

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA

GISELE ELIANE PERESSUTTI

Biopolímeros da Família Arecaceae:
Archontophoenix cf. cunninghamiana e *Butia eriospatha*.

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

CURITIBA
1996

Orientadora: Dra. Joana Léa Meira Silveira Ganter

A vida é realmente escuridão, exceto quando há impulso. E todo impulso é cego quando não há saber. E todo o saber é vão, exceto quando há trabalho é vazio, exceto quando há amor. E quando trabalhais com amor, vos unis a vós próprios, e uns aos outros e à Deus.

(Gibran Khalil Gibran)

Aos meus pais, Geraldo e Mafalda, por todo o incentivo, exemplo, sacrifício e compreensão, meu amor e agradecimento.

Ao Luiz, com muito amor, pelo carinho,
dedicação e paciência em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS:

À profa. Dra. Fany Reicher, pela paciência, exemplo e colaboração.

À Profa. Dra. Joana Léa Meira Silveira Ganter pela orientação, consideração, apoio e amizade.

À Profa. Dra. Selma Faria Zawadzki-Baggio, pelo incentivo e amizade.

Ao Prof. Dr. José Domingos Fontana, pelo auxílio sobre glicolipídeos.

Ao Prof. Dr. Philip A. J. Gorin, pelas análises dos espectros de g.l.c.-ms e ^{13}C -NMR.

Às Doutorandas Eliana Beleski B.Carneiro e Tania M.B. Bresolin, pelo carinho, estímulo e companheirismo.

Aos colegas Alfredo, Luciane, Renato, Sandro, Solange e Vanessa, por toda a ajuda recebida, amizade e compreensão.

Às amigas Fabiane Fortes e Anat Reicher Feldman, por todo o carinho, incentivo e cooperação.

Ao Doutorando Marcos Machado, pela colaboração.

Ao Cesar, pelas análises de g.l.c.-ms e ^{13}C -NMR.

À todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para que esta monografia fosse realizada.

Ao CNPq, pelo suporte financeiro.

SUMÁRIO:

1. RESUMO.....	01
2. INTRODUÇÃO.....	03
2.1 Hemiceluloses.....	06
2.2 Mananas.....	08
2.3 Galactomananas.....	11
2.4 Lipídeos.....	14
2.5 Glicolipídeos.....	23
2.6 <i>Archontophoenix cf. cunninghamiana</i>	27
2.7 <i>Butia eriospatha</i>	27
3. CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA.....	32
4. OBJETIVOS.....	33
5. MATERIAIS E MÉTODOS	
5.1 Obtenção das Sementes.....	34
5.2 Extração Polissacarídica.....	34
5.3 Hidrólise Ácida Total.....	35
5.4 Cromatografia em Papel.....	35

5.5 Redução.....	36
5.6 Acetilação.....	36
5.7 Cromatografia Líquido-Gasosa (g.l.c.).....	37
5.8 Purificação do Extrato Bruto Lipídico pelo Método de Folch.....	37
5.9 Isolamento dos Glicolípideos.....	37
5.10 Coluna de troca Iônica.....	38
5.11 Cromatografia em Camada Delgada.....	38
5.12 Espectrometria de Massa dos Componentes da Fração Lipídica Bruta.....	39
5.13 Ressonância Nuclear Magnética.....	39
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
7. CONCLUSÃO.....	62
8. TABELAS	
I : Polissacarídeos de Sementes de <i>Archontophoenix cf. cunninghamiana</i> , obtidos a partir de Extrações Aquosas e Alcalinas.....	47
II : Polissacarídeos de Sementes de <i>Butia eriospatha</i> , obtidos a partir de Extrações Aquosas e Alcalinas.....	48
III : Glicolípideos de Sementes de <i>Archontophoenix cf. cunninghamiana</i> , obtidos por g.l.c. e g.l.c.-ms.....	60
IV : Glicolípideos de Sementes de <i>Butia eriospatha</i> , obtidos por g.l.c. e g.l.c.-ms.....	61

9. FLUXOGRAMAS

01: Extrações Aquosas de <i>Archontophoenix cf. cunninghamiana</i>	42
02: Extrações Aquosas de <i>Butia eriospatha</i>	43
03: Extrações Alcalinas de <i>Archontophoenix cf. cunninghamiana</i>	44
04: Extrações Alcalinas de <i>Butia eriospatha</i>	45
05: Extrações dos Glicolípídeos de <i>Archontophoenix cf. cunninghamiana</i>	51
06: Extrações dos Glicolípídeos de <i>Butia eriospatha</i>	52

10. LISTA DE FIGURAS

01: Estrutura Genérica das Hemiceluloses.....	10
02: Estrutura Genérica de Galactomananas de Sementes.....	13
03: Estrutura Genérica de Lipídeos.....	21
04: Estrutura Genérica de Lipídeos.....	22
05: <i>Archontophoenix cf. cunninghamiana</i>	29
06: <i>Butia eriospatha</i>	30
07: Sementes de <i>Archontophoenix cf. cunninghamiana</i> e <i>Butia eriospatha</i>	31
08: Esquema da Partição pelo Método de Folch e Purificação em Coluna de Ácido Silícico dos Glicolípídeos.....	53
09: Frações C1, C1 superior, C2 e C3 da Purificação dos Glicolípídeos de <i>Archontophoenix cf. cunninghamiana</i> , através de uma coluna de adsorção.....	55
10: Frações CA 10%, CA 10% superior, CA 20%, CA 20% superior, CA 40%, CA 60%,	

CA 60% superior, A 100%, A 100% superior da Purificação dos Glicolípídeos de <i>Archontophoenix cf. cunninghamiana</i> , através de uma coluna de adsorção.....	55
11: Frações C1, C2 e C3 da Purificação dos Glicolípídeos de <i>Butia eriospatha</i> através de uma coluna de adsorção.....	56
12: Frações CA 10%, CA 20%, CA 20% superior, CA 40%, CA 40% superior, CA 60%, CA 60% superior, A 100%, A 100% superior, da Purificação dos Glicolípídeos de <i>Butia eriospatha</i> , através de uma coluna de adsorção.....	56
13: Cromatografia de Camada Delgada (tlc) dos Glicolípídeos de <i>Archontophoenix cf. cunninghamiana</i>	58
14: Cromatografia de Camada Delgada (tlc) dos Glicolípídeos de <i>Butia eriospatha</i>	58
15: Espectro de ¹³ C-NMR da Manana de <i>Archontophoenix cf. cunninghamiana</i> , em Óxido de Deutério (D ₂ O).....	50
11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

1. RESUMO:

O processo de isolamento dos polissacarídeos das sementes de *Archontophoenix cf. cunninghamiana* e *Butia eriospatha* iniciou-se com a separação de pigmentos e lipídeos, através de um extrator Soxhlet. O rendimento do extrato bruto lipídico foi de 8% (4g) para *A. cf. cunninghamiana* e 20% (10g) para *B. eriospatha*.

Foram realizadas extrações sequenciais aquosas (25°C, 60°C), para a retirada dos polissacarídeos hidrossolúveis, e alcalinas (NaOH 2N, 4N), obtendo hemiceluloses totais. Estas últimas, forneceram hemicelulose A (precipitado) e hemicelulose B (sobrenadante), pela acidificação do meio (pH 5,0).

Os rendimentos nas extrações aquosas foram menores que nas extrações alcalinas. As extrações aquosas apresentaram 0,30g% e 1,7g% para as espécies *Archontophoenix cf. cunninghamiana* e *Butia eriospatha*, respectivamente. Para *Archontophoenix cf. cunninghamiana*, destaca-se a fração obtida por extração aquosa a 60°C, que apresentou como unidade monossacarídica predominante a manose (93%). Esta fração foi submetida à espectrometria de ressonância nuclear magnética, caracterizando sua estrutura com uma cadeia principal de manopirranose com ligações glicosídicas do tipo β (1-4).

Na fração submetida à extração alcalina com NaOH 2N obteve-se um rendimento maior em *Butia eriospatha* (9g%) em comparação com *Archontophoenix cf. cunninghamiana* (2,6 g%). A fração NaOH 4N obteve 2,6g% e 12g%, respectivamente. Estas frações foram hidrolisadas, reduzidas, acetiladas e analisadas por cromatografia líquido-gasosa (g.l.c.), fornecendo uma mesma composição qualitativa em açúcares.

Considerando o elevado teor de lipídeos das sementes, partiu-se para uma análise dos compostos glicosilados deste material. Os extratos brutos lipídicos foram submetidos ao processo de partição de Folch, para a eliminação de compostos mais polares que são considerados contaminantes. Para *Archontophoenix cf. cunninghamiana*, o rendimento da fração inferior ou extrato lipídico foi de 0,8g (2 g%), e para *Butia eriospatha* 6g (13g%).

A seguir fez-se o fracionamento em coluna de ácido silícico para a separação das frações glicolípídicas, que foram analisadas por cromatografia em camada delgada (tlc). Após esta etapa, as frações foram submetidas à hidrólise, e a composição monossacarídica foi analisada na forma de alditol-acetato. A análise através de um espectrômetro de massa destas frações comprovou a presença de açúcares na fração lipídica, que contém: 95 % de glicerol (proveniente provavelmente da fração lipídica) e 5% de açúcares. Dentre estes estão: arabinose (4%), manose (38%), galactose (13%) e glucose(44%) para *A. cf.cunninghamiana* e para *B. eriospatha* 99% de glicerol e 1% de açúcares, como manose (18%), galactose (28%) e glucose (54%).

2. INTRODUÇÃO:

Nos vegetais superiores, as substâncias de reserva das sementes são formadas por polissacarídeos, e estes despertam grande interesse por parte das indústrias. Estes polissacarídeos são utilizados pelas plantas para o desenvolvimento do embrião, das gemas ou brotos, e podem também ser usados como recursos energéticos, que são armazenados pelos vegetais. O homem utiliza-se destes polissacarídeos para a obtenção de carbono, energia e matéria-prima, principalmente.

Tendo em vista a biodiversidade brasileira, muitas espécies vegetais têm sido estudadas com o objetivo da investigação dos polissacarídeos existentes em suas sementes. As espécies nativas estão sendo estudadas em particular por serem pouco conhecidas e mal elucidadas em suas prováveis funções terapêuticas ou medicinais, e outras propriedades que possam possuir com interesse industrial.

Além das espécies nativas, existem no Brasil, plantas exóticas que são cultivadas com objetivos econômicos, constituindo a principal fonte de matéria-prima para a produção de celulose e derivados, sendo por este motivo grande a estimulação de seu cultivo.

Dentre as espécies cultivadas e nativas, encontram-se plantas cujas sementes são ricas em óleo, proteínas e carboidratos.

Entre os compostos de reserva, os carboidratos têm grande importância pela sua abundância e a possibilidade de múltiplos usos. Estes podem ser usados, por exemplo, em alimentos para estabilizar sólidos, líquidos e dispersões gasosas. (57)

Os carboidratos podem ser polihidroxiketonas, polihidroxialdeídos, ou compostos que podem ser hidrolisados até estes compostos. Possuem funções de energia para o organismo, estrutura para as membranas das células e parede celular de plantas, servem como intermediários metabólicos, abrangem

grandes porções dos nucleotídeos na forma de DNA e RNA, fazem um papel na lubrificação, intercomunicação celular e imunidade. (46)

Os polissacarídeos podem ser quebrados em unidades menores, os monossacarídeos através de processos de hidrólise. Os monossacarídeos são encontrados normalmente livres em grandes quantidades nos extratos de plantas. A glucose e a frutose são normalmente os mais abundantes. Como os monossacarídeos têm um papel central no metabolismo, eles podem também ser encontrados como seus derivados fosforilados. (1, 3, 24)

Outros monossacarídeos tais como a manose, galactose, xilose, arabinose, ribose, apiose, ramnose, fucose, ácido glucurônico, ácido galacturônico e 2-acetamida-2- deoxiglucose podem também ser detectados, mas eles são geralmente encontrados glicosidicamente ligados na forma de oligo ou polissacarídeos ou glicoconjugados (glicolípídeos e glicoproteínas). (24)

Os polissacarídeos naturais incluem extratos de plantas marinhas, exudatos de plantas, extratos de sementes e raízes, e polissacarídeos de origem microbiana.

Entre os polissacarídeos semi-sintéticos incluem-se os derivados de celulose, os de pectina com baixo conteúdo em metoxil, alginato de propileno glicol, alginato de trietanolamina e derivado hidroxipropileno de goma de guar. (57)

Um dos mais importantes polissacarídeos de reserva vegetal é o amido. Ele está presente em grãos de cereais, sementes de Leguminosas e nas frutas. Porém existem outros que não são usados pelo homem como fonte energética, mas são ingredientes do processamento de alimentos ditos hidrocolóides, atuando como fibras naturais, como as hemiceluloses.

Frutanas, xiloglucanas e galactomananas compreendem polissacarídeos de reserva nas plantas, e são extraídos do tecido vegetal usando condições brandas. As frações polissacarídicas mais abundantes de plantas estão associadas com a parede celular e incluem, além da celulose, diversos polissacarídeos

tais como as glucanas, arabinoxilanas e arabinogalactanas. Muitos destes, juntamente com as pectinas, são parte da matriz amorfa da parede celular do vegetal. A extração destes polissacarídeos normalmente requer meio alcalino a quente (0,2 -4,0 N) para uma dissociação e solubilização eficiente da parede celular. (24)

As mananas são carboidratos encontrados nos vegetais na parede celular ou endosperma de sementes maduras de plantas e podem ter função estrutural ou de reserva. (51, 61)

Outros carboidratos são as galactomananas, que encontram-se principalmente no endosperma das sementes das famílias Mimosaceae, Fabaceae e Caesalpinaceae (antiga família Leguminosae), mas vários estudos demonstram sua presença nas famílias Arecaceae, Anonaceae, Rubiaceae e Convolvaceae. (18, 21, 23)

A importância comercial das galactomananas de sementes está na sua capacidade de modificar as propriedades reológicas das soluções, isto é, alterar as propriedades de fluxo, sendo assim usadas na indústria alimentícia e química em geral, como espessantes, emulsificantes e estabilizantes. (32, 34)

Dentre os biopolímeros constituintes de plantas, pode-se citar os glicolipídeos, que estão associados com a estrutura da membrana celular, conferindo maior estabilidade estrutural à membrana, melhor rigidez e melhoria no transporte transmembrana. Estas substâncias podem estar inseridas na membrana ou em sua superfície.

A existência destas características dos biopolímeros conduz à valorização das fontes naturais e ao desenvolvimento de métodos de análise físico-químicos e reológicos, que são relativamente pouco desenvolvidos a nível nacional, considerando as inúmeras aplicações crescentes no país. (32) Este é um trabalho que vem sendo desenvolvido pelo grupo de Química de Carboidratos Vegetais do Departamento de Bioquímica, há mais de vinte anos. (16, 31, 32, 33, 35, 36, 37, 52, 53, 54, 55, 56)

O presente trabalho apresenta estudos preliminares sobre a composição em carboidratos e glicolípideos de sementes da família Arecaceae.

2.1 HEMICELULOSES:

As hemiceluloses são moléculas neutras ou ácidas, com baixo peso molecular, com tamanho relativamente pequeno (pouco mais de 100 unidades de açúcar), e que ocorrem em tecidos de plantas, geralmente em associação íntima com a celulose e lignina em parede celular de raiz de plantas. (15, 27) Podem ser isoladas do material original ou deslignificados por extração alcalina. Em plantas terrestres, as principais unidades constituintes das hemiceluloses são as seguintes: D-xilose, D-manose, D-glucose, D-galactose, L-arabinose, ácido-4-O-metilglucurônico. Em menor quantidade estão: L-ramnose, L-fucose e açúcares neutros em menor proporção. (10)

Em função de sua composição, são classificadas como xilanas, mananas, galactanas, arabinogalactanas e galactomananas. (22, 63)

As hemiceluloses variam em quantidade e composição de planta para planta, de tecido para tecido. (51) A classificação acima citada deve-se às estruturas de suas cadeias: a) cadeias lineares com ligação glicosídica (1 → 4) como as xilanas e as mananas; b) cadeias ramificadas com ligação glicosídica (1 → 4) como as xiloglucanas e galactoglucomananas; c) cadeias com ligação (1 → 3) ; d) cadeias de pectina, com unidades de ácido galacturônico intercaladas com unidades de ramnose. (figura 01)

As angiospermas são caracterizadas pela ocorrência de uma O-acetil-(4-O-metilglucurono)xilana cuja proporção é em torno de 95%. (22)

A maioria das células vegetais apresenta um envoltório rígido (parede celular), que inclui os componentes que conferem à madeira sua rigidez e resistência característica. A parede celular é composta basicamente pelos polissacarídeos celulose, hemiceluloses e por lignina, os quais representam quase a totalidade dos constituintes da parede celular. (22)

A composição e proporção destes constituintes variam dentro do mesmo vegetal com o estágio de desenvolvimento e com as várias partes morfológicas. (22)

As hemiceluloses podem assumir funções estruturais e também outras funções biológicas. Muitos aspectos do crescimento e desenvolvimento das plantas dependem de modificações na estrutura da parede celular. (30, 51) Elas têm um papel importante na regulação da estrutura das paredes celulares por influenciar os modelos de agregação com a celulose no nível mais elementar durante a biogênese da parede celular. (4) São depositadas simultaneamente com a celulose durante a biogênese da parede celular e com as mudanças na matriz hemicelulósica no curso do desenvolvimento, tanto que a concentração final das hemiceluloses específicas varia de uma parede delgada para uma parede diferenciada. (4)

Celuloses e hemiceluloses são as mais abundantes matérias orgânicas renováveis do mundo. Elas estão presentes em plantas terrestres em quantidades consideráveis. Plantas vivas apresentam cerca de 6×10^{11} toneladas de hemicelulose e cerca de 3×10^{10} toneladas são fotossintetizadas anualmente por plantas terrestres superiores para construir um terço de seu peso seco (com exceção os frutos, as sementes e os tubérculos). (64)

Em geral as hemiceluloses ligam-se à lignina, que é um polímero importante pelas suas características que conferem rigidez e resistência aos tecidos vegetais, além de impedir o colapso do sistema vascular vegetal. Na parede celular, as hemiceluloses formam um gel aquoso em um feixe de moléculas de celulose (microfibrilas), e são encaixadas em orientações regulares ou irregulares. (64)

Podem ser classificadas como fibrosas, compactadas ou cristalinas, onde assumem funções estruturais; ou como gel compactado nas paredes celulares em crescimento, com importantes funções biológicas. (10)

Entre os múltiplos usos das hemiceluloses estão os de modificar as propriedades da água, para estabilização de espuma, flotação, gelação, lubrificação, emulsificação de óleo em água e água em óleo, produção de suspensões. Elas desenvolvem muitos dos papéis de gomas naturais, sintéticas e mucilagens. (64)

São atóxicas e podem ser usadas para realçar a qualidade dos alimentos e bebidas, e para influenciar seu beneficiamento. É utilizada em uma grande variedade de indústrias onde a água é usada, algumas vezes como aditivos, mas frequentemente as hemiceluloses estão simplesmente presentes. (64)

As hemiceluloses afetam as características de moagem de grãos de cereais e as propriedades reológicas de qualquer substância em estado pastoso, e seu comportamento durante o cozimento. (64)

As pastagens como alimentos animais podem ser substituídas por hemiceluloses de madeira pré-tratadas. Além disso, podem influenciar no malte, na fabricação de cerveja e no processamento de alimentos, nos quais estão presentes e afetam a qualidade e textura dos produtos comercializados. (64)

2.2 MANANAS:

As mananas são carboidratos encontrados nos vegetais na parede celular ou endosperma de sementes maduras dos vegetais e podem ter função estrutural ou de reserva. (51, 61) Estas são particularmente importantes como componentes principais de sementes e tubérculos.

