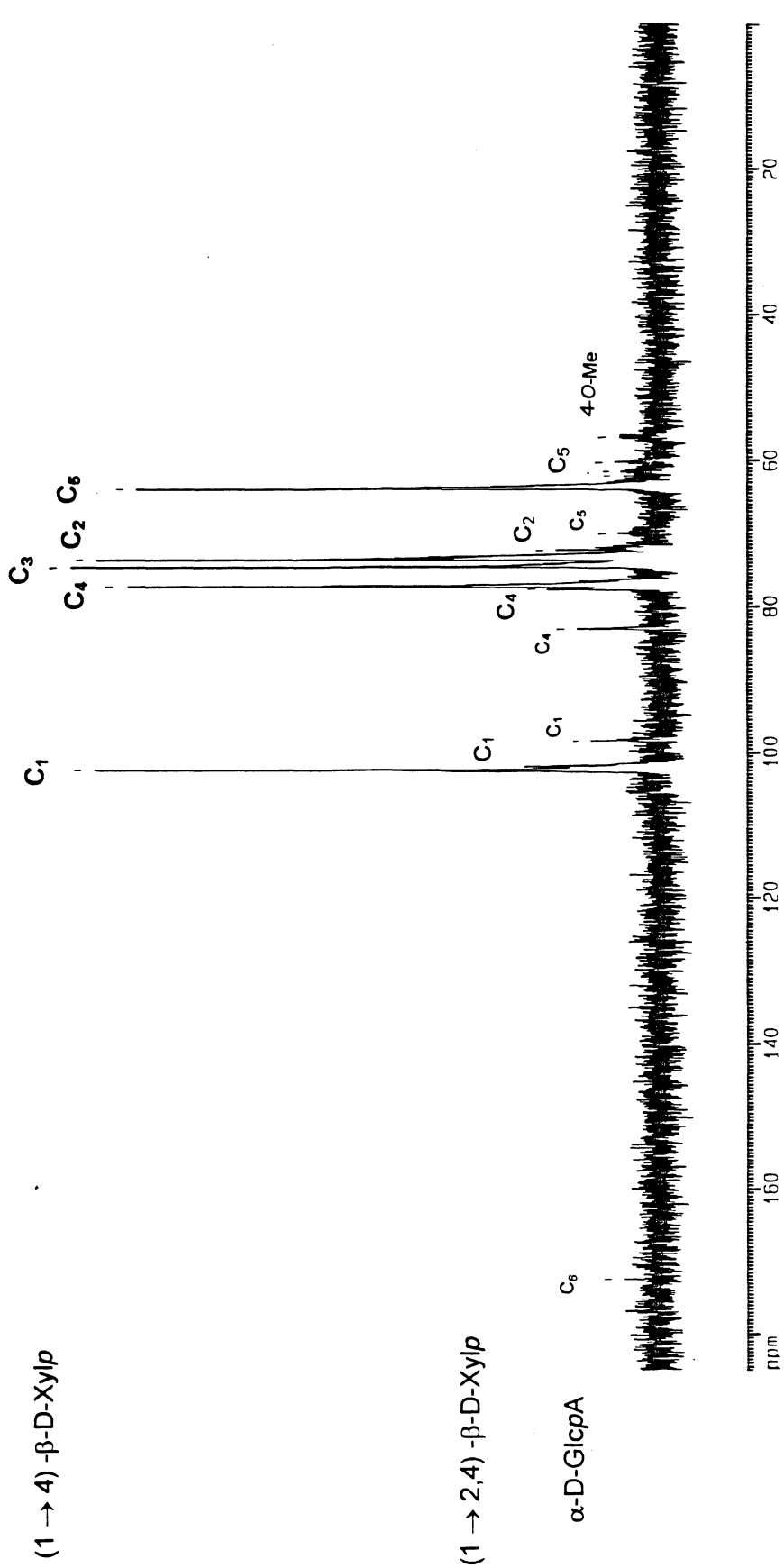


Figura 6. Espectro de RMN-¹³C da xilana obtida do tegumento do fruto verde (hem A1) em D₂O