As mananas de fontes vegetais apresentam cadeias lineares de unidades β -D-manose unidas por ligações glicosídicas do tipo (1 \rightarrow 4). Mananas β -D-(1 \rightarrow 4) também são encontradas como constituintes da parede celular de muitas algas. (51)

As mananas mais conhecidas aparecem nas sementes da família Arecaceae (61). Na fase de germinação, estes carboidratos de reserva desaparecem do endosperma.

Por razões termodinâmicas, uma β -D-(1 \rightarrow 4) manana, em solução, deve adotar uma conformação do tipo “fita estendida”. Tais polissacarídeos são caracterizados pela eficiência de suas pontes de hidrogênio e concomitante perda de solubilidade em água. (51)

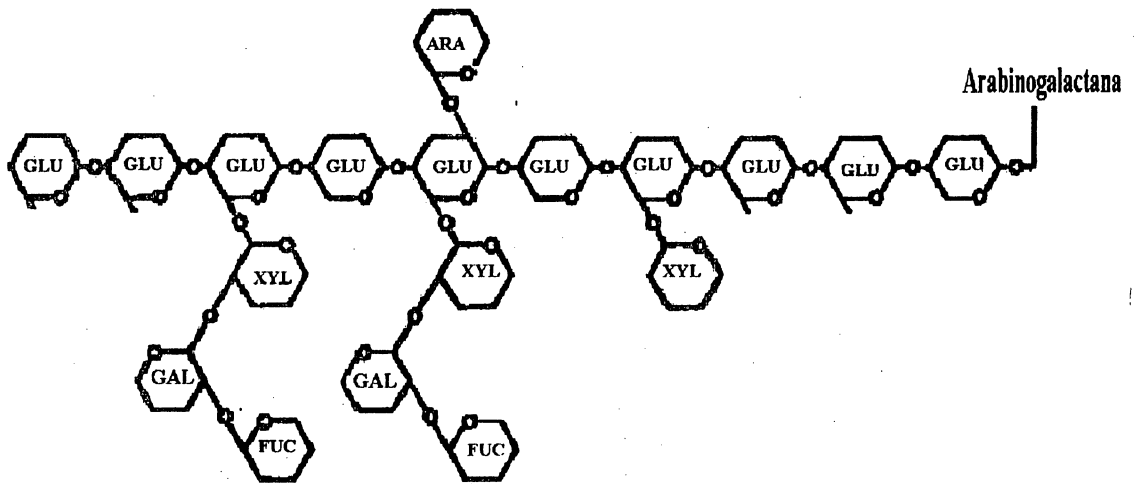
A primeira manana vegetal a ser estudada foi a do endosperma da palmeira Tagua Palma (*Phytelephas macrocarpa*), comumente referida como marfim vegetal. Esta palmeira é nativa da América do Sul, e suas sementes são constituídas quase que inteiramente de endosperma.

A constituição do endosperma das sementes desta palmeira foram estudadas por Reiss, e publicadas em 1889. (51) O principal componente em açúcar verificado após hidrólise era a manose. Posteriormente, com extração alcalina mostrou-se que o polissacarídeo era uma manana.

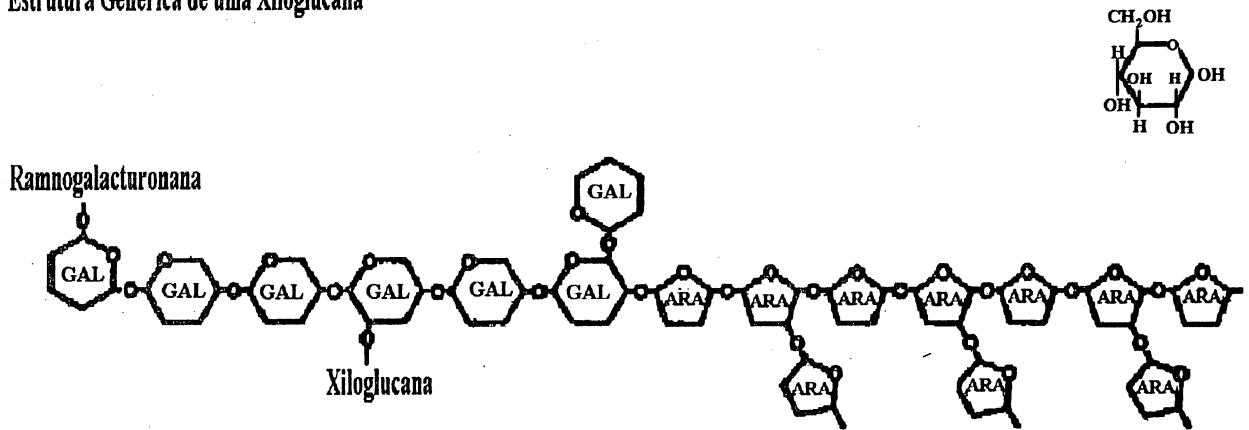
O endosperma das sementes verdes de algumas espécies da família Arecaceae apresenta galactomanana, enquanto que nesta mesma família, as sementes maduras são constituídas de mananas, contendo apenas uma pequena proporção de unidades de galactose. Para alguns autores, isto pode sugerir que a maior parte das unidades de galactose seja removida durante o processo de maturação das sementes, resultando em uma parede celular menos suscetível ao inchamento e dissolução em água.

Foi investigada a composição das sementes das palmeiras *Iriarteia ventricosa*, *Phoenix caraniensis* e *Hyphaene thebaica*, e foi constatada a presença de β -D-(1 \rightarrow 4) manana. O polissacarídeo bruto isolado do endosperma de *Phoenix dactylifera* contém 90% de manose. (51)

Figura 01: Estrutura Genérica das Hemiceluloses



Estrutura Genérica de uma Xiloglucana



GLU: glucose, XYL: xilose, GAL: galactose, FUC: fucose, ARA: arabinose.

Mc Cleary e Matheson citam a obtenção de uma manana das sementes de *Archontophoenix cunninghamiana*, cuja hidrólise fornece apenas manose. (50)

2.3 GALACTOMANANAS:

As galactomananas são carboidratos que encontram-se principalmente no endosperma das sementes das famílias Mimosaceae, Fabaceae e Caesalpinaceae, mas vários estudos têm demonstrado a presença destes polissacarídeos em espécies das famílias Arecaceae, Anonaceae, Rubiaceae e Convolvaceae. (18, 21, 23)

Estas depositam-se durante o desenvolvimento da semente na parede celular do endosperma. (20)

O endosperma das sementes verdes de algumas espécies da família Arecaceae contém galactomananas, ao passo que, as sementes maduras de todas as espécies estudadas desta família consistem de mananas contendo apenas uma pequena proporção de unidades de galactose.

Galactomananas são mananas contendo mais de 5% de unidades de D-galactose. O grau de substituição normalmente varia de acordo com a fonte do carboidrato. (48)

As galactomananas de sementes apresentam geralmente uma cadeia principal de unidades D-manopiranoses unidas por ligações $\beta(1\rightarrow4)$ com substituições na posição 6 por grupos α -D-galactopiranoses. Devido a sua estrutura, as galactomananas são hidrofílicas e formam soluções mucilaginosas de alta viscosidade. (31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 52, 53, 54, 55, 56)

As galactomananas têm grande importância na indústria alimentícia, química e também é utilizada em outras indústrias como a de explosivos.

Na indústria alimentícia, as galactomananas são largamente utilizadas na fabricação de sorvetes e sobremesas geladas, pois controlam o crescimento de cristais de gelo, e com isto conferem resistência e conduzem a texturas mais homogêneas. Na fabricação de sopas, molhos e iogurtes têm função espessante, e na fabricação de queijos, é utilizada para a retenção de água, diminuindo a sinerese. (48)

Devido as suas propriedades terapêuticas na redução do colesterol, e das concentrações de insulina e glucose, são utilizadas em produtos dietéticos para a substituição parcial do amido. (48)

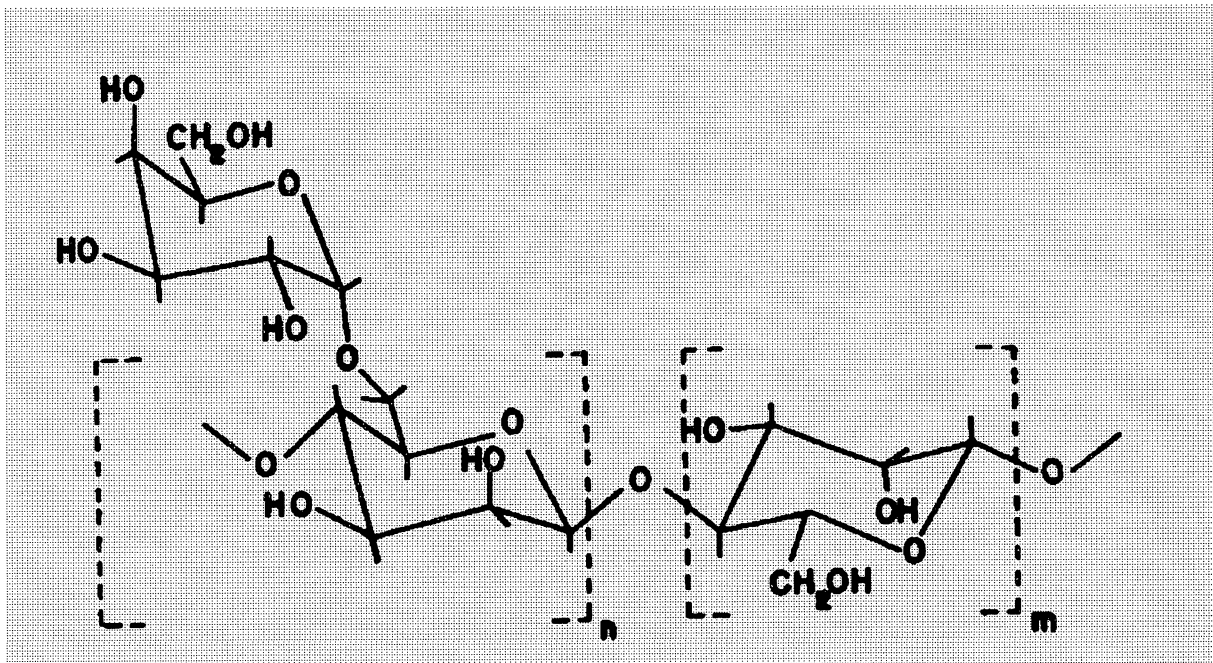
Na indústria química, as galactomananas são empregadas como agentes emulsificantes, espessantes e estabilizantes, principalmente na fabricação de xampus, loções e cremes em geral. (48)

No mercado mundial, as galactomananas são provenientes de duas espécies vegetais cultivadas principalmente nos Estados Unidos, como a *Cyamopsis tetragonolobus* (guar) e a *Ceratonia siliqua* (alfarrobeiro, carob ou locust bean) rendendo milhões de dólares a este país. (60)

No Brasil, toda a galactomanana utilizada nas indústrias nacionais é importada dos Estados Unidos, principalmente.

A diversidade da flora brasileira, e a importância cada vez mais crescente deste biopolímero, motivou a investigação de fontes de galactomananas de espécies nativas, pelo Grupo de Química de Carboidratos Vegetais da UFPR, que há mais de vinte anos vem empregando esforços nesta linha de pesquisa, com estudos de sementes de *Mimosa scabrella* (bracatinga) principalmente, e *Striphnodendron barbatiman* (barbatimão), *Schizolobium parahybum* (guapuruvu), e *Schizolobium amazonicum* (pinho cuiabano).

Figura 02: Estrutura Genérica de Galactomananas de Sementes



2.4 LIPÍDEOS:

São compostos que ocorrem frequentemente na natureza. Encontram-se em lugares tão diversos quanto a gema do ovo e o sistema nervoso de animais em geral. Em plantas, animais e membranas microbianas, são importantes componentes. (9) (figura 03 e 04)

A definição de um lipídeo é baseada na solubilidade. São marginalmente solúveis em água, e solúveis em solventes orgânicos apolares tais como clorofórmio, acetona, éter e benzeno. Gorduras e óleos são lipídeos típicos em termos de suas solubilidades, mas este fato não define sua natureza química.

Em termos químicos, são uma mistura de compostos que compartilham algumas propriedades baseadas nas similaridades estruturais, principalmente uma preponderância de grupos apolares. De acordo com a natureza química, dividem-se em dois grupos principais: um grupo, que consiste nos compostos de cadeia aberta com grupos de cabeça polar e uma longa calda apolar, incluindo ácidos graxos, triacilgliceróis, esfingolipídeos, fosfoacilgliceróis e glicolipídeos. (9, 19)

Há várias classes de lipídeos e cada uma possui funções biológicas específicas. Entre as classes de lipídeos estão os triacilgliceróis, ceras, fosfoglicerídeos, esfingolipídeos, esteróis e seus ésteres de ácido graxo. (45)

Os ácidos graxos são unidades fundamentais da maioria dos lipídeos. São ácidos orgânicos de cadeia longa, possuindo de 4 a 24 átomos de carbono. Eles possuem um grupo carboxila único e uma cauda hidrocarbonada não polar, que confere a natureza oleosa, gordurosa e insolúvel em água da maioria dos lipídeos. (45)

Estes não ocorrem nas células ou tecidos numa forma não combinada ou livre, mas em formas covalentemente ligadas a diferentes classes de lipídeos, a partir dos quais eles podem ser liberados por hidrólise química ou enzimática.

Muitos tipos diferentes de ácidos graxos têm sido isolados de lipídeos de várias espécies. Eles diferem entre si pela extensão da cadeia e a presença, número e posição de duplas ligações. (45)

Praticamente todos os ácidos graxos na natureza possuem um número par de átomos de carbono, e em geral, são mais abundantes os com 16 ou 18 carbonos. (45)

A longa cadeia hidrocarbonada pode ser totalmente saturada, conter apenas ligações simples, ou pode ser insaturada, com uma ou mais duplas ligações. Em geral, a quantidade de ácidos graxos insaturados, tanto nos lipídeos animais quanto em vegetais, é duas vezes a quantidade de ácidos graxos saturados. (45)

Os ácidos graxos ocorrem principalmente em plantas na forma de ligação esterificada ao glicerol. Estes lipídeos compreendem mais de 7% do peso em deposição nas plantas superiores, e são importantes constituintes de membrana em cloroplastos e mitocôndrias. Podem ocorrer consideravelmente em sementes ou frutas de um grande número de plantas, e provêm uma forma de armazenamento de energia usada durante a germinação.

Os lipídeos mais simples e abundantes, que contêm os ácidos graxos como unidades fundamentais, são os triacilgliceróis, também chamados de gorduras, gorduras neutras ou triglicerídeos. Os triacilgliceróis são ésteres do álcool glicerol com três moléculas de ácidos graxos. São os componentes principais de armazenamento de gorduras nas células de plantas e animais, com moléculas hidrofóbicas e não polares, pois não contêm grupos funcionais eletricamente carregados ou altamente polares. (45)

Os triacilgliceróis podem ser simples (com um único tipo de ácido graxo em todas as posições), como por exemplo a triestearina, tripalmitina e a trioleína, ou mistos (com 2 ou mais ácidos graxos diferentes), como o óleo de oliva, manteiga e a maioria das gorduras naturais. (45)

Os triacilgliceróis com os ácidos graxos saturados são sólidos, gordurosos e brancos à temperatura ambiente, enquanto que os triacilgliceróis com ácidos graxos insaturados são líquidos à temperatura ambiente. (45)

Os óleos de sementes de plantas tais como a oliveira, palmáceas, coco e amendoim são explorados comercialmente e usados como óleos comestíveis, para a manufatura de sabão e na indústria cosmética. (13, 38, 43)

Outros óleos de sementes têm sido estudados com o intuito de investigar a constituição lipídica dos mesmos.

A semente do Adlay (*Coix lacryma Jobi* L.) contém 96,38% de lipídeos neutros, principalmente triglicerídeos (88,17%), glicolipídeos e fosfolipídeos, após um fracionamento em coluna de florisil tratada com ácido. (26)

Dehesh, estudando duas tioesterases do DNA de *Cuphea palustris* no sistema de síntese do ácido graxo do óleo da semente, demonstrou que este apresenta um grupo de acil-graxos não usuais: miristato (64%) e caprilato (20%). Este resultado indica que ambos os ácidos são sintetizados nas mesmas células e ao mesmo tempo, em todos os estágios de desenvolvimento durante a deposição deste óleo. Isto indica que as tioesterases agem juntas no mesmo sistema de síntese do ácido graxo. (21)

A semente de milho contém ácidos graxos insaturados que localizam-se no embrião e no pericarpo. Dentre estes ácidos graxos estão o ácido linoléico (35%) e ácidos graxos totais (55%) (44)

A composição lipídica e características dos óleos da semente de *Perilla frutescens* (L. Britt) foram estudadas e os lipídeos totais variam entre 39% e 48% do peso seco básico da semente. Os lipídeos consistem em 91,2% a 93,4% de lipídeos neutros; 3,9% a 5,8% de glicolipídeos e 2,0% a 3,0% de fosfolipídeos. Dos lipídeos neutros, a maioria é de triacilgliceróis 88,1% a 91,0% e pequenas quantidades de ésters de esteroi, hidrocarbonetos, ácidos graxos livres, esteróis livres e glicerídeos parciais. Entre os glicolipídeos, 48,9% a 53,2% são esterilglicosídeos esterificados e 22,1% a 25,4% são esterilglicosídeos, e em menores quantidades estão os monogalactosildiácilgliceróis e os digalactosildiácilgliceróis. Dentre os fosfolipídeos, as fosfatidilcolinas são as mais abundantes (17,6% a 20,6%), e em pequenas quantidades estão o ácido fosfatídico, lisofosfatidilcolina, fosfatidilserina e fosfatidilinositol. Os maiores ácidos graxos foram linolênico (61,6% a 64%), linoléico (14,3% a 17,0%) e ácido oléico (13,2% a 14,9%). (58)

A extração de óleos vegetais de fontes de plantas fornecem materiais polares, tecnicamente chamados lecitinas, como produtos no processo de secreção de resinas. Os produtos comerciais de lecitinas dominantes vêm do processamento de sojas, que contêm fosfolipídeos como principais constituintes. (5, 62)

Os lipídeos totais contidos nas sementes de *Withania somnifera*, *Phoenix sylvestris* e *Indigofera emualphylla* foram detectados e apresentavam as seguintes proporções: 14,0% , 10,2% e 4,4% , respectivamente. Os lipídeos neutros compreendem 87,7% a 90,2%, glicolipídeos 5,8% a 7,3% e fosfolipídeos 3,6% a 5,0% . Os lipídeos neutros são principalmente triglicerídeos (87,0% a 88,5%), e pequenas quantidades de monoacilgliceróis, diácilgliceróis, ácidos graxos livres, esteróis livres, ésteres de esteroi e hidrocarbonetos. Os glicolipídeos predominantes são os digalactosilgliceróis e

esterilglicosídeos acilados. Há pequenas quantidades de esterilglicosídeos e monogalactosilgliceróis. Os ácidos graxos mais abundantes para as três espécies são o ácido palmítico e ácido oléico. (7)

As gorduras de plantas, diferente das gorduras animais, são ricas em ácidos graxos insaturados e existe evidência que alguns destes possam ser essenciais na dieta alimentar. (40)

As ceras são ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, saturados e insaturados (tendo a partir de 14 até 36 ou mais átomos de carbono) como álcoois de cadeia longa (tendo 16 a 22 átomos de carbono).

Muitas folhas de plantas tropicais são cobertas por uma camada de cera, que as protege contra os parasitas e previne uma evaporação excessiva de água, além de conferir a aparência brilhante por um reflexo de suas camadas. (45) As ceras são utilizadas geralmente em pomadas, loções e substâncias para dar lustro.

Os lipídeos neutros (triacilgliceróis, ceras e pigmentos) são extraídos dos tecidos com éter etílico, clorofórmio ou benzeno, solventes nos quais não ocorre a formação de agregados lipídicos provocados por interações hidrofóbicas.

Os lipídeos de membrana são extraídos mais efetivamente pelos solventes orgânicos com características mais polares, como o etanol ou o metanol, pois eles não só reduzem as interações hidrofóbicas entre as moléculas lipídicas, mas também enfraquecem as pontes de hidrogênio e as interações eletrostáticas que ligam os lipídeos da membrana às proteínas da membrana. Uma mistura líquida de extração frequentemente empregada é a constituída por proporções miscíveis de clorofórmio: metanol: água.

O uso industrial dos lipídeos polares tem sido restrito principalmente aos fosfolipídeos de lecitinas de plantas ou de gema de ovo. (5)

Há várias classes de lipídeos de membranas. Eles diferem dos triacilgliceróis por possuírem um ou mais grupamentos altamente polares, “cabeças”, além de suas caudas hidrocarbonadas. (45)

Os lipídeos de membrana mais abundantes são os fosfolipídeos, que servem como elementos estruturais das membranas. Como seu nome sugere, este grupo de lipídeos contém fósforo na forma de grupos de ácido fosfórico.

Os principais fosfolipídeos encontrados nas membranas são os fosfoglicerídeos, que contém 2 moléculas de ácido graxo esterificadas ao primeiro e segundo grupos hidroxilas do glicerol. O terceiro grupo hidroxila do glicerol forma uma ligação éster com o ácido fosfórico. Além disso, eles contém um segundo álcool, que também é esterificado a ácido fosfórico. (45)

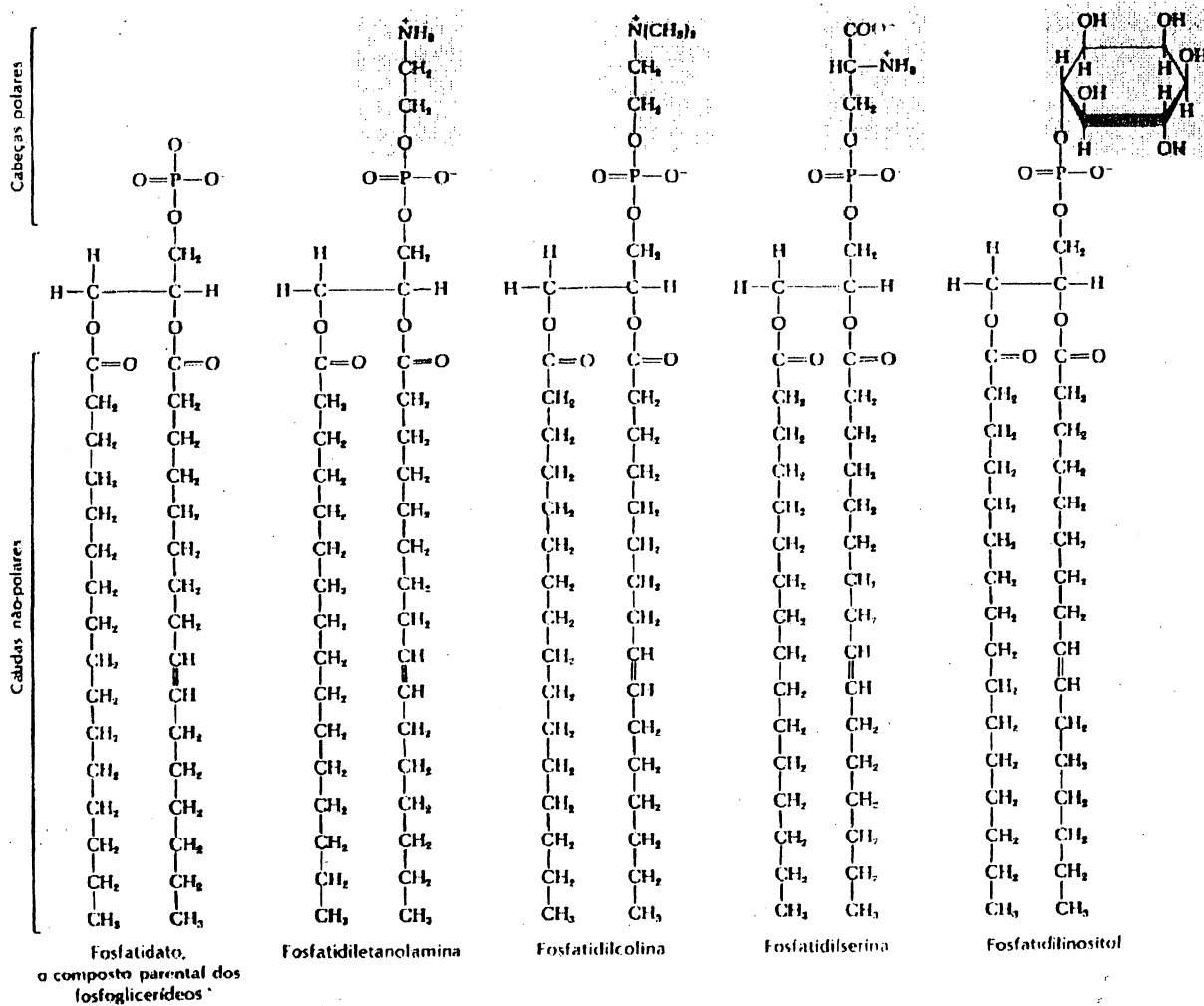
Os fosfolipídeos são lipídeos polares, e possuem uma estrutura complexa, contendo não somente um grupo fosfato, mas também um grupo substituinte. Este resíduo básico pode ser a colina, etanolamina ou a serina. Em adição, existem fosfolipídeos com dois ou mais resíduos de glicerol ou com inositol em lugar de uma base orgânica. (6)

Os fosfoglicerídeos mais abundantes são: fosfatidiletanolamina e fosfatidilcolina, que contém respectivamente os álcoois etanolamina e colina nas suas cabeças polares. Outros fosfoglicerídeos incluem fosfatidilserina e fosfatidilinositol, com os álcoois serina e inositol, respectivamente. A cardiolipina, encontrada na membrana interna da mitocôndria, difere do resto porque possui um fosfoglicerídeo duplo. (45)

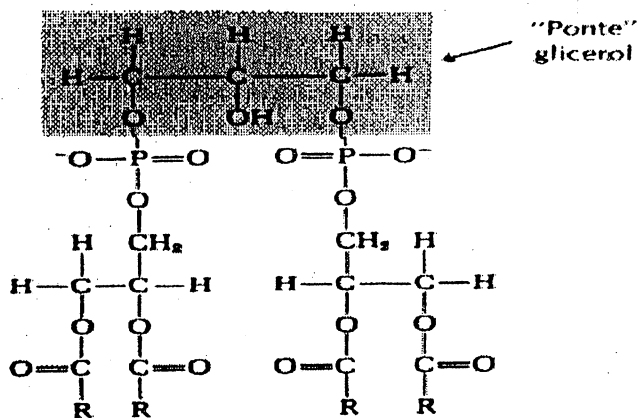
Outra classe de lipídeos são os esfingolipídeos, que possuem uma cabeça polar e duas caudas não polares, mas não contém glicerol. Compõem-se de uma molécula de ácido graxo de cadeia longa, uma molécula de aminoálcool de cadeia longa, em geral esfingosina ou um de seus derivados, e uma cabeça polar alcoólica. (45)

Os esteróides são moléculas complexas, solúveis em gorduras, com quatro anéis fundidos. Os esteróides mais abundantes são os esteróis, que são álcoois de esteróides. O colesterol é o principal esterol nos tecidos animais. Ele e seus ésteres com ácidos graxos de cadeias longas são componentes importantes das lipoproteínas plasmáticas e da membrana celular externa. (45)

Todavia, a extração de lipídeos oriundos de plantas tais como os cereais, é em muitos casos resultante uma fração lipídica polar com um alto teor de glicosilglicerídeos, monogalactosildiglicerídeos (MGal DG) e digalactosildiglicerídeos. (DGal DG)

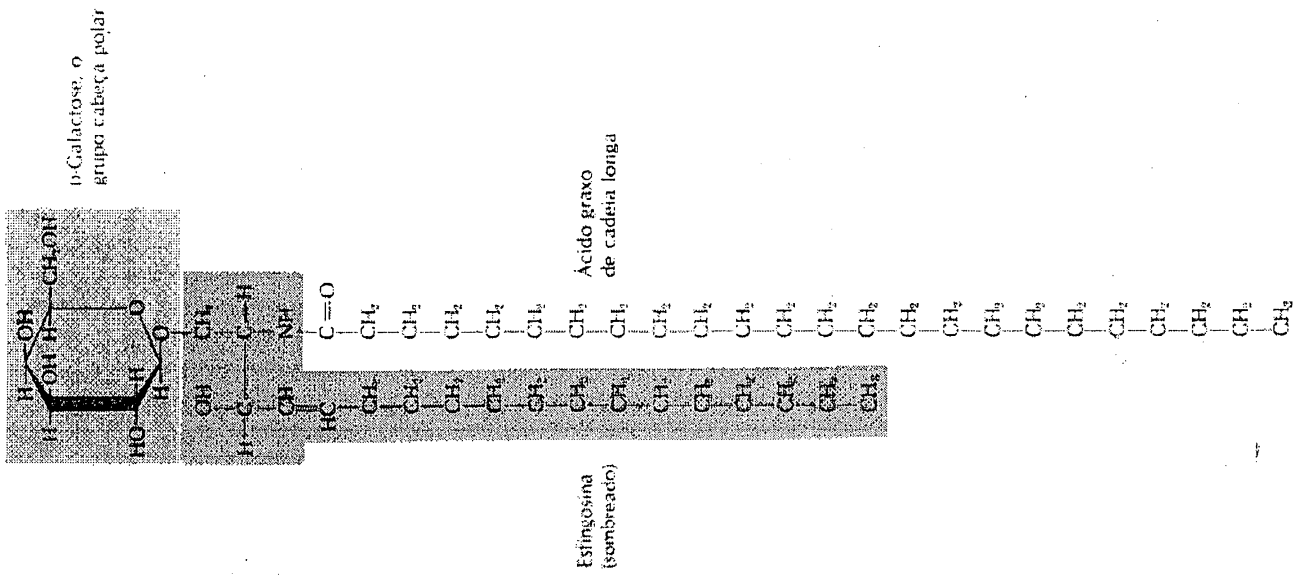


Estrutura dos Fosfoglicerídeos mais Comuns.

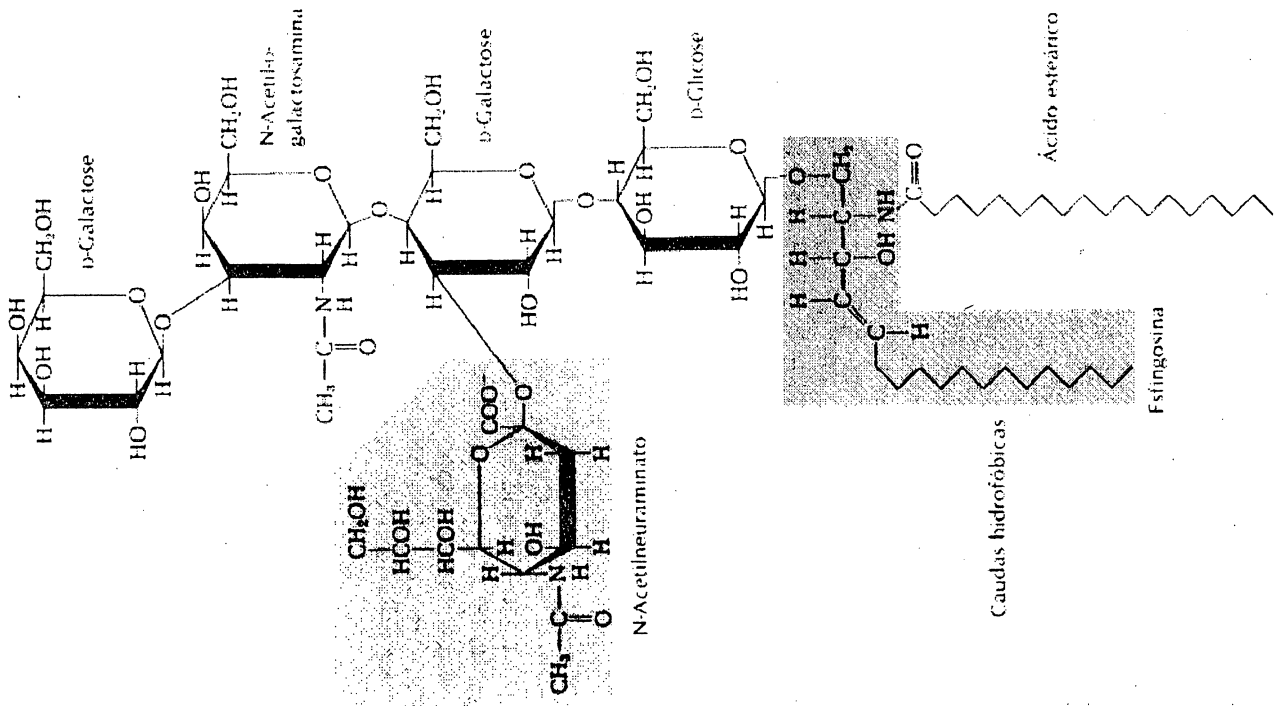


Estrutura de uma Cardiolipina.

Figura 04: Estrutura Genérica de Lipídeos



Estrutura de um Galactocerebrosídeo.



Estrutura de um Gangliosídeo.