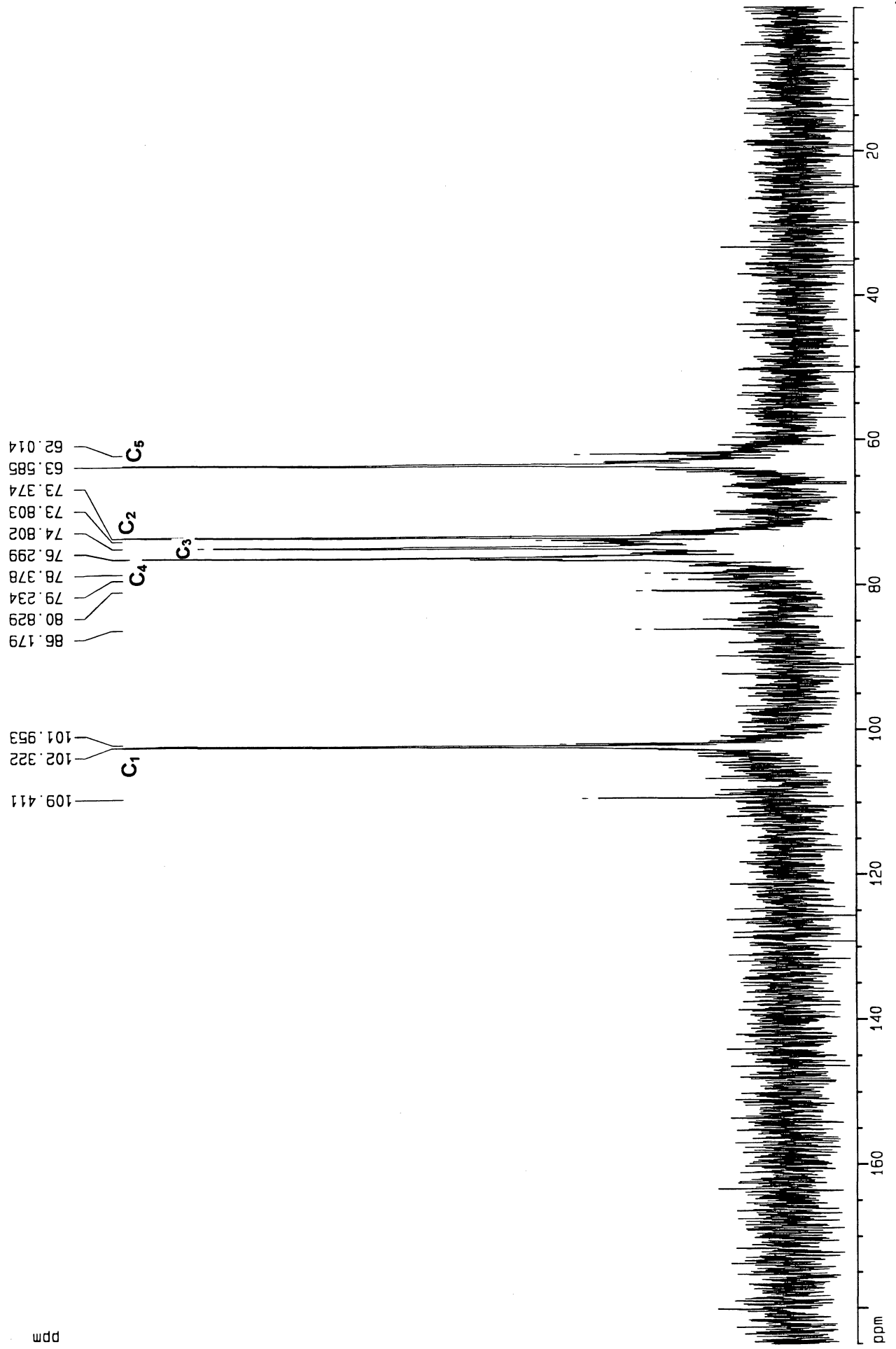


Figura 7. Espectro de RMN- ^{13}C da xilana obtida do tegumento da semente madura (hem A1) em D_2O

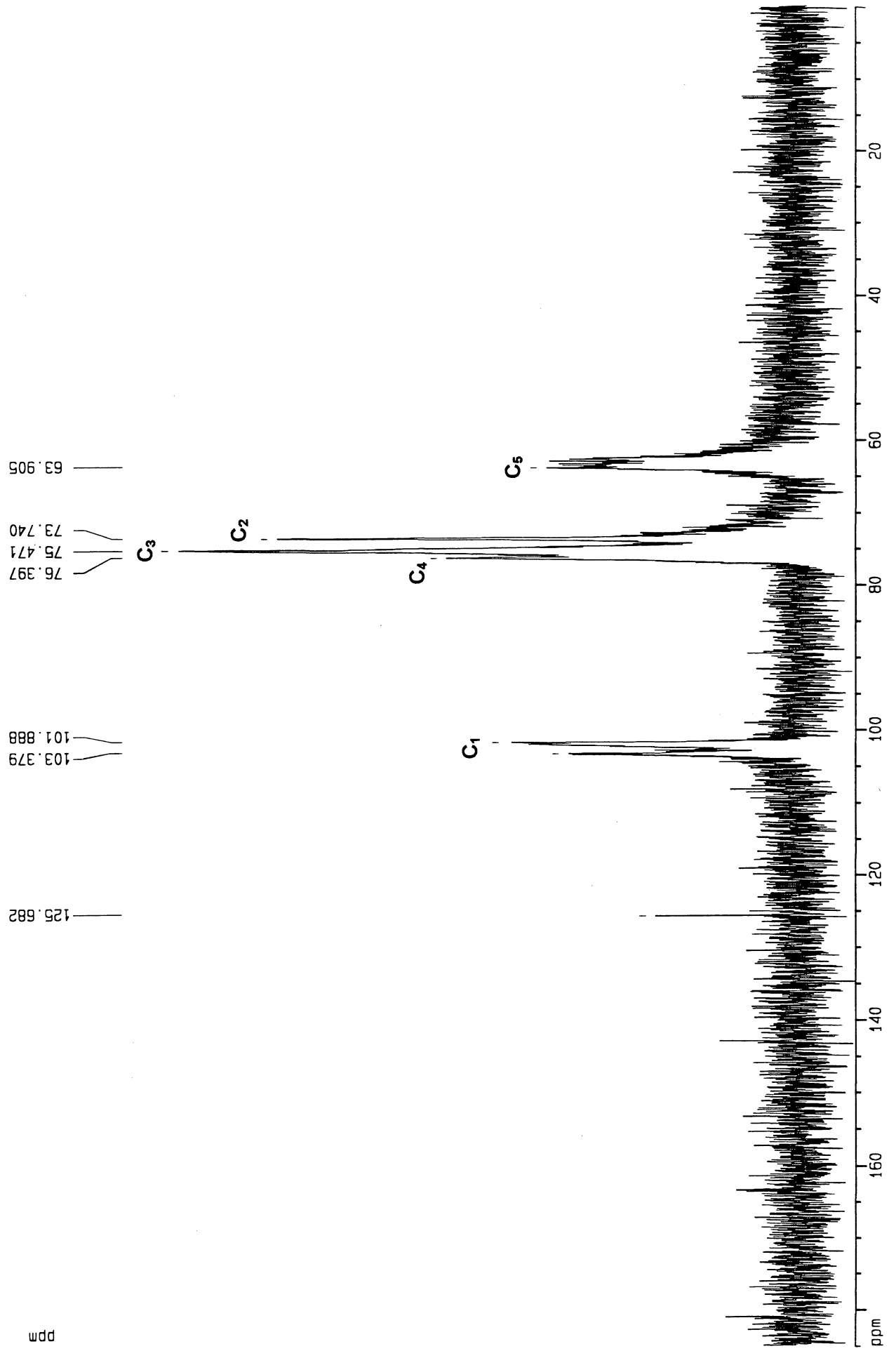


Figura 8. Espectro de RMN-¹³C da xilana obtida do tegumento da semente verde (hem AI) em D₂O