2.5 GLICOLIPÍDEOS:

Os glicolipídeos estão associados com a estrutura da membrana celular e conferem maior estabilidade estrutural à membrana, melhor rigidez e melhoria no transporte transmembrana. Estas substâncias podem estar inseridas na membrana ou em sua superfície. São compostos que contêm uma ou mais unidades monossacarídicas associadas, através de uma ligação glicosídica, a lipídeos. São componentes de membranas de plantas e especialmente de tecidos fotossintéticos. (8, 11)

São lipídeos polares presentes na membrana, e classificam-se em glicoesfingolipídeos (ou glicosil diglicerídeos), e compostos relacionados, de acordo com a sua porção lipídica. Estes podem denominar-se também glicoconjugados, constituintes de estruturas como o plasmalema, mitocôndria, retículo endoplasmático e cloroplastos. Acredita-se que os oligossacarídeos complexos façam o papel de interação célula a célula. (19)

A porção carboidrato (glico) é composta por cadeias de oligossacarídeos que são frequentemente ramificadas, e podem também carrear grupos. Esta porção é a estrutura exata que confere a especificidade biológica para um glicolipídeo em particular.

Os esfingolipídeos possuem uma cabeça polar e duas caudas não polares, mas não contêm glicerol. São compostos por uma molécula de ácido graxo de cadeia longa, uma molécula de aminoálcool de cadeia longa, a esfingosina ou um de seus derivados, e uma cabeça polar alcoólica. (45)

A esfingosina é o componente ancestral de muitos aminoálcoois de cadeia longa encontrados em diferentes esfingolipídeos.

Nos esfingolipídeos, o grupo da cabeça polar está ligado ao grupo hidroxila da esfingosina, e o componente ácido graxo forma uma ligação amida com o grupo amino. (45)

Há três subclasses de esfingolipídeos: esfingomielinas, cerebrosídeos e gangliosídeos.

As esfingomielinas contêm fósforo, mas as outras não. São os esfingolípídeos mais simples e abundantes. Elas contêm fosfocolina ou fosfoetanolamina como grupos cabeça polar, e estão presentes na bainha de mielina das células nervosas, mas não são consideradas como glicolípídeos, por não apresentarem açúcares ligados ao grupamento aminoálcool. (45)

Os cerebrosídeos não contêm fósforo e não possuem carga elétrica, sendo seus grupos cabeça polar neutros. Como o grupo cabeça consiste de uma ou mais unidades de açúcar, os cerebrosídeos são frequentemente chamados de glicoesfingolípídeos ou glicolípídeos, e são encontrados nas membranas celulares do cérebro (galactocerebrosídeos) ou nas membranas de tecidos não neurais (glicocerebrosídeos). (45)

Os glicoesfingolípídeos são compostos por três unidades estruturais básicas: uma longa cadeia hidrocarbonada, que serve de base (base esfingóide), um ácido graxo e um monossacarídeo ou um oligossacarídeo. A porção lipofílica é denominada ceramida, e é composta pela base e o ácido graxo.

A porção glicídica dos glicoesfingolípídeos pode variar em sequência e em número das suas unidades constituintes, e na posição e configuração anomérica das ligações glicosídicas. Em consequência disto, apresentam a forma de longas cadeias lineares ou ramificadas.

A base de cadeia longa e o ácido graxo que compõe a porção ceramida dos glicoesfingolípídeos podem variar de acordo com o comprimento e com a insaturação da cadeia hidrocarbonada, e com o nível de hidroxilação e ramificação destas cadeias. Por exemplo, em animais a base é normalmente a esfingosina ou a dehidroesfingosina, mas em vegetais a base é a fitoesfingosina e a dehidrofitoesfingosina. Os ácidos graxos de cadeia poliinsaturada predominam em vegetais. (49)

Os glicolípídeos mais simples são os cerebrosídeos (glico ou galacto-cerebrosídeo), e são sintetizados pela transferência de um monossacarídeo do nucleotídeo apropriado para o grupo hidroxila C-1 de uma ceramida, que é o componente lipídico de todos os glicoesfingolípídeos, apresentando

somente uma ose, glucose ou galactose. Frequentemente as ceramidas são os compostos pais dos glicolipídeos, e a ligação glicosídica é formada entre o grupo de álcool primário da ceramida e um resíduo de açúcar. O composto resultante é chamado cerebrosídeo. (9, 59)

A adição posterior de monossacarídeos dos nucleotídeo-açúcares produz glicolipídeos mais complexos, com 2, 3, 4 ou mais açúcares em ligação glicosídica. Os mais complexos, tais como os gangliosídeos, contêm uma cadeia ramificada de até 7 oses. (57)

Os gangliosídeos são os esfingolipídeos mais complexos, com cabeças polares muito grandes feitas de unidades de açúcar. São também considerados glicolipídeos, e perfazem cerca de 6% dos lipídeos de membranas da massa cinzenta do cérebro, mas são encontradas também em membranas de tecidos não neurais, embora em menor quantidade. (45)

São componentes importantes de sítios receptores específicos na superfície das membranas celulares, como nas extremidades nervosas, aos quais ligam-se as moléculas dos neurotransmissores durante a transmissão química do impulso nervoso de uma célula à outra. (45)

Os gangliosídeos são lipídeos encontrados em grandes concentrações no sistema nervoso, membranas plasmáticas de todos os tecidos de vertebrados e de algumas sementes de plantas. No entanto, a função biológica destes glicolipídeos não é claramente conhecida. (65) São importantes na regulação de processos biológicos como o crescimento celular e diferenciação.

Outros gangliosídeos são muito expressivos como antígenos em várias células cancerosas, podendo ser usados também em imunoterapia.

Recentemente alguns gangliosídeos e seus derivados sulfatados tem sido relatados para mostrar a atividade antiviral no vírus 1 da AIDS (HIV-1), e podem também ser utilizados no diagnóstico e tratamento de várias doenças humanas. (5)

Em contraste com os numerosos tipos de fosfolipídeos em plantas, existem somente poucos glicolipídeos. Os mais importantes são os monogalactosildiglicerídeos e os digalactosildiglicerídeos, com moléculas altamente surfactantes que desempenham um papel no metabolismo do cloroplasto. (40)

Os glicolipídeos também são encontrados em sementes, principalmente os fosfatidiletanolamina, digalactosildiglicerídeos e os glicerídeos. (42)

Galactolipídeos têm sido isolados de uma ampla variedade de plantas, utilizando métodos tais como a extração em fase sólida (SPE), cromatografia em camada delgada (TLC) e separação em coluna de DEAE celulose. Entre as fontes vegetais normalmente investigadas estão o arroz, centeio, trigo, espinafre, alfafa, milho, folhas de cevada, tubérculos de batata, raízes de milho, soja, folhas de batata, folhas de tabaco, *Chlorella pyrenoidosa*, *Dunaliella salina*, *Chlamydomonas reinhardtii* e *Aquilegia alpina*. (5)

Finalmente existe um sulfolipídeo, que é um diglicerídeo com o açúcar quinovose ligado. A quinovose é uma 6-deoxiglucose com um resíduo de ácido sulfônico na posição 6. Foi descoberto primeiramente em algas verdes, e parece ser universal em plantas como um componente essencial do cloroplasto. (40)

Muitos glicoconjugados possuem funções estruturais, revestem as superfícies celulares e seus carboidratos podem participar de uma variedade de fenômenos celulares, incluindo crescimento, adesão, transformação, fertilização e endocitose.

Um número de problemas gerais são associados com a análise dos glicolipídeos. Durante o isolamento e a separação, cuidados devem ser tomados para garantir que a remoção ou migração dos substituintes lábeis não ocorra.

Considerando as inúmeras espécies de palmáceas exploradas comercialmente, torna-se necessária a busca de polissacarídeos e glicolípídeos em fontes alternativas. Neste aspecto, *Archontophoenix cf. cunninghamiana* e *Butia eriospatha*, foram estudadas.

2.6 *Archontophoenix cf. cunninghamiana*:

Sinonímia Botânica: *Ptychosperma elegans* Bl., *Seaforthia elegans* R Br.

A espécie exótica *Archontophoenix cf. cunninghamiana* (Wendl. et Drude) é uma palmeira com altura variando entre 4 a 12 metros, apresenta um espique rijo, um pouco mais grosso na base, com 18 a 30 cm de grossura, anelado. Seus frutos são escamosos, de cor púrpura e esféricos. (17, 41, 47)

Esta planta é originária da Austrália Setentrional, dos estados de Queensland e New South Wales, e é muito comum em parques e jardins brasileiros (Anhangabau- SP).

Segundo a etimologia do gênero e da espécie, do grego *Archon* (Archontos) significa o chefe, o principal, e *Phoenix* significa palmeira. Podemos interpretar o nome deste gênero como palmeira rainha ou palmeira majestosa. O significado de *cunninghamiana* esta na homenagem feita a Allan Cunningham (1791-1839), colecionador britânico na Austrália.

Apresenta como nomes vulgares: Palmeira-Real-da-Austrália-de-Cunningham, Palmeira de Cunningham, Piccobeem Palm (Austrália). (17)

2.7 *Butia eriospatha*:

Sinonímia Botânica: *Cocos eriospatha* (Mart ex. Drude), *Cocos blumenaria* Hort., *Syagrus eriospatha* (Mart ex. Drude).

A espécie *Butia eriospatha* (Mart ex. Drude) é uma árvore nativa do Brasil, apresenta um espique de até 5 metros de altura, folhas com aproximadamente 3 metros de comprimento ou mais, dispostas em espiral . Seu fruto é uma drupa oblonga, amarela, contendo uma semente e uma amêndoa branca e oleaginosa. (17, 41, 47) É uma planta campestre, que vegeta em grandes grupos, e sua ocorrência se dá nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, em campos do planalto.

Esta espécie apresenta os seguintes nomes vulgares: Butiá, Butiá da Serra, Butiá Veludo, Butiá Branco, Butiá Azedo. (47)

De acordo com a fenologia, esta planta floresce durante os meses de outubro a janeiro, e os frutos amadurecem nos meses de janeiro a março. (47)

O fruto carnoso do Butiá é muito utilizado como matéria-prima em bebidas como vinhos e licores. (17)

Figura 05: *Archontophoenix cf. cunninghamiana*



Figura 06: *Butia eriosphata*

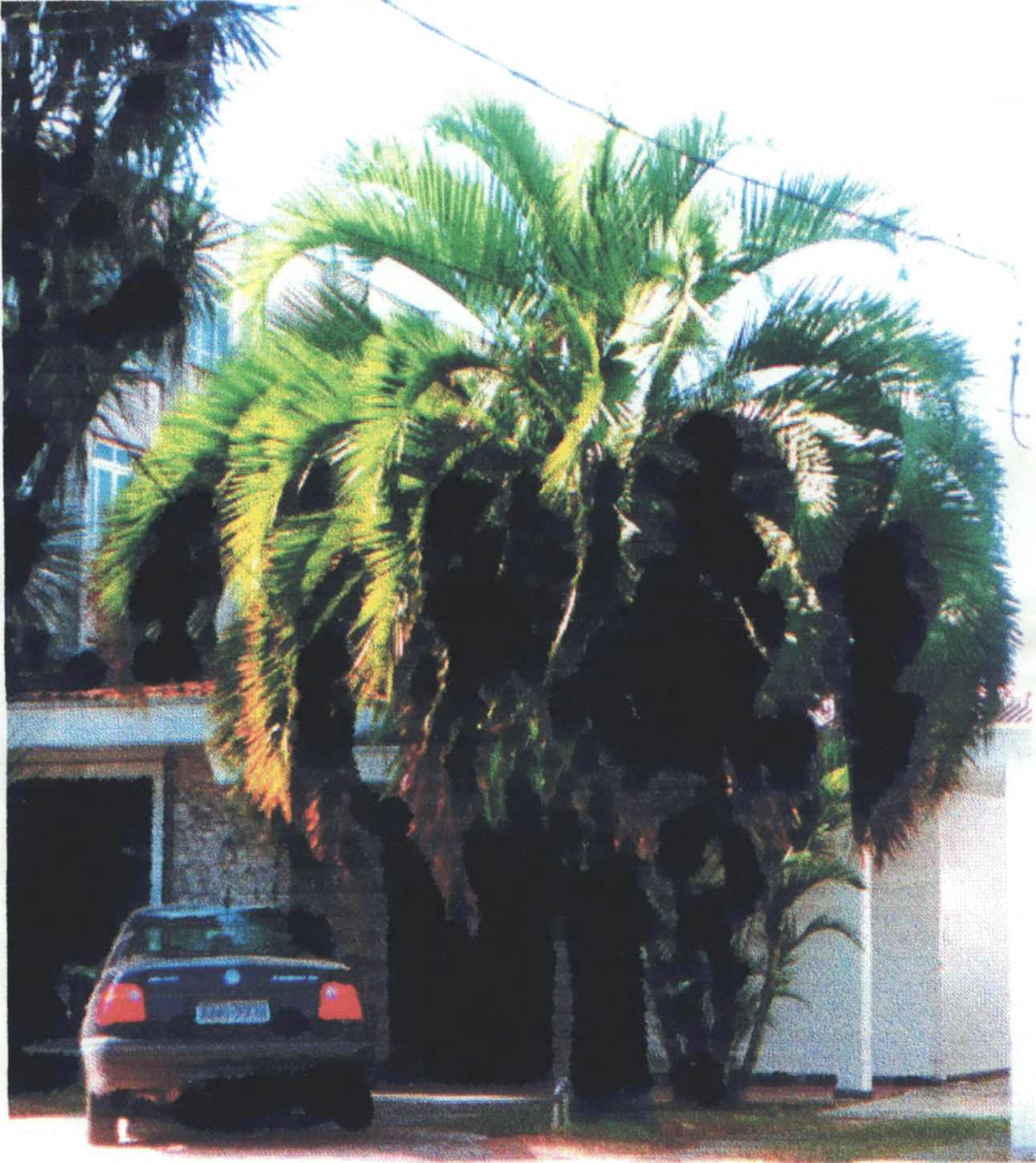


Figura 07: Sementes de *Butia eriosphata* e *Archontophoenix cf. cunninghamiana*



1cm



3. CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA:

Segundo Cronquist, 1988 (18)

Reino Plantae

Divisão Magnoliophyta (Angiospermae)

Classe Liliopsida (Monocotyledonae)

Sub-Classe Arecidae

Ordem Arecales

Família Arecaceae (Palmae)

Gêneros *Archontophoenix*

Butia

Espécies *Archontophoenix cf. cunninghamiana*

Butia eriospatha

4. OBJETIVOS:

Tem-se como objetivo geral a análise dos carboidratos e glicolípídeos presentes nas espécies da família Arecaceae: *Archontophoenix cf. cunninghamiana* e *Butia eriospatha*, de acordo com os seguintes objetivos específicos:

- Inativação enzimática das sementes;
- Extrações sequenciais de polissacarídeos das sementes;
- Isolamento e purificação dos polissacarídeos;
- Análise quantitativa e qualitativa dos monossacarídeos das frações polissacarídicas isoladas, através de métodos cromatográficos;
- Extração dos glicolípídeos das sementes;
- Purificação dos glicolípídeos;
- Análise quantitativa e qualitativa da porção açúcar dos glicolípídeos através de métodos cromatográficos.

5. MATERIAIS E MÉTODOS:

5.1 Obtenção das sementes:

As sementes de *Archontophoenix cf. cunninghamiana* foram coletadas em Santa Catarina e as de *Butia eriospatha* foram coletadas em Curitiba. As sementes foram secas e posteriormente moídas em moinho Willey.

5.2 Obtenção dos Polissacarídeos:

Foram realizadas extrações sequenciais, utilizando-se 20 g de sementes moídas e deslipidificadas (em um extrator Soxhlet, com solvente tolueno-etanol (2:1 v/v)), aquosas à 25°C e à 60°C e alcalinas (com hidróxido de sódio), à temperatura ambiente, nas concentrações 2N e 4N, conforme fluxogramas 1, 2, 3 e 4 em anexo.

Os produtos das extrações aquosas foram filtrados e precipitados em etanol, e após centrifugação, o precipitado foi levado à secagem em estufa à vácuo.

Em seguida foram feitas extrações à 60°C por 6 horas, seguindo o mesmo procedimento anterior.

As extrações com hidróxido de sódio (NaOH) 2N e 4N foram feitas em presença de borohidreto de sódio, originando as hemiceluloses totais.

As hemiceluloses totais foram separadas em hemiceluloses A e B pela acidificação do meio a pH 5,0 resultando no precipitado a hemicelulose A e no sobrenadante, após precipitação em etanol, a hemicelulose B. O extrato obtido desta extração alcalina, foi neutralizado com ácido acético glacial (até

pH 5,0), e centrifugado. As frações foram lavadas 2 vezes com etanol comercial e uma vez com etanol absoluto, e levada à secura em estufa à vácuo.

5.3 Hidrólise Ácida Total:

A hidrólise ácida total foi feita utilizando-se 10 mg de cada fração, que foram colocadas em tubos de Kimax com 1ml de água e deixados sob agitação. A seguir foi adicionado 1ml de ácido trifluoracético (TFA) 2N e deixado hidrolisar em banho a 100°C por 5 horas.

5.4 Cromatografia em Papel:

Uma alíquota de cada amostra hidrolisada foi separada para análise por cromatografia em papel. Para a cromatografia, utilizou-se um papel Whatman nº 1, onde foram aplicados os padrões: glucose, ramnose, manose, galactose, xilose, arabinose e ácido galacto-urônico. (14)

Após a aplicação das amostras e dos padrões, o papel foi colocado em uma cuba contendo como solvente uma solução de benzeno: n-butanol: piridina: água na proporção 1:5:3:3 no interior de uma capela, de um dia para outro. A revelação do cromatograma foi realizada com uma solução de nitrato de prata (AgNO_3) em acetona, seguida de uma solução de hidróxido de sódio 40% em etanol, e vapor de água à 100°C. O cromatograma foi levado a uma solução de tiosulfato de sódio 10%, e finalmente em água.