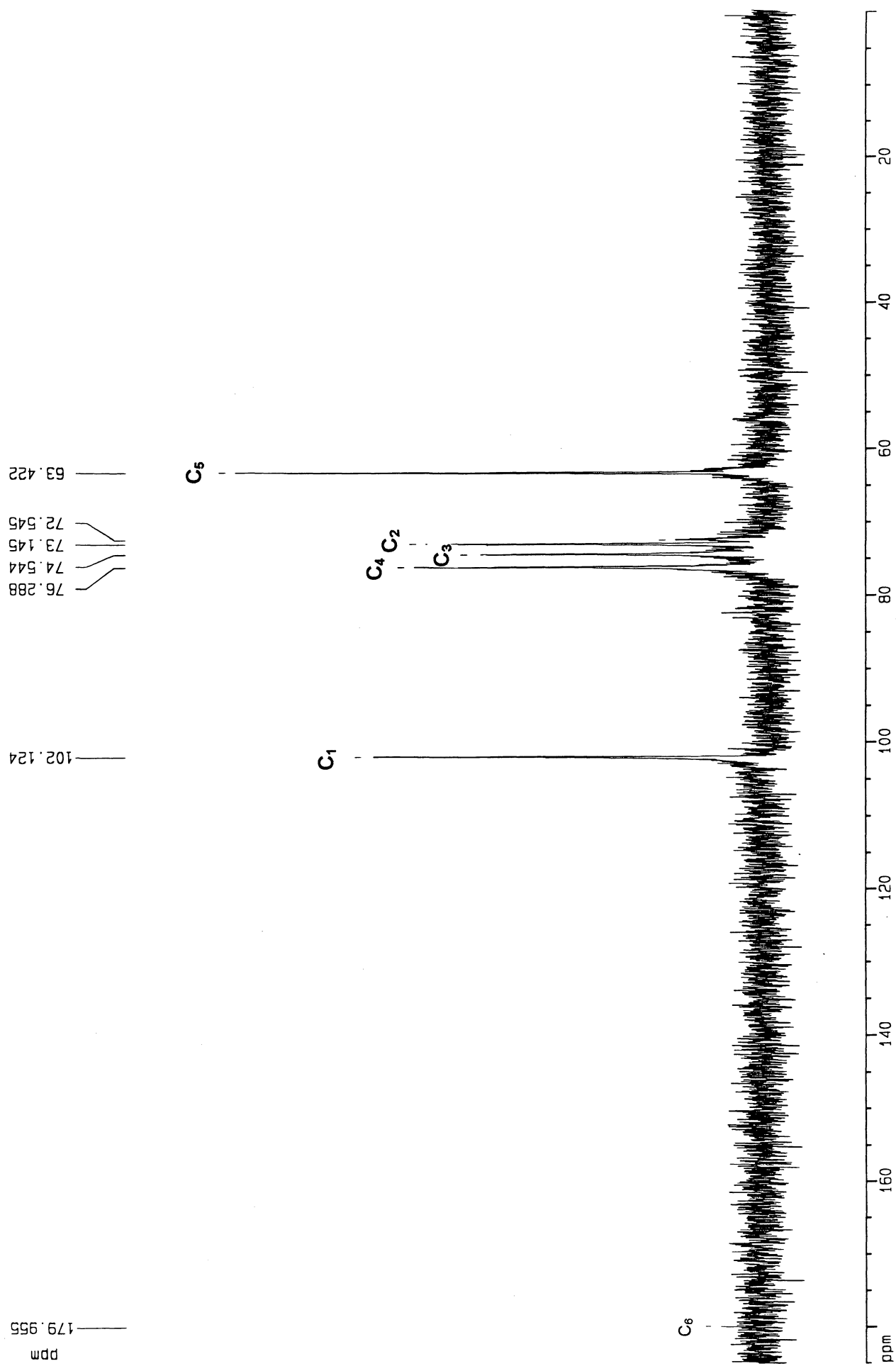


Tabela X. Comparação dos δ (ppm) dos espectros de RMN de ^{13}C das unidades de xilose obtida das frações de maior rendimento dos tegumentos.

BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS / UFPA

Frações Hem AI	(1 → 4) de β -D-Xilp				
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5
Tegumento fruto maduro	102,5	73,4	74,6	77,3	63,9
Tegumento fruto verde	102,3	73,3	74,8	76,2	63,5
Tegumento semente madura	101,8	73,7	75,4	76,3	63,9
Tegumento semente verde	102,1	73,1	74,5	76,2	63,4

Esses valores são consistentes com a anomeridade β . A ligação (1→4) entre as unidades β -D-Xilp é evidenciada pelo deslocamento de C-1 e C-4, que apresentam sinais em campo mais baixo que os demais carbonos da unidade por constituírem ligações glicosídicas.

A análise do espectro representado na Figura 5, mostra a presença de ramificação (1 → 2, 4) de β -D-Xilp em pequena proporção, apresentando picos de baixa intensidade. O substituinte em C-2 nas unidades de (1 → 2, 4) de β -D-Xilp mostra deslocamento químico compatível ao ácido glucurônico. Através do espectro pode se dizer que a anomeridade do ácido glucurônico do polímero em questão é α .

Após a análise dos tegumentos partiu-se para a investigação da polpa dos frutos de abricó.

RAVEN e colaboradores (1996) descrevem que o amadurecimento dos frutos envolvem diversas transformações, a clorofila pode ser degradada e outros pigmentos podem formar-se, alterando assim a coloração dos frutos. A parte carnosa do fruto amolece como resultado da digestão enzimática da pectina. Durante este mesmo período, amido, ácidos orgânicos e óleos são metabolizados em açúcares.

As polpas dos frutos de abricó, após a deslipidificação do material, foram submetidas a extrações seqüenciais aquosas e alcalinas. Os rendimentos das extrações aquosas foram superiores aos encontrados anteriormente nas extrações com os tegumentos estando em média de 4,0 g% e as extrações alcalinas possuem rendimentos de 4,5 g%. Porém, as extrações alcalinas apresentam diferenças marcantes nos rendimentos. As hem A1 possuem rendimentos superiores para as frações verdes em relação aos maduros, de todas as extrações realizadas (9,5 g%), conforme descrito na Tabela XI.

Tabela XI. Rendimento das diferentes extrações de *Mimusops coriacea* (A. de Candolle) Miquel (abricó) em relação as **polpas dos frutos verdes e maduros deslipidificados (g%).**

FRAÇÃO	TEMP. (° C)	RENDIMENTO
H ₂ O ^V	25	4,3
H ₂ O ^M	25	2,4
H ₂ O ^V	60	6,5
H ₂ O ^M	60	2,9
Hem AI ^V	25	12,6
Hem AI ^M	25	6,5
Hem AII ^V	25	0,9
Hem AII ^M	25	0,6
Hem BI ^V	25	4,7
Hem BII ^V	25	3,4
Hem BII ^M	25	3,1

M. Polpa dos frutos maduros

V. Polpa dos frutos verdes

A análise destas frações em g.l.c., na forma de alditóis acetato, forneceram a composição em monossacarídeos, conforme escrito na Tabela XII. As frações aquosas forneceram principalmente arabinose, galactose e glucose. As hemiceluloses A (extrações alcalinas 2N e 4N) das polpas maduras apresentam altas porcentagens de xilose (70%) em relação as demais hemiceluloses que, igualmente as extrações alcalinas possuem teores parecidos de monossacarídeos, predominando a arabinose, galactose e glucose.

Tabela XII. Composição monossacarídica das frações obtidas por extrações das **polpas dos frutos** verdes e maduros de *Mimusops coriacea* (A. de Candolle) Miquel (abricó).

FRAÇÃO	MOLES % ^a						
	RHA	ARA	XIL	MAN	GAL	GLC	FUC
H ₂ O ^V 25°C	5,6	29,1	1,0	4,5	23,0	36,7	-
H ₂ O ^M 25°C	8,0	24,6	1,3	5,5	22,1	38,3	1,0
H ₂ O ^V 60°C	5,2	45,5	1,6	2,2	25,5	20,0	-
H ₂ O ^M 60°C	7,6	40,5	6,8	3,4	32,7	8,9	-
Hem AI ^V	1,2	13,0	16,5	40,1	17,3	10,2	1,7
Hem AI ^M	-	7,5	68,1	0,8	14,3	9,2	-
Hem AII ^V	1,3	11,8	39,2	4,2	23,3	20,0	-
Hem AII ^M	-	6,1	72,5	3,0	11,7	6,6	-
Hem BI ^V	3,0	28,4	18,9	7,2	16,7	25,7	-
Hem BII ^V	4,5	12,3	14,1	34,9	17,9	8,2	13,1
Hem BII ^M	1,8	17,2	15,6	9,2	29,3	24,1	2,8

a. Acetatos de alditóis analisados por g.l.c.

M. Polpa dos frutos maduros

V. Polpa dos frutos verdes

Observa-se que em algumas frações tem-se a presença de fucose, sendo que na Hem BII^V, a fucose está presente em quantidade significativa, em torno de 13%.

Para integrar as demais partes dos frutos de abricó extraídas, iniciou-se as extrações com as amêndoas presentes nas sementes verdes e maduras do

abricó. Estas extrações incluem o endosperma e o embrião da semente, uma vez que não se separou as partes internas do tegumento das sementes.

Ao se analisar os rendimentos obtidos nas extrações das amêndoas (Tabela XIII) observa-se que as frações de maior rendimento foram aquelas fornecidas pelas extrações com NaOH 4N, na obtenção das hemiceluloses B (hem BII), diferenciando das outras partes do fruto em que as frações de maior rendimento foram as hem AI.

Estas frações forneceram em média 5,9 g% de material.

Tabela XIII. Rendimento das diferentes extrações de *Mimusops coriacea* (A. de Candolle) Miquel (abricó) em relação as **amêndoas** verdes e maduras deslipidificados (g%).

FRAÇÃO	TEMP. (° C)	RENDIMENTO
H ₂ O ^V	25	2,5
H ₂ O ^M	25	0,6
H ₂ O ^V	60	1,8
H ₂ O ^M	60	0,7
Hem AI ^V	25	1,7
Hem AI ^M	25	0,1
Hem AII ^V	25	5,4
Hem AII ^M	25	0,2
Hem BI ^V	25	7,8
Hem BI ^M	25	3,1
Hem BII ^V	25	8,6
Hem BII ^M	25	3,2

M. Amêndoas maduras
V. Amêndoas verdes

Observa-se também que as amêndoas verdes forneceram melhores rendimentos (5,1g%) do que as amêndoas maduras (1,3g%). Entretanto, a composição monossacarídica de ambas são semelhantes, apresentando predominância para a xilose e a glucose. Galactose, glucose e arabinose também encontram-se presentes, porém em menor porcentagem.

Tabela XIV. Composição monossacarídica das frações obtidas por extrações das **amêndoas** verdes e maduras de *Mimusops coriacea* (A. de Candolle) Miquel (abricó).

FRAÇÃO	MOLES % ^a					
	RHA	ARA	XIL	MAN	GAL	GLC
H ₂ O ^V 25°C	4,0	15,5	39,5	1,5	15,3	22,8
H ₂ O ^M 25°C	2,8	13,3	42,5	3,0	16,1	21,0
H ₂ O ^V 60°C	2,3	12,9	44,1	-	15,7	23,5
H ₂ O ^M 60°C	1,6	10,6	44,8	2,2	15,5	24,8
Hemi AI ^V	2,3	16,7	41,5	1,0	14,0	23,0
Hemi AI ^M	-	14,3	44,4	1,5	12,0	24,1
Hemi AII ^V	-	26,9	40,9	-	15,6	13,6
Hemi AII ^M	-	19,8	41,0	5,2	13,2	20,7
Hemi BI ^V	1,0	9,3	39,0	2,3	19,4	28,8
Hemi BI ^M	-	10,4	45,1	-	11,3	29,38
Hemi BII ^V	1,8	15,3	42,3	-	13,8	24,7
Hemi BII ^M	-	17,3	44,7	1,7	13,5	22,7

a. Acetatos de alditóis analisados por g.l.c.

M. Amêndoas maduras

V. Amêndoas verdes

As duas frações de maior rendimento apresentam como monossacarídeo predominante a xilose, em proporções de 42,3% para a amêndoa verde e 44,7% para a amêndoa madura.

Não existe grande diferença entre a composição das extrações aquosas e das extrações alcalinas. Ambas apresentam composição monossacarídica semelhante.

Com as amostras de maior rendimento das polpas e das amêndoas realizou-se dosagens de açúcar total (DUBOIS *et al.*, 1956), proteína (BRADFORD, 1976) e ácido urônico (BLUMENKRANTZ & ASBOE-HANS, 1973), os valores encontrados encontram-se descritos na Tabela XIV.