5.5 Redução:

As frações submetidas à hidrólise ácida total foram reduzidas com borohidreto de sódio por aproximadamente 4 horas. A seguir, adiciona-se a resina LEWATTIT (H^+) para a remoção dos íons sódio. As soluções são filtradas à vácuo, e evaporadas em balão de evaporação num rotaevaporador (a $40^\circ C$). Adiciona-se então metanol no balão e leva-se novamente ao rotaevaporador. Repete-se a operação por 6 vezes. O metanol é adicionado ao sistema para a formação de tetraborato de metila, que é volátil na temperatura de evaporação. Assim, nos carboidratos, os monossacarídeos que eram constituídos por um grupo funcional aldeído, passam a ser álcoois com a adição de 2 átomos de H^+ na ponta da molécula, denominados então de alditóis. (2)

5.6 Acetilação:

Após a redução das amostras, estas são submetidas ao processo de acetilação. Aos alditóis são adicionados 1ml de piridina e 1ml de anidrido acético, e deixados por uma noite à temperatura ambiente.

No dia seguinte a reação é interrompida pela adição de gelo e clorofórmio. A seguir, o excesso de piridina presente no sistema é eliminado através de sucessivas aplicações de sulfato de cobre ($CuSO_4$) 5% e água destilada, alternadamente. O sulfato de cobre forma um complexo azul escuro na presença de piridina.

A fase clorofórmica é separada e levada à secura para posterior análise em cromatografia líquido-gasosa (g.l.c.).

5.7 Cromatografia Líquido-Gasosa (g.l.c.):

A cromatografia líquido-gasosa foi feita em um cromatógrafo Hewlett Packard 5890 Series II, para a análise quantitativa e qualitativa das frações polissacarídicas e glicolípídicas. Através do g.l.c. foram identificados e quantificados os monossacarídeos destas frações.

5.8 Purificação do Extrato Bruto Lipídico pelo Método de Folch:

O sobrenadante da etapa de deslipidificação em tolueno-etanol (2:1 v/v), foi levado à secura e suspenso em clorofórmio. Esta purificação segue o método de Folch. (29) A partição é feita através a adição de 100ml de clorofórmio-metanol (2:1 v/v) e de 20ml de cloreto de potássio (KCl) 0,1M, numa câmara fria à 4°C. Através deste processo, ocorreu a separação dos componentes em três fases ou frações: uma fração superior ou aquosa, uma fração intermediária, e uma fração inferior ou apolar (fração lipídica). (figura 06)

5.9 Isolamento dos Glicolípídeos:

A fração bruta lipídica (inferior ou apolar) obtida através do fracionamento de Folch a partir de sementes das duas espécies da família Arecaceae, foi submetida à purificação por cromatografia de adsorção em coluna de ácido silícico, utilizando-se como eluentes clorofórmio e clorofórmio-acetona.

O fracionamento em coluna de ácido silícico é feito através da montagem de uma coluna com 16g de ácido silícico previamente suspenso em clorofórmio. Adiciona-se então a fração lipídica. Para a

espécie *Archontophoenix cf. cunninghamiana* foi adicionado 0,5 g da fração lipídica, e para *Butia eriopatha* foi adicionado 2 g da fração lipídica.

Para *Archontophoenix cf. cunninghamiana* foram eluídos 10 volumes da coluna (350 ml aproximadamente) de clorofórmio. São retiradas 3 alíquotas desta eluição (a cada 120ml), C1, C2, C3.

Em seguida é feita a eluição de 5 volumes da coluna (175ml) de uma mistura de clorofórmio-acetona nas concentrações 10%, 20%, 40% e 60% (v/v) e retiradas as alíquotas CA 10%, CA 10% superior, CA 20%, Ca 20% superior, Ca 40%, CA 60%, CA 60% superior.

Por fim foram eluídos 5 volumes da coluna (175 ml) com acetona pura e retiradas as frações A 100% e A100% superior. Todas as frações foram submetidas a cromatografia de camada delgada.

5.10 Coluna de Troca Iônica:

A amostra CA10% de cada espécie foi purificada em coluna com 0,4g de CM celulose, eluída com uma mistura de clorofórmio: metanol: água na proporção 24,5: 24,5: 1 (v/v).

A fração purificada obtida foi submetida a uma nova purificação em uma coluna de DEAE celulose com o mesmo eluente citado. Após o fracionamento, as alíquotas foram analisadas por cromatografia em camada delgada (tlc). (14)

5.11 Cromatografia em Camada Delgada:

A alíquotas obtidas pelo fracionamento em coluna de ácido silícico foram monitoradas por cromatografia em camada delgada. Esta análise deu-se através da aplicação de “spots” de cada uma das alíquotas e do padrão dihexocil ceramida (CDH) em placas de silicagel Merck 60 para cromatografia,

e da colocação do cromatograma em uma cuba com a seguinte mistura de solventes: isopropanol: acetato de etila: nitroetano: metil-etil-cetona: metanol: água, na proporção 50:45:50:25:10:20, respectivamente. (30)

A cromatografia, então, foi visualizada pela exposição da placa de silicagel à vaporização com uma solução de orcinol-etanol-ácido sulfúrico.

5.12 Espectrometria de Massa dos Componentes da Fração Lipídica Bruta:

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa dos alditóis-acetatos foi realizada em colunas capilares (30m x 0,25mm d.i.) de OV-225 e DB-210, em espectrômetro de massa Finnigam Ion Trap, modelo 410, acoplado a um cromatógrafo líquido-gasoso Varian, modelo 3300. As injeções foram feitas à 50°C, com programação de temperatura de 50°C a 220°C. Utilizou-se hélio ultra-puro como gás de arraste (2ml/minuto). Os alditóis-acetatos foram identificados por seus tempos de retenção e por comparação aos espectros de massa dos compostos padrões.

5.13 Ressonância Nuclear Magnética:

A fração obtida por extração aquosa a 60°C de *Archontophoenix cf. cunninghamiana* foi solubilizada em óxido de deutério (D₂O) e analisada por ¹³C-RNM para a confirmação da estrutura da manana encontrada.

As análises de ressonância nuclear magnética de Carbono 13 foram realizadas em espectrômetro Bruker DRX-400 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 em 100,62 MHz, à 30°C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

As sementes das espécies *Archontophoenix cf. cunninghamiana* e *Butia eriospatha* foram coletadas no município de Palhoça (SC) em janeiro de 1995. A identificação foi feita pelo professor Olavo A. Guimarães, do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná.

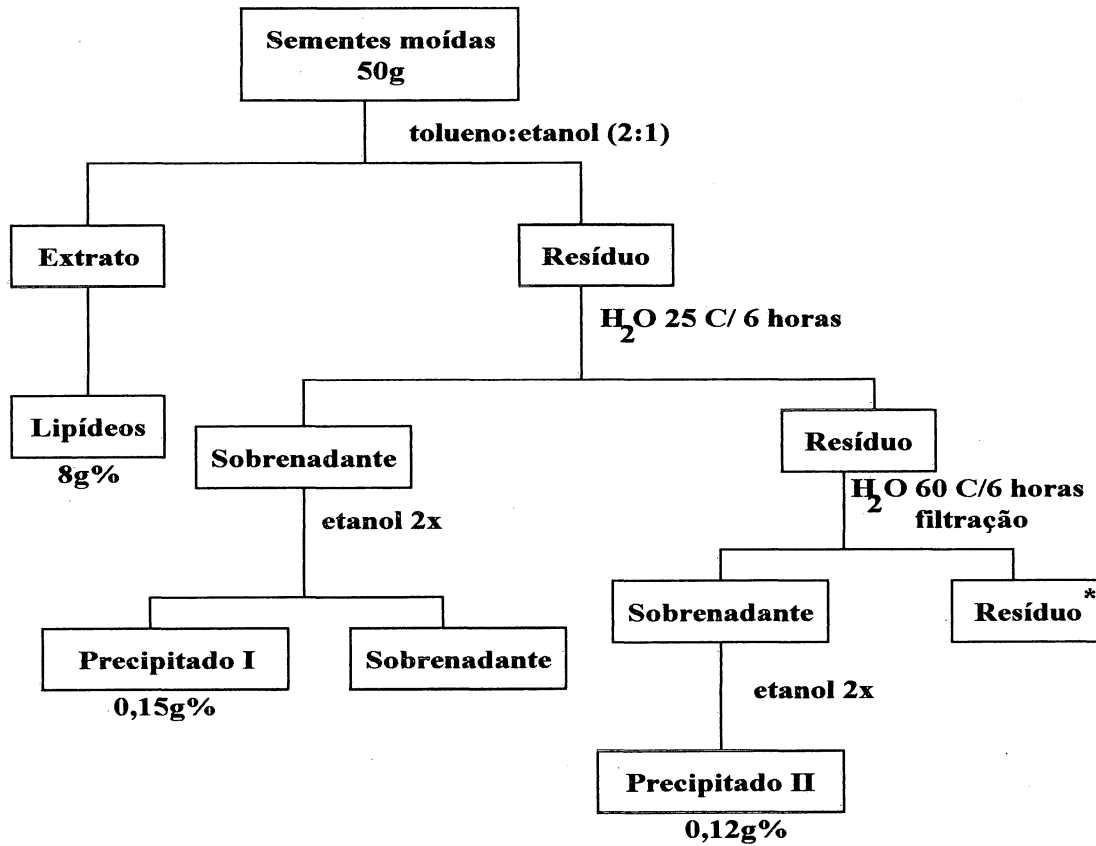
O processo de isolamento dos polissacarídeos passou por diversas extrações, iniciando pela separação de pigmentos e lipídeos, por tratamento com solventes orgânicos em extrator Soxhlet. O rendimento do extrato lipídico bruto foi de 8% (4,0 g) para a espécie *Archontophoenix cf. cunninghamiana* e 20,2% (10,1 g) para a espécie *Butia eriospatha*.

Foram realizadas extrações sequenciais, começando pelas extrações aquosas à temperatura ambiente e à 60°C para retirar os polissacarídeos hidrossolúveis presentes nas soluções. (fluxogramas 1 e 2) Em seguida foram realizadas extrações alcalinas com hidróxido de sódio (NaOH) nas concentrações 2N e 4N, respectivamente. Estas extrações alcalinas têm a função de retirar os polissacarídeos solúveis em meio alcalino, obtendo hemiceluloses totais.

Através das extrações alcalinas, após acidificação do meio a pH 5,0 e centrifugação, foram obtidas a hemicelulose A no precipitado e o sobrenadante, após a precipitação com etanol, originou a hemicelulose B. (fluxogramas 3 e 4)

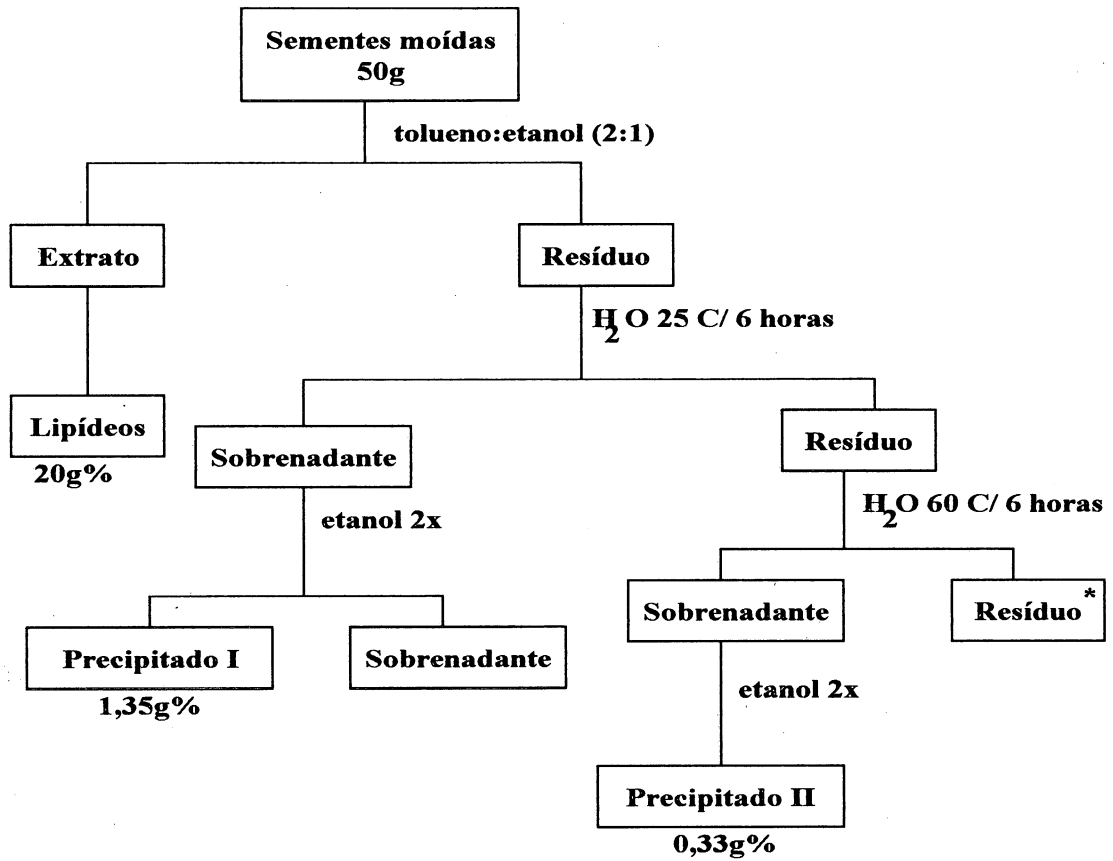
As extrações aquosas obtiveram rendimentos menores que as extrações alcalinas (tabelas I, II e III). O rendimento das frações submetidas às extrações aquosas (a 25°C e a 60°C), se somados, apresentam um valor de 0,30 g% na espécie *Archontophoenix cf. cunninghamiana*, e 1,70 g% , na espécie *Butia eriospatha*.

Fluxograma 01: Extrações Aquosas de Archontophoenix cf. cunninghamiana



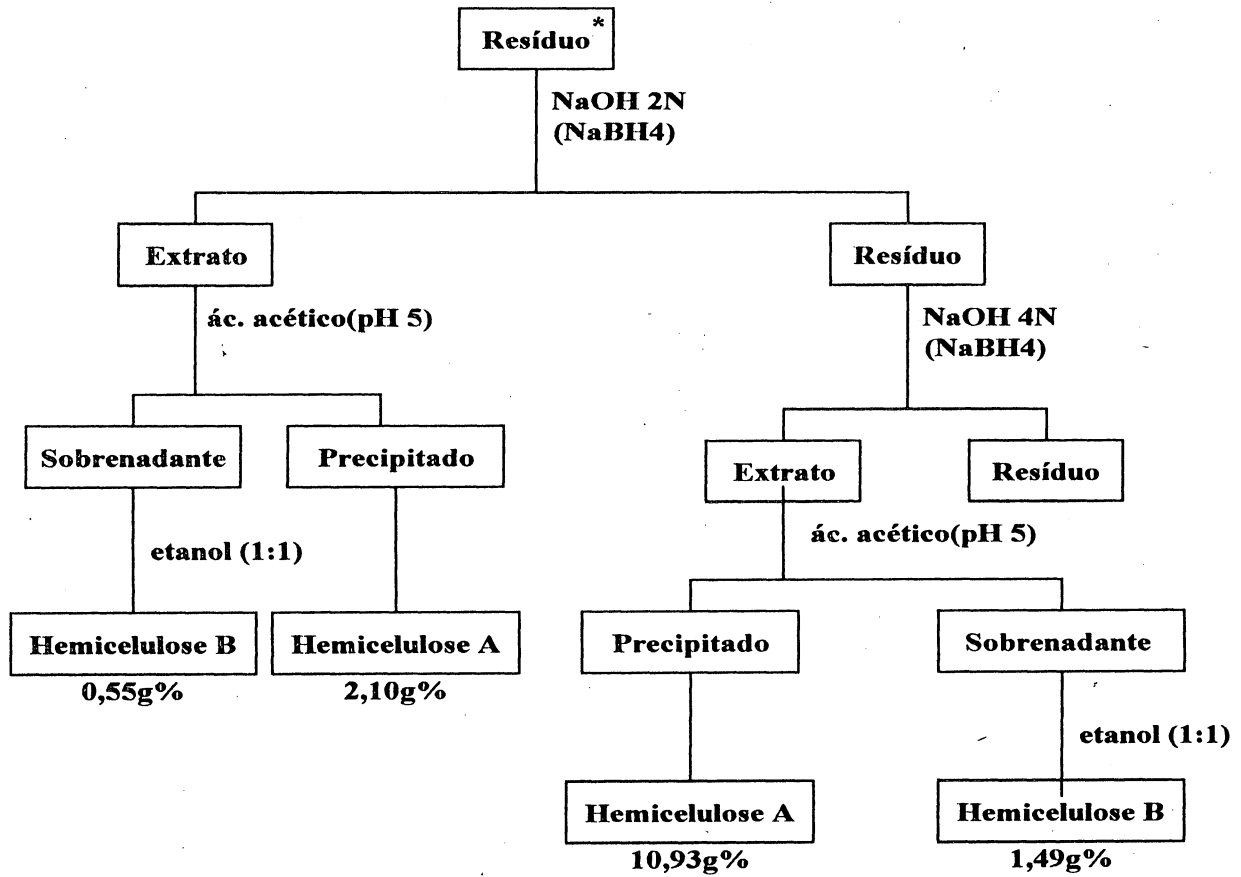
* ver fluxograma das extrações alcalinas

Fluxograma 02: Extrações Aquosas de Butia eriospatha

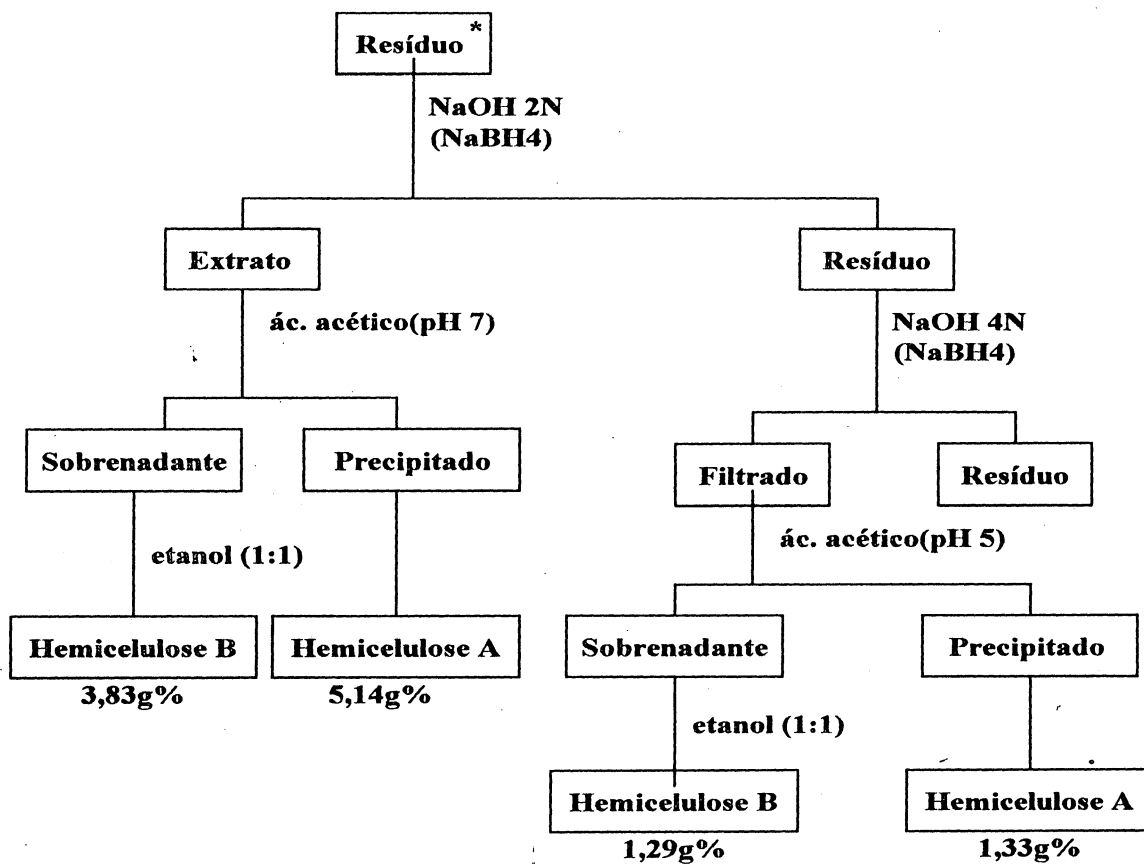


* ver fluxograma das extrações alcalinas

Fluxograma 03: Extrações com NaOH de Archontophoenix cf. cunninghamiana



Fluxograma 04: Extrações com NaOH de Butia eriospatha



Dentre as extrações alcalinas, a fração submetida à extração com NaOH 2N obteve um rendimento maior na espécie *Butia eriospatha* (9g%) em comparação com a espécie *Archontophoenix cf. cunninghamiana* (2,6 g%). A fração submetida à extração com NaOH 4N obteve um rendimento maior na espécie *Archontophoenix cf. cunninghamiana* (12,4 g%) em comparação com a soma dos rendimentos das frações da espécie *Butia eriospatha* (2,6 g%).

Os polissacarídeos obtidos foram submetidos à hidrólise ácida total para a despolimerização do polissacarídeo em unidades menores, os monossacarídeos, que foram analisados por cromatografia em papel com o intuito de fazer uma análise prévia da possível composição monossacarídica dos polissacarídeos obtidos por extrações aquosas e alcalinas.

A cromatografia em papel dos monossacarídeos em comparação com os padrões, mostrou a provável existência de glucose, xilose, manose, arabinose, e galactose para todas as frações obtidas por extração aquosa e alcalina em ambas as espécies estudadas. Esta análise por cromatografia em papel é interessante por ser possível a detecção de ácido urônico (que também pode ser detectado por métodos colorimétricos). Isto é importante, pois na análise em g.l.c. o ácido urônico não é detectado. Foi observada a presença de ácido urônico somente nas sementes da espécie *Butia eriospatha*, nas frações aquosas e hemicelulose B da extração alcalina 4N.

As tabelas I e II mostram as composições monossacarídicas dos polissacarídeos obtidos de sementes de *Archontophoenix cf. cunninghamiana* e *Butia eriospatha*, respectivamente, a partir das extrações aquosas e alcalinas. Observa-se que para a espécie *Archontophoenix cf. cunninghamiana*, em todas as frações, obteve-se a mesma composição qualitativa em monossacarídeos.

Destacam-se, para a espécie *Archontophoenix cf. cunninghamiana*, as frações obtidas por extração aquosa a 60°C e por extração alcalina com hidróxido de sódio (NaOH) a 4N (hemicelulose A), que tem como unidade monossacarídica predominante a manose (93% e 85%,

TABELA I: Polissacarídeos de Sementes de *Archontophoenix cf. cunninghamiana*, obtidos a partir de Extrações Aquosas e Alcalinas:

Extração	Fração	Temperat. (°C)	Rendimento (g %)	Composição Monossacarídica (moles %) ^b					
				man	xil	ara	gal	glu	ác.urônico ^c
H ₂ O	-	25	0,15	64,19	8,93	5,57	17,12	4,19	-
H ₂ O	-	60	0,12	92,77	1,04	1,48	3,31	1,39	-
NaOH 2N	Hemi A	25	0,54	67,95	13,65	5,68	7,30	5,40	-
NaOH 2N	Hemi B	25	2,09	54,28	40,22	2,95	0,35	2,20	-
NaOH 4N	Hemi A	25	10,92	84,43	5,45	1,42	1,84	6,86	-
NaOH 4N	Hemi B	25	1,49	55,84	17,15	10,37	15,24	1,40	-

^a Rendimento com relação à semente total.

^b Acetatos de alditóis obtidos por g.l.c.

^c Cromatografia em Papel.

TABELA II : Polissacarídeos de Sementes de *Butia eriospatha*, obtidos a partir de Extrações

Aquosas e Alcalinas:

Extração	Fração	Temperat. (°C)	Rendimento (g %)	Composição Monossacarídica (moles %) ^b						
				man	xil	ara	gal	glu	ram	ác.urônico ^c
H ₂ O	-	25	1,35	17,12	18,02	19,28	7,79	31,19	6,58	-
H ₂ O	-	60	0,33	18,63	16,80	22,77	24,89	14,12	2,76	+
1aOH 2N	Hemi A	25	5,14	-	81,60	18,42	-	-	-	+
1aOH 2N	Hemi B	25	3,83	35,50	20,77	37,50	-	6,23	-	-
1aOH 4N	Hemi A	25	1,33	10,36	73,02	7,26	4,59	3,74	1,01	-
1aOH 4N	Hemi B	25	1,29	15,38	49,84	22,85	11,92	-	-	+

^a Rendimento com relação à semente total.

^b Acetatos de alditóis obtidos por g.l.c.

^c Cromatografia em Papel.

respectivamente). Esta fração foi submetida à espectrometria de ressonância nuclear magnética, caracterizando sua estrutura com uma cadeia principal de manopiranosose com ligações glicosídicas do tipo (1→4). (figura 15)

Mc Cleary e Matheson (50) também obtiveram uma manana de *Archontophoenix cf. cunninghamiana*, no entanto, esta foi obtida por extração alcalina, e insolúvel em água, sem caracterização estrutural.

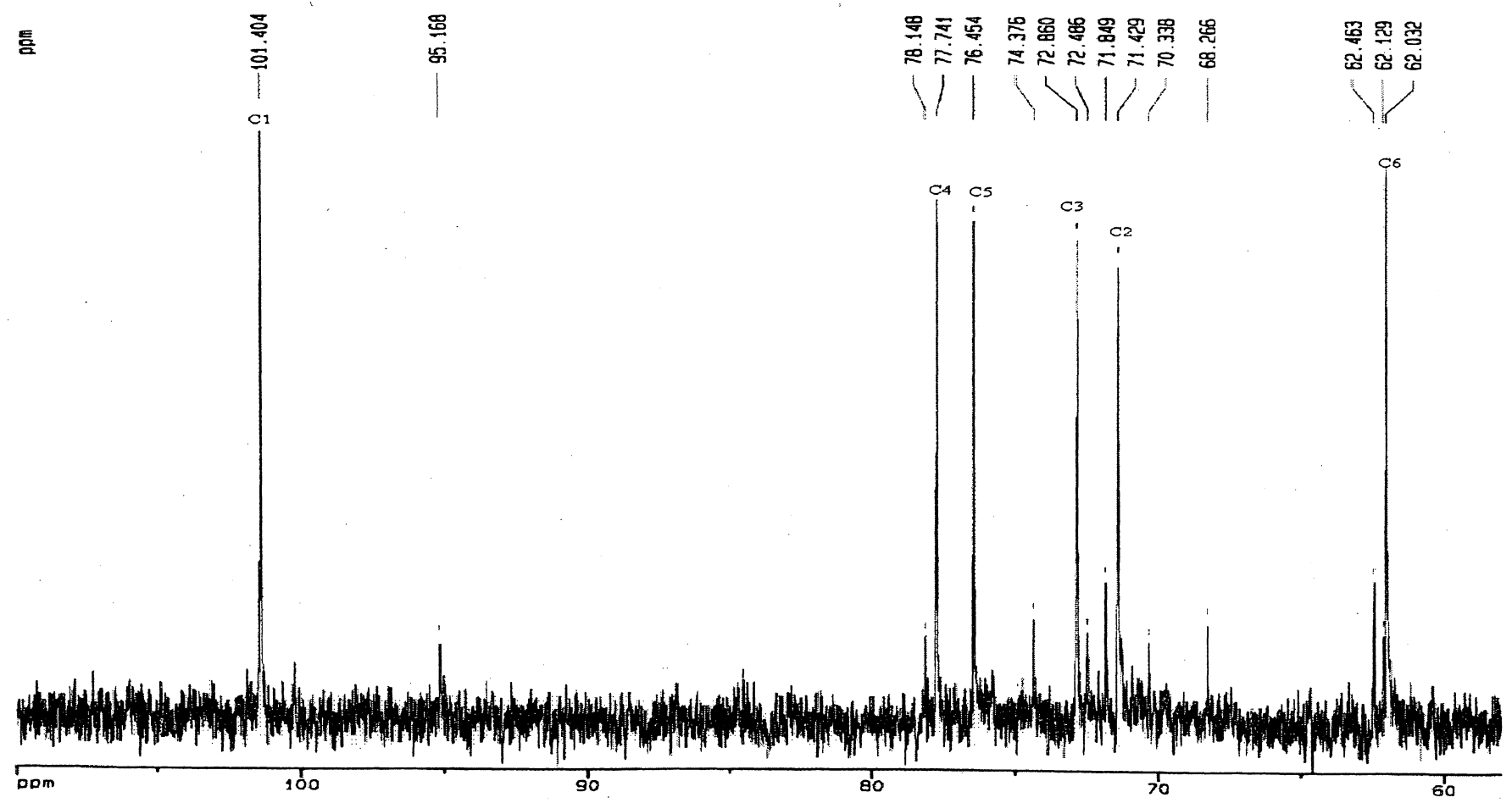
Para a espécie *Butia eriospatha*, destaca-se a fração hemicelulose A da extração alcalina 2N, que além de possuir maior rendimento, apresentou como composição monossacarídica uma arabinosilana 18% e 82%, respectivamente). Esta fração também apresentou sinais de ácido urônico por cromatografia em papel, e será, posteriormente, submetida à análise estrutural devido ao seu grau de pureza.

Considerando o elevado teor em lipídeos das sementes obtidas na etapa de deslipidificação (*Archontophoenix cf. cunninghamiana* 8g% e *Butia eriospatha* 20g%), partiu-se para a análise dos compostos glicosilados neste material. (fluxogramas 5 e 6)

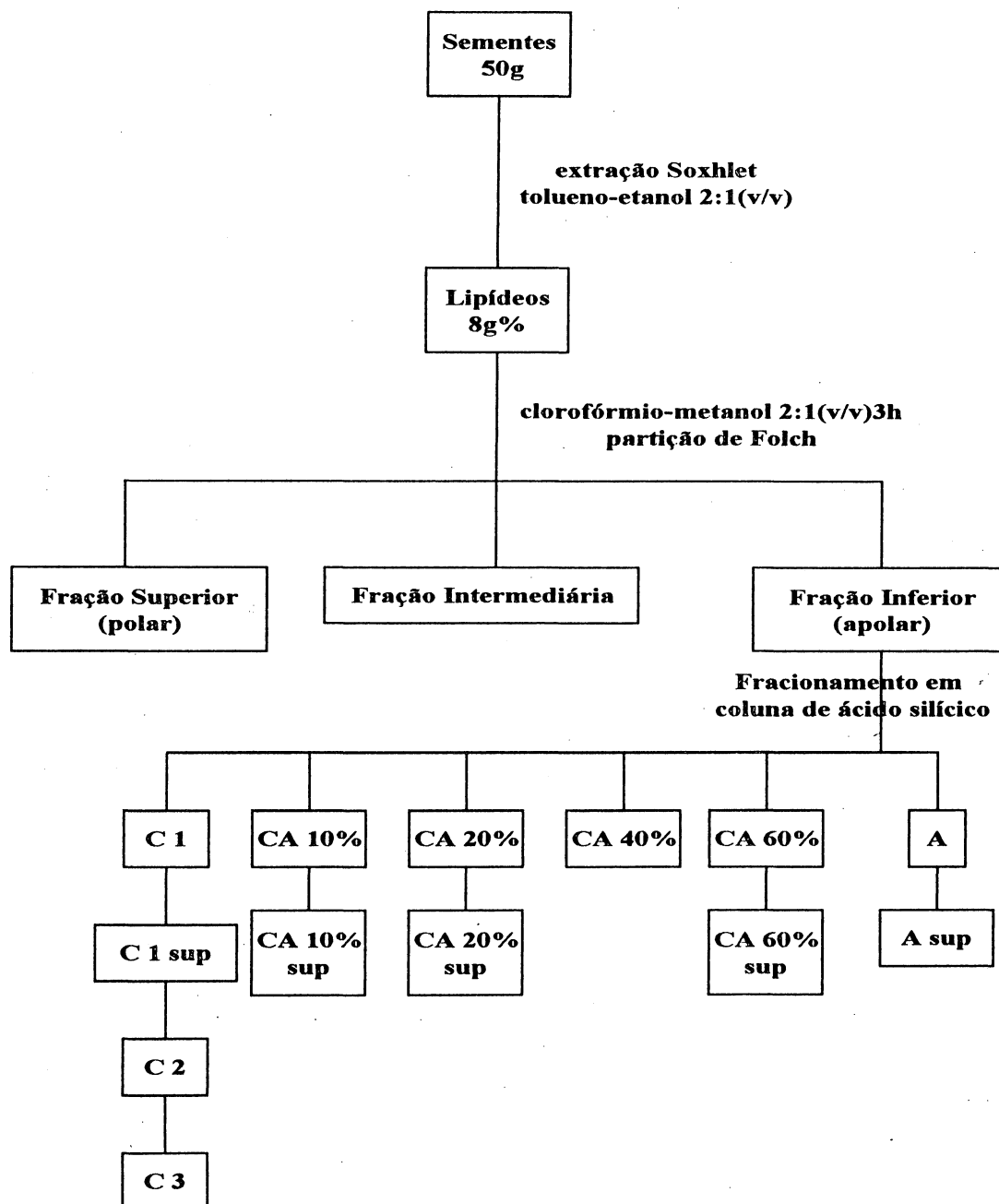
A fração lipídica foi obtida através de um extrator Soxhlet, de acordo com o que foi citado anteriormente, para a obtenção de um extrato bruto lipídico.

A segunda etapa é a purificação deste extrato bruto lipídico, feita pelo processo de partição de Folch, que determina a partição do extrato bruto para a eliminação de compostos mais polares que são considerados como contaminantes do extrato. (figura 08) Com este processo, ocorre a separação do extrato bruto em 3 fases: fase superior, aquosa e com compostos polares, fase intermediária, e fase inferior, com compostos apolares, que é o extrato lipídico. A fração superior consiste em água-metanol-sal, com material solúvel em água, e é descartada. A fração inferior consiste em clorofórmio, e contém os lipídeos. (12, 39)

Figura 15: Espectro de ^{13}C -NMR (100,62 MHz) da Manana de *Archontophoenix cf. cunninghamiana*, em Extração Aquosa à 60°C, em Óxido de Deutério (D_2O).



Fluxograma 05: Extrações dos Glicolípídeos de Archontophoenix cf. cunninghamiana



C: Clorofórmio 100%
CA 10%: Clorofórmio-Acetona (9:1 v/v)
CA 20%: Clorofórmio-Acetona (8:2 v/v)
CA 40%: Clorofórmio-Acetona (6:4 v/v)
CA 60%: Clorofórmio-Acetona (4:6 v/v)
A: ACetona 100%

Fluxograma 06: Extrações dos Glicolípídeos de *Butia eriospatha*

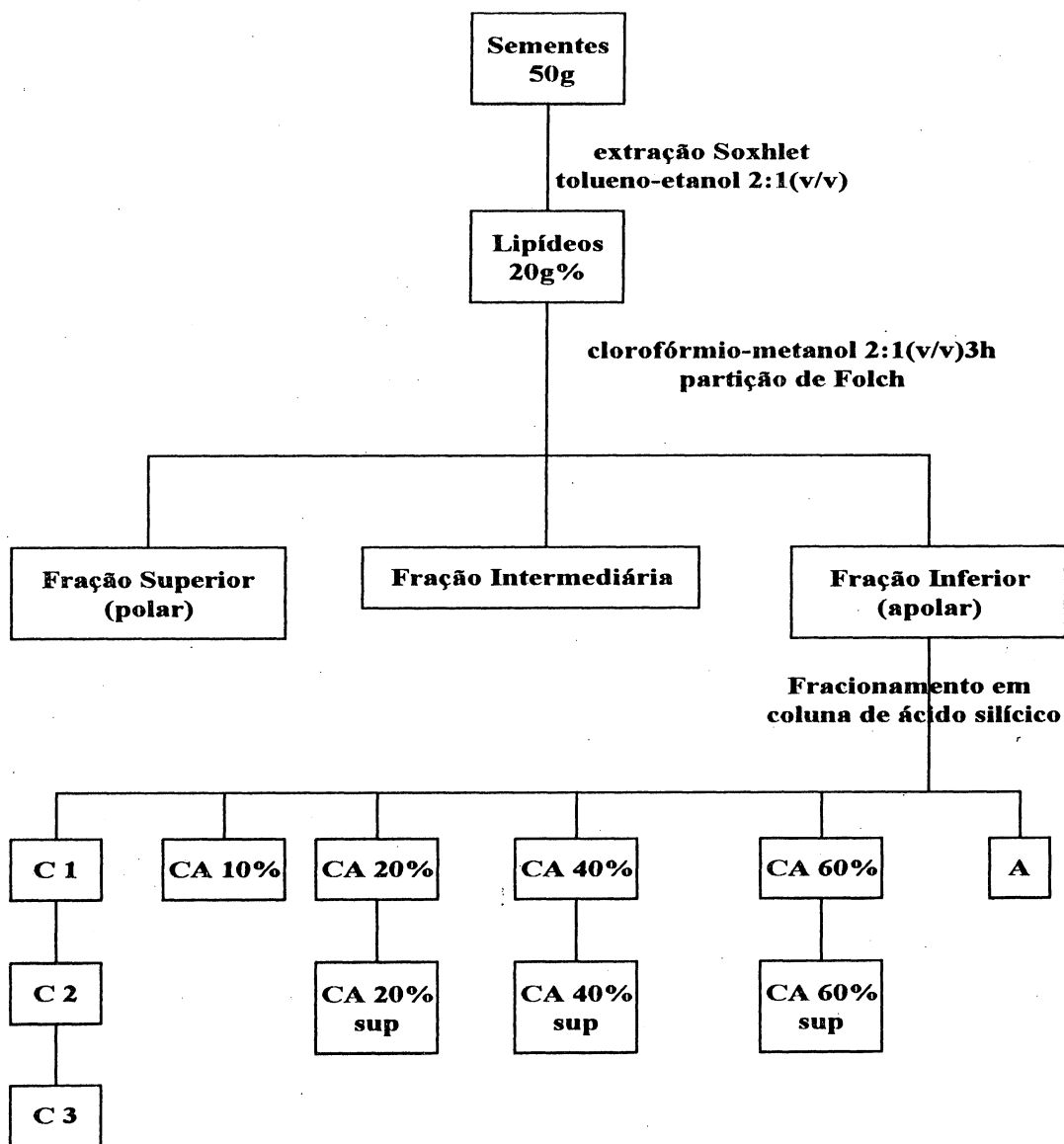
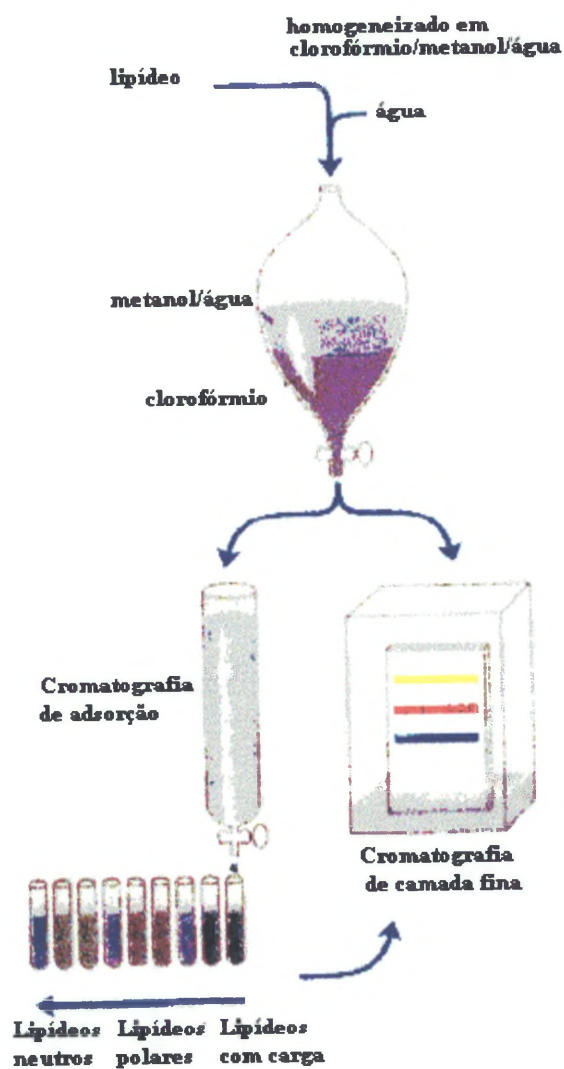


Figura 08: Esquema da Partição pelo Método de Folch e Purificação em Coluna de Ácido Silícico dos Glicolipídeos (adaptação do Livro Princípios de Bioquímica-Lehninger, A.L. et alii., p.196). (46)



A fração superior contém não somente os gangliosídeos e os glicolípídeos neutros com longas cadeias hidrocarbonadas, mas também glicoproteínas e glicopeptídeos. A fração inferior apresenta glicolípídeos neutros, particularmente aqueles que possuem cadeias hidrocarbonadas curtas, juntamente com lípídeos neutros e fosfolípídeos. (39)

Para a espécie *Archontophoenix cf. cunninghamiana*, o rendimento da fração inferior ou extrato lipídico foi de 0,8g (2g%), e para a espécie *Butia eriospatha* foi de 6,4g (13g%).

Em seguida fez-se o fracionamento dos glicolípídeos em uma coluna de ácido silícico para a separação das frações glicolípídicas. A cromatografia de adsorção separou os lípídeos de polaridades diferentes. Os lípídeos polares ligaram-se firmemente à sílica, ela também polar, mas os lípídeos neutros passaram diretamente através da coluna e emergem nos primeiros volumes de clorofórmio de eluição.

Os lípídeos polares foram então eluídos na ordem de polaridade crescente, pela eluição da coluna com solventes de polaridade progressivamente maior. Os lípídeos não carregados, porém polares (cerebrosídeos) foram eluídos com acetona e os lípídeos carregados ou muito polares (glicerofosfolípídeos), eluídos com metanol.

A aplicação do extrato lipídico na coluna de ácido silícico obedeceu as seguintes proporções: 2g da fração lipídica foram aplicados em 16g de ácido silícico, para a espécie *Butia eriospatha*, e na espécie *Archontophoenix cf. cunninghamiana* foi aplicado 0,5 g do extrato lipídico.

As colunas foram eluídas com clorofórmio, seguida de clorofórmio-acetona com proporções crescentes de acetona (10%, 20%, 40%, 60% e 100%). (figura 09, 10, 11 e 12)

Estas frações foram analisadas por cromatografia em camada delgada (tlc) e verificadas sua composição. A cromatografia de camada fina tem como princípio a aplicação de uma pequena amostra de

Figura 09: Frações C1, C1superior, C2 e C3 da Purificação dos Glicolípídeos de *Archontophoenix cf. cunninghamiana*, através de uma Coluna de Adsorção

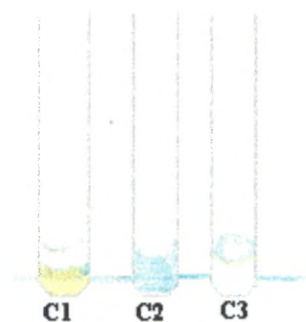


Figura 10: Frações CA 10%, CA 10%superior, CA 20%, CA 20% superior, CA 40%, CA 60%, CA 60% superior, A e A superior, da Purificação dos Glicolípídeos de *Archontophoenix cf. cunninghamiana*, através de uma Coluna de Adsorção

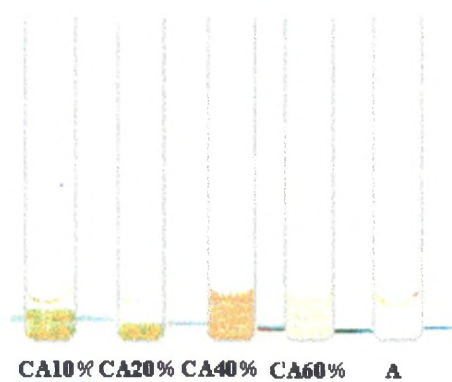


Figura 11: Frações C1, C2 e C3 da Purificação dos Glicolípídeos de *Butia eriospatha*, através de uma Coluna de Adsorção

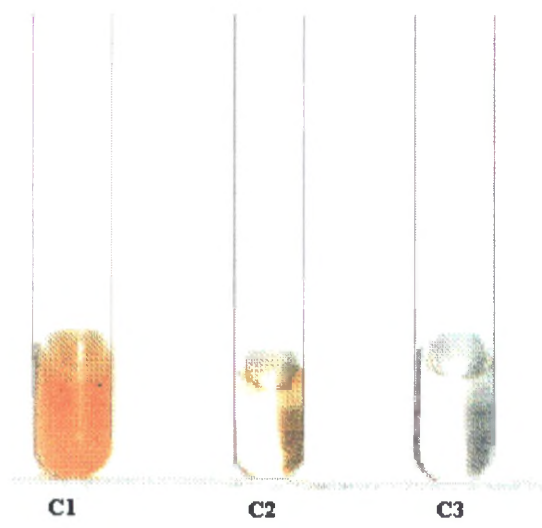
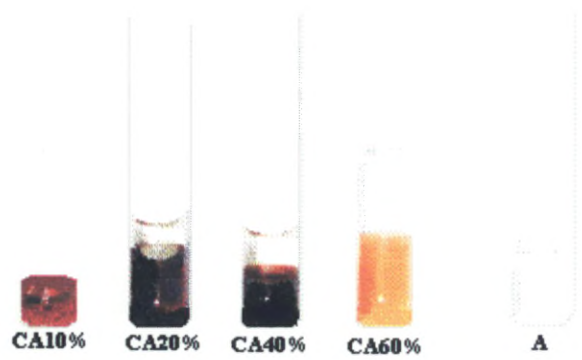


Figura 12: Frações CA 10%, CA 20%, CA 20% superior, CA 40%, CA 40% superior, CA 60%, CA 60% superior, e A, da Purificação dos Glicolípídeos de *Butia eriospatha*, através de uma Coluna de Adsorção



lipídeos dissolvidos em clorofórmio, que de acordo com o solvente apropriado, por ação capilar, carrega os lipídeos com ele.

Os lipídeos menos polares movem-se mais rapidamente, já que eles têm uma tendência menor a ligar-se à sílica que é polar. (46)

Em geral a sílica é empregada na separação de compostos lipofílicos como aldeídos, cetonas, fenóis, ácidos graxos, amino-ácidos, alcalóides, terpenóides e esteróides, usando um mecanismo de adsorção. (15)

Para a análise por cromatografia em camada delgada com placas de silicagel, várias proporções foram testadas com o intuito de isolar os glicolipídeos, tais como clorofórmio: metanol; água (50: 40: 10), (60: 35: 2), (60: 35: 5), (60: 35; 8), (60: 41: 2), (65: 30: 4), (75: 25: 4), isopropanol: acetato de etila: nitroetano: metil-etil-cetona: metanol: água, na proporção 50:45:50:25:10:20, respectivamente.

O solvente que permitiu uma melhor resultado foi o último citado, pois todos os outros tinham corridas diretamente até o topo da placa, impossibilitando a análise. (figura 13 e 14)

Mesmo com este solvente, apesar da presença de sinais de açúcar por revelação positiva com orcinol, as bandas apresentam, em comparação com as frações obtidas da coluna de sílica com os diferentes eluentes empregados sobre o extrato bruto lipídico, sinais muito semelhantes, sugerindo que este fracionamento não foi totalmente eficiente.

Após esta etapa, partiu-se para a análise dos componentes açúcar dos extratos brutos das duas espécies, obtidos pela partição de Folch, e das frações resultantes da cromatografia de adsorção em ácido silícico.

Após a hidrólise ácida total das frações lipídicas de cada espécie, a redução e a acetilação, as frações foram analisadas por cromatografia líquido-gasosa (g.l.c.).

A cromatografia líquido-gasosa separa os componentes voláteis de uma mistura, de acordo com as suas tendências relativas entre dissolver-se no material inerte na coluna cromatográfica e volatilizar-se e mover-se através da coluna, carregados por uma corrente de um gás inerte como o nitrogênio. (46)

Os extratos brutos de ambas as espécies foram submetidos além da análise por g.l.c., à espectrometria de massa.

A análise comprovou a presença de açúcares na fração lipídica, que contém: 95% de glicerol (proveniente provavelmente da fração lipídica) e 5% de açúcares. Dentre estes estão: arabinose (4%), manose (38%), galactose (13%) e glucose (44%) para *Archontophoenix cf.cunninghamiana* e para *Butia eriospatha*, 99% de glicerol e 1% de açúcares: manose (18%), galactose (28%) e glucose (54%).

As tabelas III e IV demonstram a composição monossacarídica das frações glicolípicas, submetidas à cromatografia de adsorção em ácido silícico, das espécies *Archontophoenix cf.cunninghamiana* e *Butia eriospatha*, respectivamente.

Observou-se que em comparação ao extrato bruto (partição de Folch), a fração clorofórmio-acetona 10%, foi a que apresentou características mais semelhantes, em composição qualitativa de monossacarídeos, para ambas as espécies. Além disso, estas frações obtiveram características de concentração e cor mais evidentes visualmente, após a análise por tlc, visto que nas outras frações a porção açúcar não foi detectada.

Figura 13: Cromatografia de Camada Delgada (tlc) dos Glicolipídeos de *Archontophoenix cf. cunninghamiana**

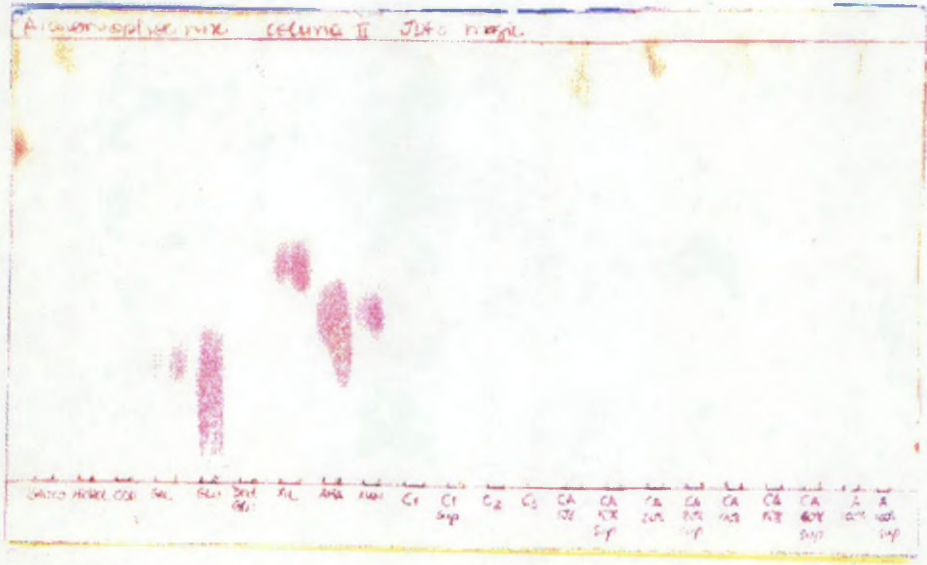
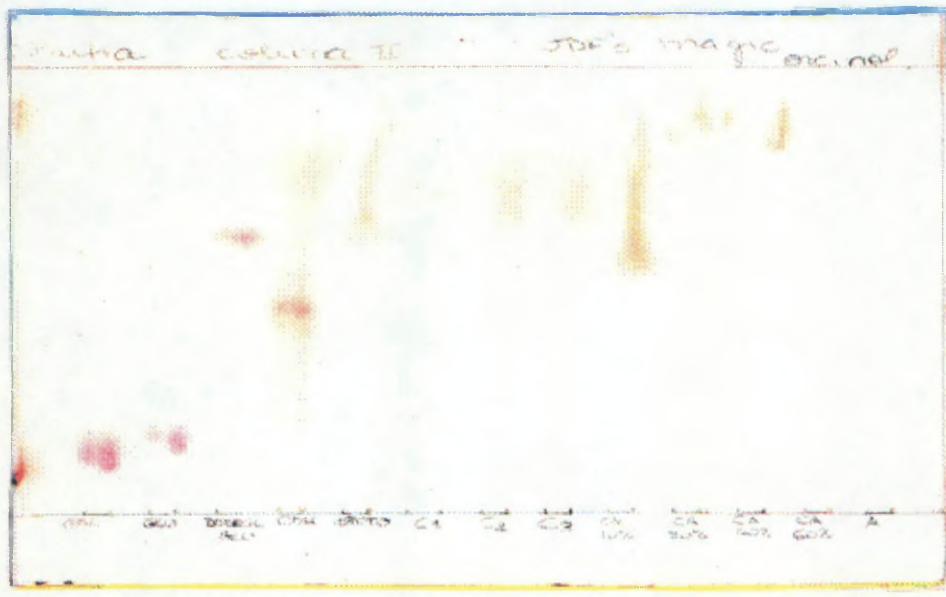


Figura 14: Cromatografia de Camada Delgada dos Glicolipídeos de *Butia eriospatha**



* Fase móvel isopropanol: acetato de etila: nitroetano: metil-etil-cetona: Metanol: água, na proporção 50:45:50:25:10:20, respectivamente. Cromatografia ascendente.

TABELA III : Glicolípídeos de Sementes de *Archontophoenix cf. cunninghamiana*, analisados por g.l.c. e g.l.c.-ms

Extração	Fração	Composição monossacarídica (moles %) ^a				
		man	xil	ara	gal	glu
Fração Inferior Folch ^b	FI	38,44	-	3,94	13,41	44,21
CHCl ₃	C1	20,50	9,58	35,49	-	34,42
CHCl ₃ /acetona ^b	CA10	39,48	-	-	25,83	34,69
CHCl ₃ /acetona	CA20	-	-	32,58	-	67,42
CHCl ₃ /acetona	CA40	28,28	-	15,96	-	55,77
CHCl ₃ /acetona	CA60	26,25	8,66	25,23	-	39,86

^a Acetatos de alditóis obtidos por g.l.c, temperatura de análise 25°C.

^b Acetatos de alditóis obtidos por g.l.c.-ms.

TABELA IV: Glicolipídeos de Sementes de *Butia eriospatha*, analisados por g.l.c. e g.l.c.-ms

Extração	Fração	Composição monossacarídica (moles %) ^a				
		man	xil	ara	gal	glu
Fração Inferior Folch ^b	FI	17,98	-	-	27,82	54,19
CHCl ₃	C1	23,95	-	27,74	-	48,31
CHCl ₃ /acetona ^b	CA10	13,47	7,39	7,94	8,59	62,61
CHCl ₃ /acetona	CA20	16,42	7,20	14,11	14,75	37,62
CHCl ₃ /acetona	CA40	23,89	-	38,49	-	37,62
CHCl ₃ /acetona	CA60	-	-	-	-	-

^a Acetatos de alditóis obtidos por g.l.c, temperatura de análise 25°C.

^b Acetatos de alditóis obtidos por g.l.c.-ms.

CONCLUSÃO:

-As extrações aquosas forneceram polissacarídeos com rendimentos de 0,3g% para *Archontophoenix cf. cunninghamiana* e 1,7g% para *Butia eriospatha*.

-As extrações alcalinas apresentaram rendimentos superiores aos das extrações aquosas, com 2,6g% para *Archontophoenix cf. cunninghamiana* e 9g% para *Butia eriospatha* na extração alcalina a 2N, e 12,4g% e 2,6g% nas extrações alcalinas a 4N, para *Archontophoenix cf. cunninghamiana* e *Butia eriospatha*, respectivamente.

-Na espécie *Archontophoenix cf. cunninghamiana*, destacaram-se as frações obtidas por extração aquosa à 60°C e alcalina 4N (hemicelulose A), com manose como unidade monossacarídica predominante (93% e 85%, respectivamente).

-A análise por espectrometria de ressonância nuclear magnética da fração extraída em água à 60°C de *Archontophoenix cf. cunninghamiana*, caracteriza a estrutura de uma manana com cadeia principal de β-D-manopiranosídica com ligações glicosídicas do tipo (1→4).

-Para a espécie *Butia eriospatha*, destacou-se a fração obtida por extração alcalina a 2N (hemicelulose A), com arabinosilana como composição monossacarídica com 18% e 82% , respectivamente.

-Através do processo de deslipidificação das sementes totais, obteve-se um rendimento em lipídeos de 8g% para a espécie *Archontophoenix cf. cunninghamiana* e 20g% para a espécie *Butia eriospatha*.

-O material lipídico de cada espécie sofreu o processo de partição de Folch, e o rendimento das frações apolares (inferiores) foi de 2g% para *Archontophoenix cf. cunninghamiana* e 13g% para *Butia eriospatha*.

-A análise através do g.l.c.-ms dos extratos lipídicos na forma de alditóis-acetatos, comprovou a presença de carboidratos nestes produtos, isto é, 5% de açúcares para *Archontophoenix cf. cunninghamiana* e 1% para *Butia eriospatha*. Dentre estes estão: arabinose (4%), manose (38%), galactose (13%) e glucose (44%); e manose (18%), galactose (28%) e glucose (54%), respectivamente.

-As frações CA 10% de ambas as espécies foram as que obtiveram características de concentração e cor mais evidentes visualmente, e através da análise por g.l.c.-ms da porção açúcar destas frações, observou-se que para a espécie *Archontophoenix cf. cunninghamiana* tem-se: manose (39%), galactose (26%) e glucose (35%), e para *Butia eriospatha*: arabinose (8%), xilose (7%), manose (13%), galactose (9%) e glucose (63%).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- 1) ABDUL, A.; HAQ, Q.N.; QUADER, M.A.; AHMED, M. Structural study of a polisaccharide from the seeds of *Borassus flabelifer* Linn. *Carbohydr. Res.*; v. 277; p. 189-195; 1995.
- 2) ALBERSHEIM, P.; NEVINS, D.J.; ENGLISH, P.D.; KARR, A. a Method for the Analysis of Sugars in Plant Cell Wall Polysaccharides by Gas-Liquid-Chromatography. *Carbohydrate Research*; v. 5; p. 340-346; 1967.
- 3) ANDERSON, D.M.W.; BELL, P.C. Structural analysis og the Gum Polysaccharides from *Anacardium occidentale*. *Analytical Chemistry Acta*; v. 79; p. 185-197; 1975.
- 4) 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.
- 5) BERGQVIST, M.H.J.; HERSLOF, B.G. Isolation and Purification of Digalactosyldiacylglycerols. *Chromatographia*; v. 40; (3-4); p. 129-133; 1995.
- 6) BERTELLO, L.E.; GONÇALVEZ, M.F.; COLLI, W.; LEDERKREMER, M.R. de . Structural Analysis of Inositol Phospholipids from *Trypanosoma cruzi* epimastigote forms. *Biochem. J.*;

v. 310; p. 255-261; 1995.

- 7) BHAKARE, H.A.; KHOPTAL, R.R.; KULKARNI, A.S. Lipid Composition of *Whitamia somnifera*, *Phoenix sylvestris* and *Indigofera emualphylla* Seeds of Central India. J. of Food Science and Technology-Mysore; v. 30; n°05; p. 382-384; 1993.
- 8) BOYER, R.F. Modern Experimental Biochemistry; 2nd edition; The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc; chapter 3; 1993.
- 9) CAMPBELL, M.K. Biochemistry; 2 nd edition; parte II e III; p.242-478; 1994.
- 10) CARNEIRO, E. B. B. Polissacarídeos de *Chorisia speciosa* st. Hill. (paineira). Curitiba; 1994; Tese, mestrado; UFPR.
- 11) CARTER, H.E.; JOHNSON, P.; WEBER, E.J. Glycolipids. Annual Review Biochemistry; v. 34; p. 109-142; 1965.
- 12) CHAPLIN, M.F.; KENNEDY, J.F. Carbohydrate Analysis. A Practical Approach.; 2 nd edition; IRL PRESS; cap. 1,6; 1994.

- 13) COIMBRA, M.A.; WALDRON, K.W.; SELVENDRAN, R.R. Isolation and Characterization of Cell Wall Polymers from the Heavily Lignified Tissues of Olive (*Olea europaea*) Seed Hull.; Carbohydrate Polymers; v. 27; n° 04; p. 285-294; 1995.
- 14) COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L. Introdução a Métodos Cromatográficos; 3° ed; Editora UNICAMP; cap. III; p. 45-58; 1988.
- 15) COLLINS, P.; FERRIER, R. Monosaccharides. Their Chemistry and their Roles in Natural Products.; Wiley; p. 478-506 ; 1995.
- 16) CORRÊA, J. B. C. GOMES, S. L. , GEBARA, M. Structural feactures of the stem of *M. scabrella* bracatinga. Carbohydr. Res.; v. 60; p. 337-343; 1978.
- 17) CORRÊA, M. Pio. Dicionário das Plantas Úteis Brasil, v. I; p. 342; Imprensa Nacional; RJ; 1984.
- 18) CRONQUIST, A. The Evolution and Classification of Flowering Plants; 2 nd edition; NYBG; New York; cap. 7; p. 451-503; 1988.
- 19) DAVIDSON, V.L.; SITTMAN, D.B. Biochemistry; 3 rd edition; Harval; cap. 1,6,8; 1994.

- 20)DEA, J.G. M. & MORRISON, A. Chemistry and interaction of seed galactomannan. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem; v. 31; p. 241-312; 1975.
- 21)DEHESH, K.; EDWARDS, P.; HAYES, T.; CRANMER, A M.; FILLATTI, J. Two Novel Thioesterases are Key Determinants of the Bimodal Distribution of Acyl Chain Length of *Cuphea palustris* Seed Oil.; Plant Physiology; v. 110; p. 203-210; 1996.
- 22)DEVINCENZI, I.A.A. Aspectos sobre Alguns Componentes do Caule de *Schizolobium parahybum* (Vell) Blake; Tese, mestrado; 1985; UFPR.
- 23)DEY, P.M. Biochemistry of plant galactomannans. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. San Diego; v. 35; p. 341-376; 1978.
- 24)DEY, P.M.; HARBORNE, J.B. Methods in Plant Biochemistry; Academic Press; cap. 1; 1990.
- 25)DUBOIS, M ; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem; v. 28; p. 350-356; 1956.
- 26)ESTEVEES, W. et alii. Constituição Lipídica da Semente do Adlay (*Coix lacryma Jobi* L.). Boletim da SBCTA; Campinas; v. 21; n° 2; p. 95-101; abr./jun. 1987.

- 27)FENGEL, D.; WEGENER, G. Wood Chemistry. Ultrastructure Reaction; De Gruyter; p. 109-127; 1984.
- 28)FLORÊNCIO, J.A. Imobilização de Inulinase I Fúngica e Inulinase II Bacteriana Utilizando Vários Suportes. Curitiba; 1995; Tese, Mestrado; UFPR.
- 29)FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues; p. 497-509; 1956.
- 30)FOSKET, D.E. Plant Growth and Development. A Molecular Approach.; Academic Press; cap. 5; p. 197-201; 1994.
- 31)GANTER, J.L.M. S. Galactomanana de sementes de *Mimosa scabrella* (bracatinga). Curitiba; 1988; Tese, mestrado; UFPR.
- 32)GANTER, J. L. M. S. Estudos de carboidratos de sementes de *Mimosa scabrella* (bracatinga). Análise estrutural dos oligossacarídeos e propriedades reológicas da galactomanana. Curitiba; 1991; Tese, Doutorado; UFPR.
- 33)GANTER, J.L.M.S ; CORRÊA, J.B.C.; SIERAKOWSKI, M.R.; REICHER, F.

- Galactomannan from the seeds of *Mimosa scabrella* (bracatinga). Structure and properties. Proceedings Brazil-France - VI- Polymer. Seminar .v.A; IMA; (Ed); RJ; p. 169-179; 1988.
- 34) GANTER, J.L.M.S.; MILAS, M.; RINAUDO, M. On the viscosity of Na-polystyrene sulfonate, a flexible polyelectrolyte. *Polymers*; v. 33 (1); p. 113-116; 1992.
- 35) GANTER, J.L.M.S.; MILAS, M.; CORRÊA, J.B.; REICHER, F.; RINAUDO, M. Study of solution properties of galactomannan from the seeds of *Mimosa scabrella*. *Carbohydrate Polymers*; v. 17; p. 171-175; 1992.
- 36) GANTER, J.L.M.S.; CORRÊA, J.B.C.; REICHER, F.; HEYRAUD, A.; RINAUDO, M. Low molecular weight carbohydrate from *Mimosa scabrella* seeds. *Plant. Physiol. Biochem.*; v. 29 (2); p. 139-146; 1991.
- 37) GANTER, J.L.M.S.; HEYRAUD, A.; PETKOWICZ, C.L.O.; RINAUDO, M.; REICHER, F. Galactomannans from Brazilian seeds: characterization of the oligosaccharides produced by mild acid hydrolysis. *Int. J. Biol. Macromol.*; v. 17; n° 01; p. 13-19; 1995.
- 38) GEORGES, S.; ARUMUGHAN, C. Lipid Profile of Developing Oil Palm Fruit. *J. of Food Science and Technology-Mysore*; v.32; n°01; p. 22-26; 1995.

- 39)HAMMARSTRAND, K. Gas Chromatographic Analysis of Fatty Acids. Applications Chemist, Applications Laboratory. Varian Aerograph; 1966.
- 40)HARBORNE, J.B. Phytochemical Methods. A Guide to modern Techniques of Plant Analysis; 2 nd edition; Chapman and Hall; cap. 4; p. 142-176; 1991.
- 41)JOLY, A.B. Botânica. Introdução à Taxonomia Vegetal; 11° ed; SP; Editora Nacional; 1993.
- 42)KATES, M. Plant Phospholipids and Glycolipids. Advances in Lipid Research; v. 8; p. 225-265; 1970.
- 43)KLOOSTERZIEL, K.M.L.; BUNT, G.A.V.; ZEEVAART, J.A.D.; KOORNNEEF, M. Arabidopsis Mutants with a Reduced Seed Dormancy. Plant Physiology; v.110; p. 233-240; 1996.
- 44)KOIZUMI, M.; ISHIDA, N.; KANO, H. Location of Sucrose and Oils in a Maize Seed by NMR Microscopy. Bioscience Biotechnology Biochemistry; v. 59; n° 12; p. 2321-2323; 1995.
- 45)LEHNINGER, A L.; Princípios de Bioquímica; cap. 12; p. 223-240; Sarvier, SP; 1984.
- 46)LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. Princípios de Bioquímica; 2° ed; Sarvier, SP; 1995.

- 47)LORENZI, H. Árvores Brasileiras (Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil); p.276; ed. Plantarum; Nova Odessa; SP; 1992.
- 48)LUCYSYN, N. Galactomananas: Novas fontes do biopolímero e aplicações na indústria alimentícia. Curitiba; 1994; Tese, Mestrado; UFPR.
- 49)MACHADO, M.J.; GORIN, P.A.J.; TORRI, G.; IACOMINI, M. The occurrence of glycolipids in the lichen *Ramalina celastri*. Brazilian J. Med. Biol. Res.; v. 27; p. 523-526; 1994.
- 50)MC CLEARY, B. V.; MATHESON, N. K. Galactomannan Structure and β -mananase and β -manosidase Activity in Germinating Legume Seeds. Phytochemistry; v. 14; p. 1187-1194; 1975.
- 51)PETKOWICZ, C.L.O. Biopolímeros da semente de *Schizolobium amazonicum*(pinho cuiabano) galactomananas e arabinanas. Curitiba; 1993; Tese, mestrado; UFPR.
- 52)RECHIA, C.G.V. Estudo de polissacarídeos da semente de *Senna multijuga*. Curitiba; 1992; Tese, mestrado; UFPR.
- 53)REICHER, F. Estudos sobre a localização de grupos O-acéticos e de complexos lignina xilana em hemicelulose nativa de *Mimosa scabrella* (bracatinga). Curitiba; 1984; Tese, mestrado; UFPR.

- 54) REICHER, F.; CORRÊA, J. B. C.; GORIN, P. A. J. Location of O-acetyl groups in the acidic D-xylan of *Mimosa scabrella* (bracatinga). A study of O-acetyl group migration. *Carbohydr. Res.*; v. 135; p. 127-143; 1984.
- 55) REICHER, F.; LEITNER, S. C. S.; SIERAKOWSKI, M. R.; FONTANA, J. D.; CORRÊA, J. B. C. Seed Gum of *Stryphnodendron barbatiman* (barbatimão). *Appl. Biochem. Biotechnol.*; v. 28/29; p. 353-361; 1991.
- 56) REICHER, F.; LEITNER, S. C. S.; SIERAKOWSKI, M. R.; FONTANA, J. D.; CORRÊA, J. B. C. Properties of the seed gum of *Stryphnodendro barbatiman* (barbatimão). *Appl. Biochem. Biotechnol.* IN press.
- 57) SIERAKOWSKI, M. R. Aspectos estruturais da mucilagem de *Pereskia aculeata*, Mil(ora-pro-nobis). Curitiba; 1988; Tese, doutorado; UFPR.
- 58) SHIN, H. S.; KIM, S. W. Lipid Composition of Perilla Seed. *J. of the American Oil Chemists' Society*; v. 71 (6); p. 619-622; 1994.
- 59) SMITH, E. L.; *et all.* *Bioquímica Aspectos Gerais*; 7^oed; Guanabara-koogan; p. 79-119; 1985.

- 60)SONI, S. K. & ROSE, S. Seed galactomannas & their structures In: Biol. Chem.; v. 160; p. 61-68; 1945.
- 61)STEPHEN, A. M. Other plant polysaccharide. In:ASPINALL, G. O. The polysaccharide.; New York; Academic Press; v. 2; p. 98-180; 1983.
- 62)TENEBERG, S.; ANGSTROM, J.; JOVALL, P.; KARLSSON, K. Characterization of Binding of Gal β 4GlcNac- Specific Lectins from *Erythrina cristagalli* and *Erythrina corallodendron* to glycosphingolipids. The journal of Biological Chemistry; v. 269; n. (11; p. 8554-8563; 1994.
- 63)WENZEL, G. E. Estudos químicos e físico-químicos dos polissacarídeos hidrossolúveis de *Portulaca oleracea*, L. (beldroega). Curitiba; 1991; Tese, doutorado; UFPR.
- 64)WILKIE, K.C.B. Hemicellulose.; Chemtec; p. 306-319; 1983.
- 65)YOO, Y.S.; KIM, Y.S. Separation of Gangliosides Using Cyclodextrin in Capillary Zone Electrophoresis. J. of Chromatography; v. 652; p. 431-439; 1993.