As amêndoas possuem teores de açúcar superiores a 40%, ácido urônico e proteína inferiores a 7%, semelhando-se aos valores encontrados nas dosagens dos tegumentos. Para as polpas dos frutos nota-se que ocorre uma diminuição da porcentagem de açúcar em comparação com as amêndoas e as demais partes do fruto analisadas (Tabela XV), revelando uma queda de mais de 20% na quantidade de açúcar total. Em compensação, as polpas possuem cerca de 23,6% de proteína nos frutos maduros e 27,7% nos frutos verdes. O fato dos frutos verdes possuírem mais proteína que os frutos maduros, pode estar relacionado com o gasto proteico no processo de maturação dos frutos. Os valores encontrados na dosagem de ácido urônico para as polpas se encontra de acordo com os valores encontrados para as demais partes dos frutos, valores estes inferiores a 10%.

Tabela XV. Porcentagens de açúcar total, proteína e ácido urônico das frações das hemiceluloses da polpa dos frutos e das amêndoas das sementes verdes e maduras de *Mimusops coriacea* (A. de Candolle) Miquel (abricó).

FRAÇÕES	AÇÚCAR TOTAL (DUBOIS, 1956)	PROTEÍNA (BRADFORD, 1976)	ÁCIDO URÔNICO (BLUMENKRANTZ E ASBOE-HANS, 1973)
amêndoa verde (hem BII)	43,1%	5,8%	6,4%
amêndoa madura (hem BII)	47,5%	6,7%	3,7%
polpa verde (hem AI)	24,0%	27,2%	9,9%
polpa madura (hem AI)	22,2%	23,6%	7,6%

Após se realizar as últimas extrações com NaOH 4N, o resíduo de todas as frações foram lavados em água corrente e secos em estufa à vácuo. Posteriormente realizou-se hidrólise de Seaman com estes resíduos (SEAMAN *et al.*, 1963). Com a análise em g.l.c. obteve-se os resultados que se encontram na Tabela XVI.

Esta hidrólise foi realizada com o intuito de se investigar a possibilidade de alguns polissacarídeos não terem sido totalmente extraídos nos estágios das extrações precedentes.

Considerando os resíduos dos tegumentos observa-se a xilose como monossacarídeo predominante, caracterizando como provável polissacarídeo residual das extrações anteriores.

Tabela XVI. Composição monossacarídica dos resíduos finais das extrações do abricó obtidos por Hidrólise de Seaman (SEAMAN *et al.*, 1963).

RESÍDUO FINAL	Gli	Rha	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	Inusitol
tegumento semente madura	3,2	4,1	-	73,5	-	-	14,2	4,8
tegumento semente verde	3,4	3,0	2,2	63,0	-	4,1	20,1	4,0
tegumento fruto maduro	-	1,7	6,8	68,7	0,5	5,0	13,8	3,2
tegumento fruto verde	-	-	-	69,4	2,1	5,7	15,7	7,1
polpa madura	-	-	18,0	26,0	-	25,5	25,0	5,4
polpa verde	-	-	24,2	13,4	2,4	41,7	14,3	3,8
amêndoa madura	-	2,5	11,3	25,1	0,6	29,5	20,2	8,7
amêndoa verde	-	2,6	14,4	29,1	1,3	23,5	25,9	3,0

Nas polpas observa-se uma presença mais significativa de galactose (33,6%), glucose (19,6%) e xilose (19,5%), que também estão presentes nos resíduos das extrações das amêndoas (26,5%; 23,0%; 27,1%, respectivamente).

Pequenas porcentagens de glicerol foram encontradas somente no tegumento das sementes, amostras estas que deixam de apresentar manose. O tegumento da semente verde também deixa de apresentar galactose e arabinose.

5. CONCLUSÃO

- As extrações com hidróxido de sódio 2N, que resultaram nas hemiceluloses A, possuem um maior rendimento no tegumento das sementes verdes e maduras do que os apresentados pela extração do tegumento dos frutos verdes e maduros.

- As análises dos polissacarídeos na forma de alditóis-acetato, comprovaram a existência de xilose em proporções superiores à 90% nas frações obtidas através da extração com NaOH 2N (Hem A) no tegumento das sementes e dos frutos verdes e maduros.

- Através da análise dos resultados obtidos pela oxidação com metaperiodato de sódio, metilação e espectroscopia de ressonância nuclear magnética de carbono-13, dos tegumentos dos frutos e sementes, evidenciou-se a presença de uma xilana com ligações do tipo (1 → 4), substituídas em O-2 por ácidos urônicos. Analisando-se o espectro obtido por RMN-¹³C, pode-se evidenciar anomeridade β para as unidades de xilose.

- A polpa dos frutos possui como frações de maior rendimento as obtidas nas extrações com NaOH 2N (hem A) com rendimento de 12 g% para

a polpa verde e de 6,5g% para a polpa madura. Estas frações contém 45% de açúcar e 6% de proteína. Apresentam altas porcentagens de xilose (68%) além de arabinose, galactose e glucose.

- Nas amêndoas verdes as extrações aquosas e alcalinas apresentam maior rendimento em comparação com as amêndoas maduras. Entretanto, a composição monossacarídica de ambas são semelhantes, apresentando predominância para a xilose e a glucose. Galactose e arabinose também encontram-se presentes, porém em menor porcentagem.

- Notou-se que nas oito frações extraídas: tegumento do fruto verde e maduro, tegumento da semente verde e madura, amêndoas das sementes verdes e maduras e polpas dos frutos verdes e maduros, as extrações de maior rendimento (alcalinas) coincidem ou seja, são equivalentes nos diferentes estágios de maturação analisados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, G. A. Complete acid hydrolysis. **Methods Carbohydr. Chem.** New York, v. 5, p. 269- 276, 1965.
- AGAREZ, F.V. *et al* . **Botânica: taxonomia, morfologia e reprodução das angiospermae.** Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, 256p, 1994.
- ATALLA, R.H.; HACKNEY, J.M.; UHLIN, I.; THOMPSON, N.S. Hemicelluloses as structure regulators in the aggregation of native cellulose. **Int. J. Biol. Macromol.** v.15, p.109-112, 1993.
- ASPINALL, G.O.; MAHOMED, R. S. The constitution of a wheat straw xylan. **J. Chem. Soc.** p. 1731-1734, 1954.
- ASPINALL, G.O. Structural chemistry of the hemicelluloses. **Adv. Carbohydr. Chem.** 14: 429-468; 1959.
- BARROSO, G.M.B. **Sistemática de angiospermas do Brasil.** 234p, vol 1. São Paulo: Livros Técnicos e Científicos, 1978.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination.** Springer-Verlag, New York, 1978.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Physiology of development and germination.** Springer-Verlag, New York, 1986.

BLUMENKRANTZ, N.; ASBOE-HANS, G. New method for quantitative determination of uronic acids. **Analytical Biochemistry**, v. 54, p. 484-489; 1973.

BRADFORD, M.M. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein - Dye Binding. **Anal. Biochem.**, v. 72, p. 248-254; 1976.

BREITMEIER, E.; VOELTER, M. **Carbon-13 NMR spectroscopy.** 3rd V. C. H, N.Y, 1987.

BRETT, C. WALDRON, K. **Physiology and biochemistry of plant cell walls.** Topics in plant physiology 2. London: Unwin Hyman, 1990.

CARCHON, H.; BRUYNE, C. R. Purification and properties of coffee bean α -D-galactosidase. **Carbohydr. Res.** 41: 175-189, 1975.

CARNEIRO, E. B. B. **Polissacarídeos de *Chorisia speciosa* St. Hil. (paineira).** Curitiba, 1994. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

CARVALHO, N.M. ; NAKAGAMA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** Fundação Cargill, Campinas; 1980.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais**. Potencialidades e Uso da Madeira. EMBRAPA-CNPQ/SPI. Colombo/PR, 1994

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. **Bioquímica**. Porto Alegre: Artes Médicas, 2ªed, p.446, 1997.

CIUCANU, I.; KEREK, V. A simple and rapid method for the permethylation of carbohydrates. **Carbohydr. Res.**, v. 200, p. 71-77, 1984.

CORRÊA, J. B. C. Structural features of hemicellulose. A from the stem of *Mimosa bracinga*, **Carbohydr. Res.** 80: 337-348, 1978.

CORRÊA, M.P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das plantas exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, p.235,1984.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University, 1988.

CRUZ, G.L. **Livro verde das plantas medicinais e Industriais do Brasil**. 1ª ed, Belo Horizonte, 1965.

CUTTER, E. **Anatomia vegetal - Parte II**. São Paulo: Roca, 1986.

- DEVINCENZI, I. A. A. **Aspectos sobre alguns componentes do caule de *Schizolobium parahybum* (Vell Blake)**. Curitiba, 1985. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná.
- DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal. Chem**, 28: 350-356, 1956.
- DOROSO, N. *et al.* Some aspects of the chemical structure of the hemicellulose B from the stem of *Mimosa bracinga*, **Arq. Biol. Technol.**, 23: 257-263, 1980.
- ESAU, K. **Anatomy of seed plants**. N.Y.: John Wiley & Sons, 550p, 1976.
- FENGEL, D.; WEGENER, G. **Polyoses (hemicelluloses)**. In: Wood Chemistry, ultrastructura reactions, Gruuster, W; Berlim, p 108-127, 1989.
- FIGUEIREDO, R.C.L. Reserve carbohydrates in underground organs of native brasilian plants. **Revista Brasileira de Botânica**, 9 (2): 159-166, 1986.
- FOSKET, D. E. **Plant growth and development**. A molecular approach. Academic Press. Cap. 5, p. 197-201; 445-447, 1994.
- GOMES, S. L. **Análise estrutural de uma metilglucuronoxilana isolado do caule de bracinga (*Mimosa bracinga*, Hoehne)**. Curitiba, 1975. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná.

GORIN, P. A. J. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of polysaccharides. **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.**, 38: 13-37, 1981.

HAY, G. W.; LEWIS, B. A.; SMITH, F. Periodate oxidation of polysaccharides: general procedures. **Methods in Carbohy. Chem.**, 5: 357-361, 1965.

JOLY, A.B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 11 ed. São Paulo: Nacional, 1993.

KLEIN, W. H.; POLLOCK, B.M. Cell fine structure of developing lima bean seeds related to seed dessication. **Amer. J. Bot.**, 55: 658-672, 1968.

LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Coleção de monografias científicas n.24. Caracas: Instituto Venezolano de Investigações Científicas, 1983.

LUETZELBURG, P.V. **Estudo botânico do nordeste**. Coleção Mossoroense Vol CLXVI. Fundação Guimarães Duque – ESAM; vol III, 2ª ed , 1923.

MORRAL, P.; BRIGGS, D.E. Change in cell wall polysaccharides of germinating barley grains. **Phytochemistry**. v. 17; p. 1495-1502, 1978.

MORRINSON, I. M. Lignin-carbohydrate complexes from *Lolium perene*, **Phytochemistry**., 13: 1161-1165, 1974.

NORTHCOTE, D.H. Chemistry of the plant cell wall. **An. Rev. Plant Physiol.**, 23:113-132, 1972.

PENNINGTON, T.D. **Flora Neotropica**, n. 52, p.42. Sapotaceae, 1990.

RAVEN, H. P.; et al. **Biologia vegetal**. 5ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan: 728 p, 1996.

REICHER, F. **Estudos sobre a localização de grupos O-acetílicos e de complexo lignina-xilana em hemicelulose nativa de *Mimosa scabrella***. Curitiba, 1984. Dissertação (Doutorado em Bioquímica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

REICHER, F.; CORRÊA, J. B. C.; GORIN, P. A. location of O-acetyl groups in the acidic D-xylan of *Mimosa scabrella* (Bracatinga). A study of O-acetyl migration. **Carboh. Res.**: 135, p. 129-140, 1984.

REID, J.S.G. Cell wall storage carbohydrates in seeds-biochemistry of the seed "gums" and "hemicelluloses". **Advances in Botanical Research**: 11, p.125-155, 1985.

ROMANOWSKI, S.M.M. **Estudo de substituintes em xilana de *Mimosa scabrella* (bracatinga) em diferentes estágios de crescimento**. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 1986.

SAEMAN, J. F.; MOORE, W. E.; MILLET, M. A. Sugar units present. hydrolysis and quantitative paper chromatography. **Meth. Carbohydr. Chem.**, 3: 54-69, 1963.

SAHU, N. P. Triterpenoid saponins of *Mimusops elengi*. **Phytochemistry** (Oxford) 41 (3): 883-885, 1996.

STEPHEN, A. M. Other plant polysaccharides. In: **The Polysaccharides**. Aspinall, G. O. Academic Press, N. Y, 2: 114-181, 1982.

STRYER, L. **Bioquímica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 3^a ed. 881 p, 1992.

TIMELL, T. E. Wood hemicelluloses. Part I. **Adv. Carbohydr. Chem.**, 19: 247-302, 1964.

WALDRON, K. W.; SELVENDRAN, R. R. Cell wall changes in immature asparagus stem tissue after excision. **Phytochemistry**, 31 (6): 1931-1940, 1992.

WENZEL, G. E. **Fracionamento e purificação das hemiceluloses de folha de cafeeiro *Coffea arabica*, L. (var. Novo Mundo)**. Análise estrutural de um O-metil-D-glucuronoxilano. Curitiba, 1976. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná.

WHISTLER, R. L.. Xilan. **Adv. Carbohydr. Chem.**, v. 5, p. 269-290, 1950.

WHISTLER, R. L.; LAUTERBACH, G. E. Hydrolysis products from methylated arabinoxyloglycan and arabino galacto-mono-O-methylglucuronoxyloglycan of corn cobs. **J. Am. Chem. Soc.**, 80: 1897-1990, 1958.

WHISTLER, R. L.; FEATHER, M. S. Hemicellulose. Extraction from annual plants with alkaline solutions. **Meth. Carbohydr. Chem.**, 5: 144-145, 1965.

WHISTLER, R. L.. Introduction. In: WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N. **Industrial Gums: polysaccharides and their derivatives**. New York: Academic Press, 3ed, p. 1-19, 1993.

WILKIE, K.C.B. Hemicellulose. **Chem. Technol**, p. 306-319, 1983

WOLFROM, M.L.; THOMPSON, A. A reduction with sodium borohydrite. **Methods Carbohydr. Chem**. New York. v. 2; p. 65-68, 1963.

WOLFROM, M.L. Acetylation. **Methods Carbohydr. Chem**. New York. v. 2; p. 211- 215, 1963.

YALPANI, M. **Industrial polysaccharides: genetic engineering, structure/property relations and applications**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B. V., p. 225-238, 1987.

YOUNG, R. A.; RONELL, R. M. **Celulose: structure, modification and hydrolysis**, John Wiley & Sons. N. Y. 1986.

ZERMINIANI, A. **Novos aspectos sobre a estrutura da hemicelulose A do caule de *Mimosa bracinga*, Hoehne.** Curitiba, 1980. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná.