

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANDRESSA AMADO MARTIN

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO HIDROCOLÓIDE DE  
FOLHAS DE *Pereskia aculeata*

CURITIBA

2015

ANDRESSA AMADO MARTIN

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO HIDROCOLÓIDE DE  
FOLHAS DE *Pereskia aculeata*

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Química, no Curso de Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas, da Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Rita Sierakowski  
Coorientador: Prof. Dr. Rilton Alves de Freitas

CURITIBA

2015

**Martin, Andressa Amado**

Características físico-químicas do hidrocolóide de folhas de  
*Pereskia aculeata* / Andressa Amado Martin. – Curitiba, 2015. 101  
f.: il.; tabs.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de  
Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química.

Orientadora: Maria Rita Sierakowski

Coorientador: Rilton Alves de Freitas

Bibliografia: p.88-100

1. Cacto. 2. Mucilagem. 3. Físico-Química. I. Sierakowski, Maria  
Rita. II. Freitas, Rilton Alves de. III. Título.

CDD 583.4

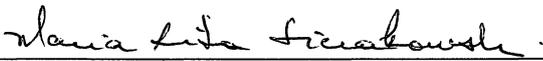
TERMO DE APROVAÇÃO

**CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO HIDROCOLÓIDE DE  
FOLHAS DE *Pereskia aculeata***

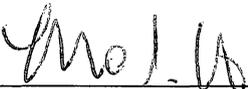
por

ANDRESSA AMADO MARTIN

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de  
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química,  
pela Comissão Examinadora composta por:

Orientador:   
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Rita Sierakowski  
Dep. de Química – UFPR

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Joana Léa Meira Silveira  
Dep. de Bioquímica - UFPR

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elisa Souza Orth  
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 31 de julho de 2015.

**À minha família, minha base, meus pais Vanilda e Roberto, meus irmãos Vitor e Enio. E aos meus AMADOS avós: Iraci e João Amado. Por estarem sempre ao meu lado, por todo o amor e pelas orações.**

## AGRADECIMENTOS

Meu maior e principal agradecimento a Deus. Pelo dom e graça da vida, por me iluminar em cada escolha, por me ajudar a chegar até aqui e pelas pessoas que colocou no meu caminho. E pela interseção de Nossa Senhora do Perpétuo Socorro, *ora pro nobis!*

Minha família, meu bem maior, por todo o apoio, por me darem asas para voar, por todos os mimos! Com muito carinho aos meus avós maternos, que, do jeitinho deles, acompanharam essa etapa da minha vida e estiveram me apoiando e rezando por mim. Em especial a minha mãe que, mesmo com a distância física, sempre foi o meu colo e por todas as vezes que me manteve em pé com as suas orações.

À professora Maria Rita Sierakowski, que me acolheu em seu laboratório, que dedicou o seu tempo me orientando e me ajudando a evoluir, pelo exemplo que foi durante essa caminhada.

Ao professor Rilton Alves de Freitas, pela coorientação, por ter estado presente no desenvolvimento desse trabalho, mesmo com a distância.

Ao Sr. Rubens Rabczuk da Empresa Proteios®, que gentilmente nos cedeu as folhas de *Pereskia aculeata* para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao grupo Biopol, por todas as conversas sobre as nossas pesquisas, ou não. Pela acolhida, ajuda e bom convívio.

Aos meus amigos pessoais, os de perto e os de longe. Obrigada por acolherem o meu silêncio e a minha ausência por muitas vezes, em especial a nossa república “Casa do Marão”, pelo bom convívio e as ajudas na parte científica. Aos de longe, por todo o carinho nos nossos reencontros e pela amizade “enraizada” que construímos.

Às bancas examinadoras, pela disponibilidade de contribuir com o nosso trabalho, professora Elisa Souza Orth, que contribuiu com os pareceres desde o projeto inicial do mestrado até a dissertação e professora Joana Léa Meira Silveira por sempre contribuir com o nosso grupo.

Ao técnico Angelo R. dos S. Oliveira pelas Análises Termogravimétricas.

Ao Centro de Ressonância Magnética Nuclear – UFPR, pelas análises de RMN, em especial ao professor Guilherme Lanzi Sasaki e a aluna Lívia Macedo Dutra que realizou as últimas análises.

Aos professores Philip Albert James Gorin (*in memoriam*) e Guilherme Lanzi Sasaki pelas análises no GC-MS.

À professora Joana Léa Meira Silveira e a técnica Elisangela, pela análise no HPAEC-PAD.

À professora Denise Freitas Siqueira Petri, IQ/USP-SP, pelas análises no ICP OES.

Ao MsC. Cleverton Pirich pela análise do Potencial Zeta.

Aos professores do Departamento de Química que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação e para o desenvolvimento deste trabalho.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química da UFPR e a todos os demais colaboradores do Programa.

A Capes pela bolsa concedida e apoio financeiro.

**Não perca de vista seu ponto de partida.**

**Santa Clara de Assis**

**Comece fazendo o que é necessário,  
depois o que é possível, e de repente  
estará fazendo o impossível.**

**São Francisco de Assis**

## RESUMO

A *Pereskia aculeata* é uma cactácea, nativa do Brasil, suas folhas são utilizadas na alimentação e medicina popular. Neste trabalho foram utilizadas folhas coletadas no outono, em Ribeirão Branco-SP, com o objetivo de extrair a mucilagem e caracterizar sua composição, estrutura química e propriedades físico-químicas. A partir da extração aquosa a frio, purificação do extrato bruto aquoso por centrifugação e precipitação em etanol, obteve-se um rendimento de 1,6% (m/m), em relação às folhas verdes, considerado alto, no qual se quantificou por espectrofotocolorimetria 48,3 % de carboidrato, 18,8 % de proteína e 26,2 % de ácido urônico, identificado como ácido galacturônico por cromatografia de alto desempenho de troca iônica com detector amperométrico (PAD). A caracterização dos demais monossacarídeos pela técnica de PAD, após hidrólise ácida, de forma qualitativa mostrou, também, a presença de fucose, ramnose, arabinose e galactose. A análise dos derivados de acetato de O-metil alditois, por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS), comparativa aos produtos após carboxi-redução e remetilação, mostrou que a mucilagem é composta por galactose (~49 mol%), arabinose (~21 mol%), ramnose (~14 mol%), fucose (~7 mol%) e ácido galacturônico (~9 mol%); sendo a cadeia principal formada por D-galactose (1→4) com ramificações de arabinose no C-3. Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de hidrogênio ( $^1\text{H}$ ), carbono ( $^{13}\text{C}$ ) e bidimensionais (HSQC e HBMC) confirmaram a composição, ligações glicosídicas e a anomericidade, sendo possível caracterizar uma arabinogalactana do tipo I, com baixo grau de esterificação para o ácido  $\alpha$ -D-galacturônico (35,5 %). Por termogravimetria, quantificou-se (m/m) 9 % de umidade, e 16 % de massa residual constituída por cinzas e por óxidos de metais, sendo alguns metais quantificados em Espectrômetro Ótico de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES, Radial). Através da cromatografia em gel acoplada a multidetectores se observou que a amostra é dispersa, formada por 4 picos. Com o valor de  $0,16 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$  para o  $dn/dc$ , foi determinada a massa molar média ponderal do principal polissacarídeo como  $7,9 \times 10^5 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , com índice de dispersão de 1,3. Através da fórmula de Mark-Houwink, a viscosidade intrínseca ( $26 \text{ dL}\cdot\text{g}^{-1}$ ) forneceu os valores de K e  $\alpha$  que indicaram que a mucilagem tem conformação aleatória e cadeias flexíveis em solução de nitrato de sódio, com raio de giro de 41 nm e concentração crítica ( $c^*$ ) de  $4,6 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . O potencial zeta, -25 mV, foi atribuído a presença de ácido galacturônico, de carboxilas nas cadeias laterais dos aminoácidos, e de hidroxilas. Por tensiometria determinou-se a concentração de adsorção interfacial crítica ( $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), a concentração crítica de auto-associação ( $8 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) e que a amostra tem características de tensoativo. Com relação ao comportamento reológico da mucilagem a  $60 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  dispersa em água, observou-se caráter pseudoplástico, que melhora pela adição de sal e aquecimento na pré-dispersão, conforme resultados pelo modelo de Ostwald de Waele. Embora complexo e aumente a viscosidade em presença de íons  $\text{Ca}^{2+}$  ( $0,0075 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) e hidreto, a pH 7,1, teve perfil de dispersão viscoelástica pelo modelo de Cox-Merz, provavelmente, pelo baixo teor de grupos éster na mucilagem.

Palavras-chave: *Pereskia aculeata*. Mucilagem. Arabinogalactana. Reologia.

## ABSTRACT

*Pereskia aculeata* is a cactaceous, native from Brazil, and its leaves are used as food and in folk medicine. In the present study, were utilized leaves collected in the autumn, in Ribeirão Branco-SP, with the goal of extracting the mucilage and characterize their composition, chemical structure and physical-chemical properties. The leaves were submitted to a cold aqueous extraction, followed by purification by centrifugation and ethanol precipitation, the yield was 1.6%. Through spectrophotometry was quantified 48.3% of carbohydrate, 18.8% of protein and 26.2% of uronic acid, identified as galacturonic acid through high performance anion exchange chromatography with amperometric detector (PAD). After hydrolysis, by PAD, detected the presence of fucose, rhamnase, arabinose and galactose. Analysis of the acetate derivatives of O-methyl alditols was performed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). Comparative results with the products of carboxy reduction, remethylation showed the presence of galactose (~ 49 mol%), arabinose (~ 21 mol%), rhamnase (~ 14 mol%), fucose (~ 7 mol%) and galacturonic acid (~ 9 mol%); which main chain consisting of D-galactose linked (1 → 4) partially substituted at C-3 by arabinose. Nuclear magnetic resonance (NMR) spectra of hydrogen ( $^1\text{H}$ ), carbon ( $^{13}\text{C}$ ) and two-dimensional (HSQC and HBMC) confirmed the composition, glycosidic linkages and anomeric region, being possible to characterize a type I arabinogalactan, with low degree of esterification to the  $\alpha$ -D-galacturonic acid (35.5 %). Through thermogravimetry analysis was quantified 9% moisture and 16% residual mass, consisting of ash and metal oxides, and some metals quantified in Optical Atomic Emission Spectrometer with Inductively Coupled Plasma (ICP OES, Radial). By gel chromatography analysis coupled to multidetector the dispersed sample consisting of 4 peaks. Was determined  $0.16 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$  for the  $dn/dc$ , the mass average molecular weight of main polysaccharide of  $7.9 \times 10^5 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , and a dispersion index of 1.3. The Mark-Houwink equation provided the intrinsic viscosity ( $26 \text{ dL}\cdot\text{g}^{-1}$ ), the K and  $\alpha$  values, showing that the mucilage was in random conformation and flexible chains in sodium nitrate solution, radius of gyration of 41 nm and critical concentration ( $c^*$ ) of  $4.6 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . The zeta potential (-25 mV) was attributed to the presence of galacturonic acid, the carboxyl groups in the side chains of amino acids and hydroxyl groups. Analysis by tensiometry provided the interfacial adsorption critical concentration ( $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), the critical concentration for self-association ( $8 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) and suggest the sample has surfactant behavior. On concern to the rheological behavior ( $60 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) was observed pseudoplastic character, which improves by adding salt and heating the pre-dispersion, as the result of Ostwald Waele model. Although complex and increase the viscosity in the presence of  $\text{Ca}^{2+}$  ions ( $0.0075 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), hydride, at pH 7.1, the Cox-Merz model showed viscoelastic profile dispersion, probably due to the low content ester groups in the mucilage.

Keywords: *Pereskia aculeata*. Mucilage. Arabinogalactan. Rheology.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. REPRESENTAÇÃO DA GALACTOSE ANTES E DEPOIS DA CICLIZAÇÃO.....	22
FIGURA 2. HIDROCOLÓIDES COMERCIALMENTE IMPORTANTES E SUAS ORIGENS (PHILLIPS E WILLIAMS, 2009) .....	27
FIGURA 3. REPRESENTAÇÃO DO RAIOS DE GIRO ONDE UMA CADEIA DE POLÍMERO TEM UM VOLUME APROXIMADO DO RAIOS DE UMA ESFERA (TERAOKA, 2002).....	31
FIGURA 4. REGIMES DE CONCENTRAÇÃO PARA SOLUÇÕES DE POLÍMEROS FLEXÍVEIS LINEARES: SOLUÇÃO DILUÍDA $C \ll C^*$ ; SOLUÇÃO NA CONCENTRAÇÃO CRÍTICA $C \cong C^*$ ; SOLUÇÃO SEMIDILUÍDA $C \gg C^*$ (TERAOKA, 2002).....	32
FIGURA 5. CLASSIFICAÇÃO DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DE FLUIDOS (TONELI ET AL., 2005).....	34
FIGURA 6. CURVAS DE VISCOSIDADE PARA FLUIDO DILATANTE, PSEUDOPLÁSTICO E NEWTONIANO (BRETAS E D'AVILA, 2000) .....	34
FIGURA 7. CURVAS DE FLUXO (A) E DE VISCOSIDADE (B) PARA FLUIDOS NÃO NEWTONIANOS (SCHARAMM, 2006) .....	36
FIGURA 8. CURVAS DE ESCOAMENTO PARA FLUIDOS DEPENDENTES DO TEMPO (SHARMA, MULVANEY E RIZVI, 2000).....	37
FIGURA 9. DISPERSÕES EM REPOUSO E EM ESCOAMENTO ATRAVÉS DE UM TUBO (SCHARAMM, 2006).....	39
FIGURA 10. ESPECTRO DE $^{13}\text{C}$ -RMN PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> EM $\text{D}_2\text{O}$ , A $70^\circ\text{C}$ . DESLOCAMENTOS QUÍMICOS EXPRESSOS EM ( $\delta$ ) ppm. ....	63
FIGURA 11. ESPECTRO DE HSQC-RMN PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> EM $\text{D}_2\text{O}$ , A $70^\circ\text{C}$ . DESLOCAMENTOS QUÍMICOS EXPRESSOS EM ( $\delta$ ) ppm.....	64

FIGURA 12. REPRESENTAÇÃO DOS MONOSSACARÍDEOS ENCONTRADOS PELO ESPECTRO DE HMBC-RMN. A: LIGAÇÕES ENTRE H-1 DE 1,4-β-Galp E C-3 DE 1,4-β-Galp. B: LIGAÇÕES ENTRE H-1 DE 1,4-β-Galp E C-3 DE 1,2,4-Arap. C: LIGAÇÕES ENTRE H-1 DE 1,4-β-Galp E C-1 DE Rhap. D: LIGAÇÕES ENTRE C-1 DE 1,4-β-Galp E H-5 DE D-Galp. E: LIGAÇÕES ENTRE H-2 DE Araf-t E C-1 1,4-β-Galp. F: LIGAÇÕES ENTRE H-2 DE Araf-t E C-2 1,3,4-β-Galp. G: LIGAÇÕES ENTRE H-1 DE Araf-t E C-1 1,5-α-Araf. ....	66
FIGURA 13. CURVAS DE TG E dTG PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> , OBTIDA POR ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA. EM ATMOSFERA DE AR ATMOSFÉRICO E TAXA DE AQUECIMENTO DE 5 °C.min <sup>-1</sup> .....	67
FIGURA 14. PERFIL DE ELUIÇÃO POR CROMATOGRAFIA DE EXCLUSÃO POR TAMANHO DA MUCILAGEM DE FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> , NA CONCENTRAÇÃO DE 1 mg.mL <sup>-1</sup> , EM 0,1 mol.L <sup>-1</sup> DE NaNO <sub>3</sub> .....	69
FIGURA 15. TENSÃO SUPERFICIAL DA MUCILAGEM PREPARADA EM ÁGUA, RELACIONADA AO LOG DAS CONCENTRAÇÕES ENTRE 0,1 e 40 mg.mL <sup>-1</sup> , A 25°C±2 .....	74
FIGURA 16. CURVAS DE VISCOSIDADE APARENTE PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> , EXTRATO BRUTO E PURIFICADO. NA CONCENTRAÇÃO 60 mg.mL <sup>-1</sup> PREPARADAS EM ÁGUA PURA, A 25°C.....	75
FIGURA 17. CURVAS DE VISCOSIDADE APARENTE PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> , NA CONCENTRAÇÃO 60 mg.mL <sup>-1</sup> PREPARADAS EM ÁGUA E EM SOLUÇÕES DE NaCl, A 25°C.....	77
FIGURA 18. CURVAS DE VISCOSIDADE APARENTE PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> , NA CONCENTRAÇÃO 60 mg.mL <sup>-1</sup> PREPARADAS EM ÁGUA, SEM AQUECIMENTO E PÓS AQUECIMENTO ANTES DAS ANÁLISES, A 25°C .....	78
FIGURA 19. CURVAS DE VISCOSIDADE APARENTE PARA MUCILAGEM DAS FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> , NA CONCENTRAÇÃO DE 60 mg.mL <sup>-1</sup> , EM DIFERENTES pHs E EM ÁGUA, A 25°C .....	80

FIGURA 20. CURVAS DE VISCOSIDADE APARENTE PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> , NA CONCENTRAÇÃO 60 mg.mL <sup>-1</sup> PREPARADAS EM ÁGUA, COM ÍONS CÁLCIO EM pH 7,1 COM E SEM PRÉ-AQUECIMENTO, E COM E SEM HIDRETO, A 25°C .....	81
FIGURA 21. CURVAS PARA DETERMINAÇÃO DA REGIÃO VISCOELÁSTICA PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> , com íons Ca <sup>2+</sup> , pH 7,1 E H <sup>+</sup> , A 25°C .....	83
FIGURA 22. VARREDURA DE FREQUÊNCIA PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> , a 60g/L, COM ÍONS Ca <sup>2+</sup> , pH 7,1 E H <sup>+</sup> . G' (MÓDULO DE ARMAZENAMENTO) E G'' (MÓDULO DE PERDA), A 25°C .....	84
FIGURA 23. GRÁFICO DE COX-MERZ PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> , a 60 g.L <sup>-1</sup> , COM ÍONS Ca <sup>2+</sup> , pH 7,1 E H <sup>+</sup> , 25 °C .....	85

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. ELEMENTOS DETERMINADOS POR ICP OES E SEUS RESPECTIVOS COMPRIMENTOS DE ONDA .....	46
TABELA 2. DETERMINAÇÃO EM % (m/m) DE ÁCIDO URÔNICO, AÇÚCAR TOTAL E PROTEÍNA PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> ..	55
TABELA 3. QUANTIFICAÇÃO DE MINERAIS PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> .....	57
TABELA 4. DETERMINAÇÃO DE MONOSSACARÍDEOS POR CROMATOGRAFIA ANIÔNICA DE ALTA RESOLUÇÃO COM DETECÇÃO POR PULSO AMPEROMÉTRICO (HPAEC-PAD) DA MUCILAGEM DAS FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> .....	58
TABELA 5. DETERMINAÇÃO DE MONOSSACARÍDEOS COMO DERIVADOS DE ACETATO DE ALDITOIS O-METILADOS*, APÓS REAÇÃO DE METILAÇÃO DA MUCILAGEM DAS FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> , ANTES A APÓS O PROCESSO DE CARBOXI-REDUÇÃO .....	60
TABELA 6. LIGAÇÕES E DESLOCAMENTOS QUÍMICOS REFERENTES A ARABINOSE OBTIDOS POR <sup>13</sup> C-RMN. EM D <sub>2</sub> O, A 70°C. DESLOCAMENTOS QUÍMICOS EXPRESSOS EM (δ) ppm.....	62
TABELA 7. LIGAÇÕES E DESLOCAMENTOS QUÍMICOS REFERENTES A GALACTOSE OBTIDOS POR <sup>13</sup> C-RMN. EM D <sub>2</sub> O, a 70°C. DESLOCAMENTOS QUÍMICOS EXPRESSOS EM (δ) ppm.....	62
TABELA 8. LIGAÇÕES E DESLOCAMENTOS QUÍMICOS REFERENTES AOS MONOSSACARÍDEOS DA MUCILAGEM DE FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> , OBTIDOS POR HSQC-RMN. EM D <sub>2</sub> O, a 70°C. DESLOCAMENTOS QUÍMICOS EXPRESSOS EM (δ) ppm.....	65
TABELA 9. CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES MACROMOLECULARES DA MUCILAGEM DAS FOLHAS DE <i>P. aculeata</i> , ANALISADAS POR SEC-MULTIDETECTORES .....	70

TABELA 10. PARÂMETROS REOLÓGICOS REFERENTES AO MODELO MATEMÁTICO DE OSWALD DE WAELE PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata* ..... 76

TABELA 11. PARÂMETROS REOLÓGICOS REFERENTES AO MODELO MATEMÁTICO DE OSWALD DE WAELE PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata* ..... 82

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

BioPol	- Laboratório de Biotecnologia em Polissacarídeos
$c^*$	- concentração crítica
CGEN	- Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
CNPq	- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
$dn/dc$	- relação índice de refração pela concentração
$dTG$	- termogravimetria derivada
$f$	- furanosídico
$g$	- força gravitacional
$G'$	- módulo de armazenamento ou elástico
$G''$	- módulo de perda ou viscoso
GC-MS	- cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas
GM	- grau de metil-esterificação
HMBC	- <i>heteronuclear multiple quantum correlation spectroscopy</i>
HPAEC-PAD	- cromatografia aniônica de alta resolução com detecção por pulso amperométrico
HSQC	- <i>heteronuclear single quantum coherence</i>
i.d.	- diâmetro interno
IA	- intensidade da área A, referentes ao H-1 das unidades de ácido galacturônico esterificadas e livres
IB	- intensidade da área B, correspondem as unidades de H-5 de ácido-D-galacturônico esterificadas
ICP OES	- Espectrômetro Ótico de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado
K	- constante de Mark-Houwink
$K$	- coeficiente de consistência
LALLS	- <i>Low Angle Laser Light Scattering</i>
MKS	- sistema de unidades (metro, quilograma, segundo)
$M_n$	- massa molar média numérica
$M_w$	- massa molar média ponderal
$M_w/M_n$	- dispersão

$n$	- índice de comportamento do fluido
$\eta^*$	- viscosidade dinâmica complexa
$N_a$	- número de Avogadro
OV-17	- fase, 50% fenilmetilsiloxano e 50% dimethylpolysiloxano
OV-225	- fase, 50% Cianopropilmetil e 50% Fenilmetilpolisiloxano
$p$	- piranosídico
<i>P. aculeata</i>	- <i>Pereskia aculeata</i>
RMN - $^{13}\text{C}$	- ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN - $^1\text{H}$	- ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RALLS	- <i>Right Angle Laser Light Scattering</i>
$R_g$	- raio de giro
RI	- índice de refração
SAA-SP	- Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo
SEC	- cromatografia de exclusão por tamanho
TG	- termogravimetria
TMS-p	- trimetilsililpropionato de sódio
UPA 1272	-Unidade de Preservação Ambiental
UV	- detector ultravioleta
$\alpha$	- constante de Mark-Houwink
$\zeta$	- potencial zeta
$\eta$	- viscosidade
$\eta_{ap}$	- viscosidade aparente
$\tau$	- tensão de cisalhamento
$\omega$	- frequência de oscilação, em $\text{rad.s}^{-1}$
$\delta$	- deslocamento químico
$\dot{\gamma}$	- taxa de cisalhamento
$[\eta]$	- viscosidade intrínseca

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
1.1	<i>Pereskia aculeata</i> Mill.....	19
1.2	Carboidratos em plantas .....	21
1.2.1	Arabinogalactanas .....	23
1.2.1.1.	Arabinogalactanas do Tipo I.....	24
1.2.1.2.	Arabinogalactanas tipo II.....	24
1.3	Hidrocolóides.....	25
1.4	Mucilagem .....	28
1.5	Parâmetros físico-químicos de polissacarídeos em solução .....	29
1.5.1	Massa molar .....	29
1.5.2	Raio de giro .....	31
1.5.3	Reologia .....	33
1.5.3.1	Fluidos Newtonianos.....	35
1.5.3.2	Fluidos Não Newtonianos .....	35
1.5.3.2.1	Fluidos Dependentes do Tempo .....	37
1.5.3.2.1.1	. Fluidos Tixotrópicos.....	37
1.5.3.2.1.2	. Fluidos Reopéticos .....	38
1.5.3.2.2	Fluidos Independentes do Tempo.....	38
1.5.3.2.2.1	. Fluidos Pseudoplásticos.....	38
1.5.3.2.2.2	. Fluidos Dilatantes .....	39
1.5.3.2.2.3	. Fluidos Plásticos de Bingham e Plásticos .....	40
1.5.3.2.1	Fluidos Viscoelástico.....	40
2	OBJETIVOS.....	41
2.1	Objetivo geral .....	41
2.2	Objetivos específicos.....	41
3	MATERIAIS E MÉTODOS .....	42
3.1	Origem das amostras .....	42
3.2	OBTENÇÃO DA MUCILAGEM.....	42
3.2.1	Obtenção do pó etanólico de folhas de <i>Pereskia aculeata</i> .....	42
3.2.2	Obtenção do extrato aquoso e mucilagem bruta a partir do pó etanólico.....	43
3.2.3	Purificação da mucilagem bruta.....	43
3.3	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ESTRUTURAL DA MUCILAGEM.....	44
3.3.1	Determinação de ácido urônico, açúcar total e proteína.....	44
3.3.2	Determinação de minerais.....	45
3.3.3	Composição da mucilagem em monossacarídeos .....	46
3.3.3.1	Identificação de monossacarídeos por cromatografia aniônica de alta resolução com detecção por pulso amperométrico (HPAEC-PAD)....	47
3.3.3.2	Identificação dos monossacarídeos e das ligações glicosídicas do polissacarídeo por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) .....	47
3.3.4	Análise da estrutura da mucilagem por ressonância magnética nuclear.....	48
3.4	DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DA MUCILAGEM .....	49
3.4.1	Análise por cromatografia de exclusão de tamanho (SEC) .....	49
3.4.1.1	Determinação da concentração crítica.....	50

3.4.2	Potencial zeta .....	50
3.4.3	Análise termogravimétrica .....	51
3.4.4	Tensiometria .....	51
3.4.5	Ensaio reológico das mucilagens bruta e purificada .....	51
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	54
4.1	EXTRAÇÃO E RENDIMENTO DA MUCILAGEM.....	54
4.2	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ESTRUTURAL DA MUCILAGEM.....	55
4.2.1	Determinação de ácidos urônicos, açúcar total e proteína .....	55
4.2.2	Determinação de minerais .....	56
4.2.3	Composição da mucilagem em monossacarídeos .....	58
4.2.4	Análise da estrutura da mucilagem por ressonância magnética nuclear.....	61
4.3	Determinação de parâmetros físico-químicos da mucilagem .....	67
4.3.1	Análise termogravimétrica .....	67
4.3.2	Análise por cromatografia de exclusão de tamanho (SEC) .....	68
4.3.3	Potencial zeta .....	72
4.3.4	Tensiometria .....	72
4.3.5	Ensaio reológico.....	74
4.3.5.1	Mucilagem dispersa em água .....	74
4.3.5.2	Mucilagem dispersa em soluções de NaCl .....	76
4.3.5.3	Efeito do aquecimento no preparo da dispersão e do aquecimento/resfriamento nas curvas de viscosidade .....	77
4.3.5.4	Efeito da variação de pH e da adição de íons cálcio à dispersão	79
4.3.5.5	Análise em regime oscilatório .....	82
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES .....	86
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	88

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 *Pereskia aculeata* Mill

Conhecida popularmente como *ora-pro-nobis*, palavra latina, que significa rogai por nós, a *Pereskia aculeata* foi primeiramente descrita como *Peireskia* por Plumier em 1703; em 1753 Linnaeus usou como nível de espécie o nome de *Cactus pereskia*, mas, logo em 1754, Miller a elevou ao nível de gênero. E, por isso, prevalece atualmente a dada nomeação (BUTTERWORTH e WALLACE, 2005). A atribuição do gênero foi em homenagem ao cientista francês Nicolas Claude Fabri de Peiresc (1580-1637) (SCHEINVAR, 1995), já o termo *aculeata* vem do latim cujo significado é espinho, agulha.

É uma planta perene, no caule há acúleos, ou seja, falsos espinhos, com folhas suculentas lanceoladas, as flores são pequenas e brancas e os frutos se apresentam como pequenas bagas amarelas. Proveniente da família das Cactáceas é uma das únicas com folhas desenvolvidas, sendo originária das Américas, ocorre desde a Flórida até o Brasil (MAPA, 2010).

Caracteriza-se por um desenvolvimento vegetativo durante o ano inteiro (ALMEIDA FILHO e CAMBRAIA, 1974). É uma planta rústica resistente à seca, característica para climas tropical e subtropical, adapta-se a diversos tipos de solo e pouco necessita de adubações, podendo se desenvolver em condições desfavoráveis à maioria de outras plantas. A facilidade de plantio e elevada produtividade da cultura no Brasil, vem agregando valores ao cultivo de *P. aculeata* (LIMA Jr *et al.*, 2013). Pode ser considerada uma planta indígena e que representa uma fonte de alimentação de baixo custo e de alta qualidade para a população com menor poder aquisitivo, especialmente, em regiões onde a desnutrição é generalizada. É, portanto, importante como fonte de alimento não convencional na agricultura e na economia (TAKEITI *et al.*, 2009).

A *ora-pro-nobis* é considerada uma hortaliça não convencional, também chamada de carne de pobre, devido ao alto teor de proteína, fornece também em sua composição vitaminas, sais minerais, fibras e hemiceluloses, que são importantes na alimentação e nutrição humana. Dentro da constituição proteica apresenta aminoácidos essenciais e não essenciais, com um elevado teor em

lisina (ALMEIDA FILHO e CAMBRAIA, 1974), um aminoácido encontrado em proteínas animais. Os valores encontrados de aminoácidos essenciais e não essenciais são próximos ou superiores aos recomendados pela FAO para dieta humana (FAO, 1984), com destaque para o triptofano que é o mais abundante (TAKEITI *et al.*, 2009).

Estudos desenvolvidos mostraram um elevado teor de fibra dietética total, em relação às folhas verdes (3,8%, m/m), teor proteico (28,4 %, m/m), sendo comparado em termos de matéria seca próximo ao feijão (18-20 %, m/m) (FONSECA, ARZOLLA, SARRUGE, 1964), com valores significativamente elevados com relação aos encontrados em folhas de batata doce (3,8 %, m/m) (ISHIDA, 2000), espinafre (3,2 %, m/m) e agrião (2,6 %, m/m) (SALAZAR *et al.*, 2006). Além de suas quantidades consideráveis de minerais como cálcio (3,42 mg/100g), magnésio (1,90 mg/100g), manganês (46,4 mg/100g), zinco (26,7 mg/100g) e fósforo (156 mg/100g), fornece também vitaminas (vitamina A, vitamina C e ácido fólico) em folhas frescas.

A *P. aculeata* é um ingrediente funcional e, além do uso alimentar, é usada na medicina popular, onde suas folhas são usadas como emoliente, conhecidas por suavizar inflamações e por auxiliar na cicatrização em casos de queimadura (SARTOR *et al.*, 2010) e como emolientes quando aplicadas sobre abscessos duros (CORRÊA, 1974). Estudos etnofarmacológicos revelam sua utilização para combater à anemia (DAMASCENO e BARBOSA, 2008). Além de possuir atividade antimicrobiana sobre vários micro-organismos, em concentrações que variaram entre 70 e 200  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (ROYO *et al.*, 2005), também não apresenta citotoxicidade em concentrações abaixo de 833  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (LUCYSZYN *et al.*, 2010).

Com relação ao carboidrato extraído com água (80 °C) das folhas da *P. aculeata*, verificou-se que esse é constituído, predominantemente, por uma arabinogalactana (SIERAKOWSKI, 1982, 1988; SIERAKOWSKI *et al.*, 1987). Comumente os polissacarídeos extraídos dos cactos são descritos como ricos em arabinogalactana, composta por galactose, arabinose, ramnose e ácido galacturônico (SÁENZ, SEPÚLVEDA e MATSUHIRO, 2004; HABIBI *et al.*, 2004). E, para orientar suas possíveis aplicações, é interessante e importante elucidar as estruturas químicas e as propriedades físico-químicas de carboidratos em

solução, pois isso envolve o desenvolvimento da pesquisa e da sociedade como um todo.

## 1.2 Carboidratos em plantas

Na classe de polissacarídeos pode-se estabelecer que são polímeros de monossacarídeos, os quais se unem por ligações glicosídicas, formada quando um grupo hidroxila (-OH) de uma molécula reage com a hidroxila da outra molécula a qual está ligada ao átomo de carbono da carbonila (LEHNINGER, 2006).

Por definição, todo polímero formado por mais de dez monossacarídeos recebe o nome de polissacarídeo. A maioria dos polissacarídeos presentes na natureza apresenta mais de cem unidades, alguns chegam até a ter na faixa de mil unidades monoméricas, além de poderem existir nas formas lineares ou ramificadas, também podem apresentar uma ou mais variedades de monômeros, então denominados homopolissacarídeos e heteropolissacarídeos, respectivamente (BERK, 1980).

Os carboidratos são definidos como aldeídos ou cetonas contendo um ou mais grupos hidroxilas na molécula, na maioria dos casos encontrados com cinco (arabinose) ou seis (glucose, galactose) átomos de carbono. Devido a essa variação, há uma nomenclatura que permite especificar o tamanho do anel, onde o termo furanose, refere-se a um anel com cinco carbonos e piranose a um anel de seis carbonos, em comparação com os anéis de furano e pirano, respectivamente (SOLOMONS e FRYHLE, 2006). Outra indicação de como está organizado o anel, são as orientações sobre a hidroxila da carbonila, sendo o anômero  $\alpha$  quando o grupo hidroxila (-OH) é trans ao grupo hidroxil metil (-CH<sub>2</sub>OH), e anômero  $\beta$  quando o grupo hidroxila (-OH) é cis ao grupo hidroxil metil (-CH<sub>2</sub>OH), como ilustrado na Figura 1.

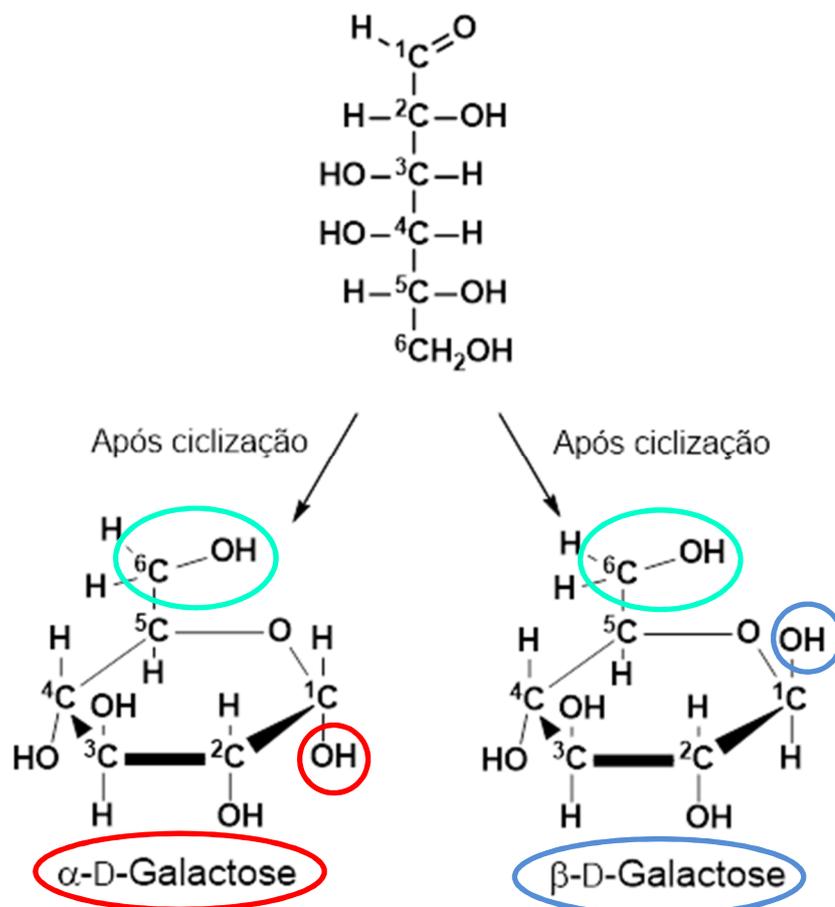


FIGURA 1. REPRESENTAÇÃO DA GALACTOSE ANTES E DEPOIS DA CICLIZAÇÃO

As biomoléculas denominadas carboidratos são muito importantes principalmente aos seres humanos, visto que são à base da alimentação na maior parte do mundo, sendo a principal fornecedora de energia para a maioria das células que não fazem fotossíntese. Os polímeros dos carboidratos estão presentes tanto na forma estrutural quanto de proteção nos tecidos conjuntivos de animais, paredes celulares bacterianas e vegetais (LEHNINGER, 2006).

Em plantas um dos grupos de moléculas mais importantes são os carboidratos, os quais podem se manifestar como monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos superiores, polissacarídeos e seus derivados. A natureza das ligações nos carboidratos complexos e a estrutura dos componentes individuais sacarídeos têm importantes consequências fisiológicas nas plantas (AVIGAD e DEY, 1997). Além da água, os carboidratos são os principais constituintes dos tecidos e células das plantas. Conseqüentemente,

formam os recursos naturais renováveis mais importantes na Terra e podem ser usados como matérias-primas para os processos industriais (REID, 1995).

O polissacarídeo obtido pela extração das folhas de *P. aculeata* é um exemplo dessa complexidade dada pela composição e estrutura das arabinogalactanas.

### 1.2.1 Arabinogalactanas

As arabinogalactanas são polissacarídeos estruturais, ou seja, que estão presentes na formação da estrutura dos vegetais superiores (FINCHER, STONE e CLARK, 1983) e apresenta uma estrutura molecular complexa e de difícil caracterização (WHISTLER e BeMILLER 1997; ASPINALL, 1982). Há diversos estudos na literatura sobre sua elucidação. Podem ser encontradas em sementes, raízes, caules, folhas, flores e em troncos dos vegetais superiores (FINCHER, STONE e CLARK, 1983; DELGOBO *et al.*, 1999; DONG e FANG, 2001; SHOWALTER, 2001; LIANG *et al.*, 2014; MA *et al.*, 2014).

As arabinogalactanas formam uma subclasse dos polissacarídeos, e têm massas molares que variam de  $10 \times 10^3$  e  $120 \times 10^3$  g.mol<sup>-1</sup>. Isso pode ser explicado porque além das variedades características de cada planta, também há variações nas técnicas analíticas (SAEED *et al.*, 2011). Aspinall (1973), ao evidenciar as diferenças quanto às ligações químicas envolvidas na cadeia principal dessas macromoléculas, as classificou de acordo com os tipos de ligações que unem as unidades de galactose na cadeia principal. As arabinogalactanas do tipo I são pouco ramificadas e apresentam cadeias principais de (1→4)-β-D-galactanas, enquanto as arabinogalactanas do tipo II são altamente ramificadas, e constituídas por cadeias principais de (1→3) e/ou (1→6)-β-D-galactanas.

### 1.2.1.1. Arabinogalactanas do Tipo I

As arabinogalactanas do tipo I são também chamadas de pécticas, por serem encontradas como cadeias laterais que ramificam as pectinas (ASPINALL, 1980; FINCHER, STONE e CLARKE, 1983; KACURÁKOVÁ *et al.*, 2000). Esses polissacarídeos são constituídos por uma cadeia principal de  $\beta$ -D-galactopiranoses ligadas (1 $\rightarrow$ 4), substituídas por unidades de arabinose e galactose. Segundo ASPINALL (1982) e STEPHEN (1983), as unidades substituintes são, geralmente, ligadas ao O-3 da cadeia principal de  $\beta$ -D-galactana e o conteúdo de arabinose que esse tipo pode apresentar é muito variável, podendo chegar a 50%.

A literatura demonstra maior diversidade nas estruturas químicas, com alto grau de complexidade, contendo, além de arabinose e galactose, monossacarídeos como ramnose, xilose, manose e glucose. A diversidade das arabinogalactanas do tipo I não é observada somente na composição monossacarídica, como também na massa molar e nas ligações glicosídicas entre as unidades que compõem as cadeias laterais dessas moléculas (CAPEK *et al.*, 2010; DIALLO *et al.*, 2003; KARDOŠOVÁ *et al.*, 2004; CIPRIANI *et al.*, 2009; DO NASCIMENTO *et al.*, 2015).

### 1.2.1.2. Arabinogalactanas tipo II

As arabinogalactanas do tipo II constituem uma ampla classe de biomoléculas, pois, apesar de apresentarem uma estrutura geral semelhante, a estrutura fina varia muito de espécie para espécie (CARPITA e GIBEAUT, 1993; ALBERSHEIM *et al.*, 1996; XU *et al.*, 2010). A composição monossacarídica pode apresentar variações, podendo o conteúdo de arabinose atingir até 80%.

As estruturas moleculares de arabinogalactanas do tipo II são altamente ramificadas, com cadeia longa e alta massa molar. A cadeia principal dessas moléculas é, geralmente, pequena e constituída por  $\beta$ -D-galactopiranoses interligadas (1 $\rightarrow$ 3), porém podem ainda ser observadas cadeias formadas por  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-D-galactopiranoses, ou ainda uma mistura de ligações (1 $\rightarrow$ 3) e (1 $\rightarrow$ 6). As

ramificações incluem cadeias laterais constituídas por unidades de  $\beta$ -D-galactopiranoses,  $\beta$ -D-galactopiranoses substituídas por  $\alpha$ -L-arabinofuranose ligadas (1 $\rightarrow$ 3) e cadeias de  $\alpha$ -L-arabinofuranose ligadas (1 $\rightarrow$ 5). As ramificações podem ainda conter unidades de ácido D-glucurônico, 4-O-metil-D-glucurônico e D-galacturônico (Mc NEIL, DARVILL e ALBERSHEIM, 1980; ASPINALL, 1982; FINCHER, STONE e CLARKE, 1983; STEPHEN, 1983; CAPEK *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2015).

As arabinogalactanas tipo I como as do tipo II fazem parte de um grupo de moléculas que constituem os hidrocolóides, cujas características, a seguir, são descritas.

### 1.3 Hidrocolóides

Os hidrocolóides são definidos como polímeros de cadeia longa, alta massa molar e são principalmente caracterizados pela propensão de inchar em água e formar dispersões viscosas, espessamento, emulsificação e formação de hidrogéis. Esta característica se dá pela presença de uma grande quantidade de grupamentos hidroxila (-OH), e carboxila (COO<sup>-</sup>) que aumentam consideravelmente a afinidade de ligação com moléculas de água tornando-os compostos hidrofílicos. Além disso, os hidrocolóides podem produzir uma dispersão, que é intermediária entre uma solução verdadeira e uma suspensão, e também exibem as propriedades de um colóide. Considerando essas duas propriedades, são apropriadamente denominados como hidrocolóides (DAI *et al.*, 2008; SAHA E BHATTACHARYA, 2010; BORTOLIN *et al.*, 2012; LI E NIE, 2015).

As mudanças no estilo de vida moderna, a crescente tomada de consciência da relação entre dieta e saúde e as novas tecnologias de processamento levaram a um rápido aumento no consumo de alimentos funcionais e ao desenvolvimento de alimentos com alto teor de fibras e baixa gordura (PHILLIPS e WILLIAMS, 2009). Os hidrocolóides, na indústria de alimentos, quando utilizados como ingredientes funcionais servem no controle de textura, como estabilizantes, com propriedades sensoriais e de aumento no tempo de prateleira dos produtos (DICKINSON, 2003). Os colóides alimentares

podem representar uma parte importante da nossa dieta diária, em produtos como molhos, maionese, iogurte e sorvetes. Assim, os hidrocolóides têm um conjunto diferencial de propriedades funcionais em alimentos (LI e NIE, 2015).

Graças às suas características únicas, esses hidrogéis têm, também, apresentado ampla utilização em produtos de higiene, engenharia de tecido, implantes biomédicos, aditivos para o solo na agricultura, horticultura além de sistemas de liberação controlada de fármacos devido suas boas propriedades mecânicas e biocompatibilidade (OH *et al.*, 2008). Especificamente, para aplicações médicas apresentam algumas vantagens que os tornam muito interessantes tais como: baixa toxicidade; capacidade de intumescer em fluídos biológicos, o que os assemelha aos tecidos vivos; consistência elastomérica, minimizando o atrito entre tecidos e o hidrogel; alta permeabilidade, o que permite o fluxo de fluídos corpóreos devido à sua alta porosidade; além da facilidade de obtenção em diferentes formatos, incorporação e liberação controlada de fármacos de diferentes polaridades (MOURA *et al.*, 2005).

Os hidrocolóides são abundantes na natureza e podem ser encontrados nas formas estrutural, e de reserva, ou como outros componentes funcionais em tecidos vegetais e animais. O termo hidrocolóide envolve todos os polissacarídeos que são extraídos de plantas, bem como derivados de gomas de plantas exudadas, além de algas e micro-organismos (DICKINSON, 2003; PHILLIPS e WILLIAMS, 2009). Os comercialmente importantes e suas fontes de exploração podem ser encontrados como descrito na Figura 2.

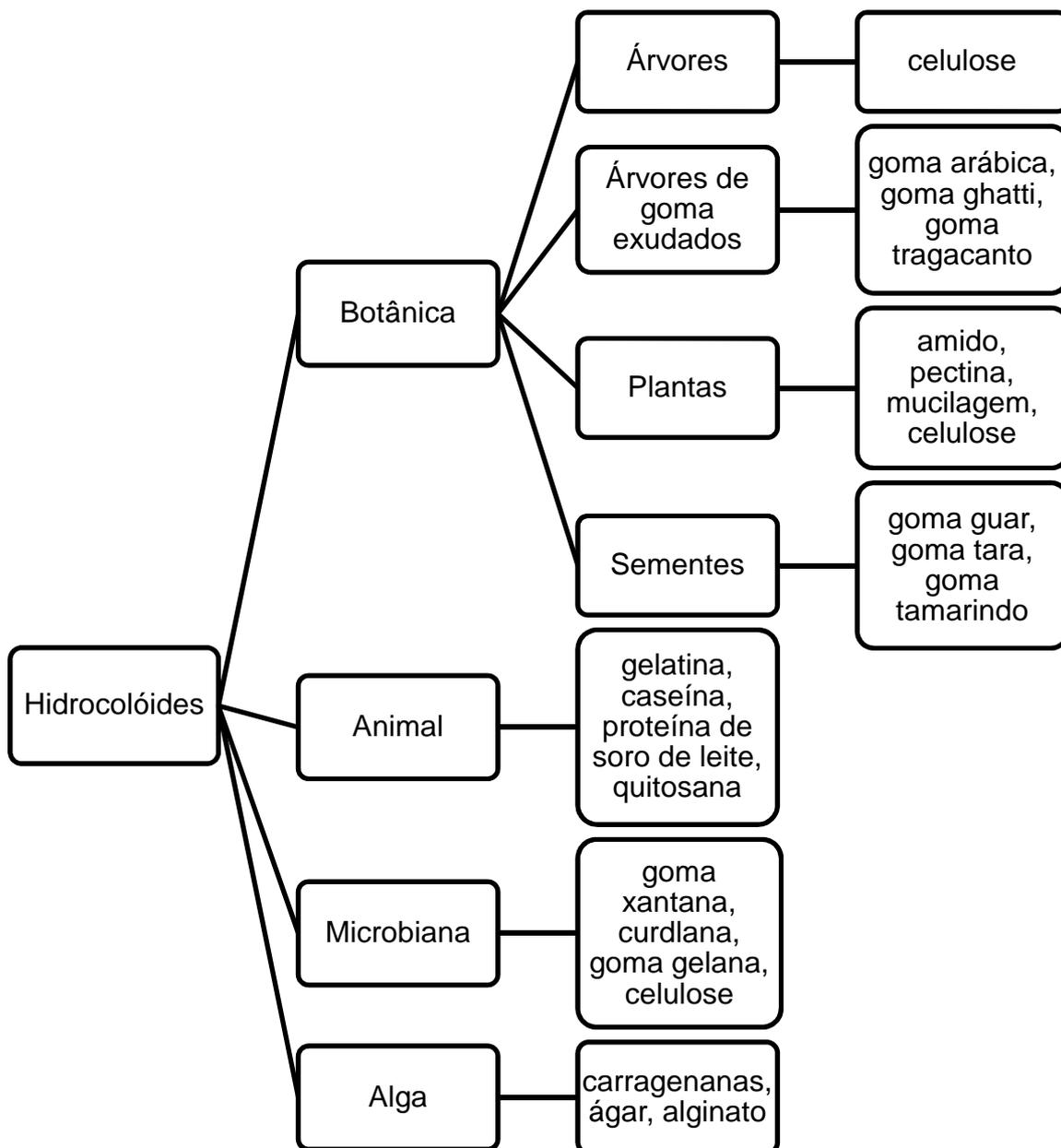


FIGURA 2. HIDROCOLÓIDES COMERCIALMENTE IMPORTANTES E SUAS ORIGENS (PHILLIPS e WILLIAMS, 2009)

Nos vegetais, dependendo da forma como são extraídos (a frio, a quente, a diferentes pHs e solventes), também podem receber outras denominações, entre elas estão as mucilagens.

## 1.4 Mucilagem

As mucilagens são hidrocolóides encontrados em grande quantidade na natureza e comumente em plantas. São polissacarídeos ou carboidratos complexos contendo um ou mais monossacarídeos ou seus derivados ligados e estruturados de inúmeras formas (PRAJAPATI *et al.*, 2013). Este tipo de polissacarídeo constitui uma classe de macromoléculas com diversidade estrutural, biológica e com uma ampla gama de propriedades físico-químicas que podem ser amplamente utilizados para várias aplicações (MALVIYA *et al.*, 2011). Em sua maior parte, são solúveis em água, têm aplicações extremamente significativas nas indústrias alimentares e farmacêuticas. Eles são amplamente utilizados na indústria farmacêutica e de alimentos como agentes espessantes, agentes de retenção de água, estabilizantes, agentes de suspensão e na preparação de cosméticos. Apresentam um bom potencial para aplicações farmacêuticas, tais como diluentes, aglutinantes, excipientes farmacêuticos, desintegrantes de comprimidos, espessantes em líquidos orais, agentes de formação de película em aplicação transdérmica, filmes periodontais e como agentes gelificantes para aplicação tópica, devido à facilidade de aplicação para uma melhor absorção percutânea (ARCHANA *et al.*, 2013).

Segundo Jani *et al.* (2009), podemos citar algumas vantagens na utilização das mucilagens, como exemplo, por suas características biodegradáveis, visto que são polímeros produzidos por organismos vivos, que representam as fontes renováveis e não há impacto adverso sobre a saúde humana ou ambiental; por serem biocompatíveis e quimicamente atóxicos. Praticamente toda a composição desses materiais vegetais são carboidratos e com a melhor adaptação do paciente, há menos efeitos colaterais quando comparados aos materiais sintéticos. Por serem de fontes naturais são mais baratos que os obtidos por síntese e também devido a disponibilidade na natureza (especialmente nos países em desenvolvimento).

O aumento da importância dos materiais à base de plantas, se deve ao fato que os recursos vegetais são renováveis e, se cultivados e colhidos de forma sustentável, podem ser um constante fornecimento de matérias-primas. No entanto, substâncias de origem vegetal também colocam alguns desafios na sua utilização, tais como: por serem sintetizados em pequenas quantidades e serem

estruturalmente complexas, que podem diferir de acordo com a localização das plantas, bem como outras variáveis, como a temporada da coleta. Isto pode resultar em isolamento dispendioso e lento processo de purificação. Contudo, esses desafios podem se tornar motivadores no estudo desses materiais. Visto que, em muitos casos, o uso de mucilagens é uma valiosa fonte de renda para pequenos agricultores pobres e trabalhadores de temporadas, tanto em países ou regiões pobres ou em desenvolvimento, sendo assim produções muito importantes. Da mesma forma, inúmeras pessoas ao redor do mundo utilizam esse tipo de material diariamente (ROBBINS, 1988; JANI *et al.*, 2009).

Particularmente, as mucilagens extraídas dos cactos, como é o caso da mucilagem das folhas de *P. aculeata*, de um modo geral, podem servir como fontes de alimentação, medicinais e cosméticos, e são cultivadas em terras áridas e semiáridas desfavoráveis para outras culturas. Principalmente, quando analisamos a desertificação global e fontes de água em declínio, estas plantas estão ganhando maior interesse. Na última década, muitos estudos sobre processamento de cactos e o estudo do polissacarídeo da mucilagem acrescentaram novo valor para essas culturas (PETERA *et al.*, 2015). E não só o conhecimento da sua composição é importante, como também é o de suas propriedades em solução.

## **1.5 Parâmetros físico-químicos de polissacarídeos em solução**

### **1.5.1 Massa molar**

A massa molar é uma característica fundamental dos polissacarídeos e sua determinação é importante em relação as suas muitas propriedades. Polissacarídeos são dispersos, em relação à sua massa molar, o que significa que, cada polissacarídeo contem em sua estrutura, cadeias com quantidades diferentes de unidades de monossacarídeos dando a distribuição da massa molar.

Há alguns tipos de estatísticas que descrevem médias de massa molar de uso comum. São, por exemplo, números de massa molar média numérica ( $M_n$ ) e massa molar média ponderal ( $M_w$ ). Essas médias são baseadas em aproximações estatísticas que podem ser descritas matematicamente.

As moléculas ou partículas de um polissacarídeo, por exemplo, variam em tamanho devido à diversidade de monômeros e tendem a ter distribuições assimétricas. Muitas vezes, a determinação detalhada de distribuição em massa ou tamanho de partícula molar relativa, se dá através de métodos experimentais que produzem valores médios. O valor da  $M_n$  depende das contribuições relativas das várias moléculas ou partículas para o estabelecimento do sistema que está sendo medido. E, juntamente com a massa molar ponderal média, fornece informações sobre a distribuição e a razão  $M_w/M_n$ , chamada de índice de dispersão, o qual leva em consideração, a distribuição e como está organizada essa distribuição. Por exemplo, acarretando nas propriedades de difusão e viscosidade do polímero em solução (SHAW, 1992; GOODWIN, 2004). E quando o valor da dispersão é 1 a massa molar ponderal média é a massa molar.

Existem algumas técnicas típicas para determinação de  $M_w$  de polissacarídeos, estas são divididas em técnicas chamadas absoluta, relativa e combinadas. Técnicas absolutas para determinação de  $M_w$ , não exigem nenhuma informação sobre a conformação molar, incluem as análises de osmometria, espalhamento de luz e sedimentação em equilíbrio. Técnicas relativas requerem algum conhecimento ou hipótese relativa à conformação molar, onde podem ser citadas as análises por viscosimetria e cromatografia por exclusão de tamanho (SEC). As técnicas combinadas usam informações de duas ou mais, assim como as citadas acima (WANG e CUI, 2005).

Esses procedimentos, além de massa molar, podem fornecer outros parâmetros que, quando relacionados, também facilitam encontrar outras características que são importantes para dar informações ao material estudado.

### 1.5.2 Raio de giro

O raio de giro ( $R_g$ ) pode ser definido como uma dimensão do espaço que uma cadeia de um polímero ocupa do centro de massa ( $r_G$ ) até a extremidade de uma esfera (Figura 3).

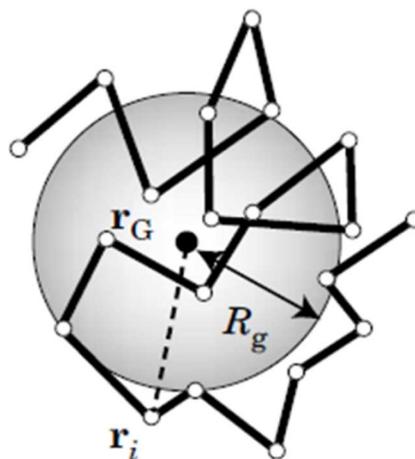


FIGURA 3. REPRESENTAÇÃO DO RAIOS DE GIRO ONDE UMA CADEIA DE POLÍMERO TEM UM VOLUME APROXIMADO DO RAIOS DE UMA ESFERA (TERAOKA, 2002)

O  $R_g$  pode ser obtido pelas técnicas de SEC e é usado para definir a concentração crítica ( $c^*$ ). Esta provisão permite aplicar a mesma definição para as soluções de polímeros não lineares, tais como polímeros de estrutura de estrela, ramificada ou esférica. Quando as cadeias se tornam mais esféricas, o  $R_g$  diminui em comparação com a mesma massa molar. Em consequência, a concentração crítica ocorre a uma concentração mais elevada (TERAOKA, 2002).

Em maiores concentrações, como a concentração ( $c$ ) aumenta, o sistema torna-se congestionado e, eventualmente, as moléculas se chocam. Assim, na chamada concentração crítica ( $c^*$ ), o volume total da solução é “empacotado” com essas esferas que são menores e, também, pode ocorrer a formação de redes interpenetradas poliméricas, onde uma cadeia do polímero permeia outra rede a nível molar com ou sem ligações químicas (WANG e CUI, 2005). A Figura 4 apresenta três séries de concentrações ( $c$ ):  $c \ll c^*$ ,  $c \cong c^*$ , e  $c \gg c^*$ .

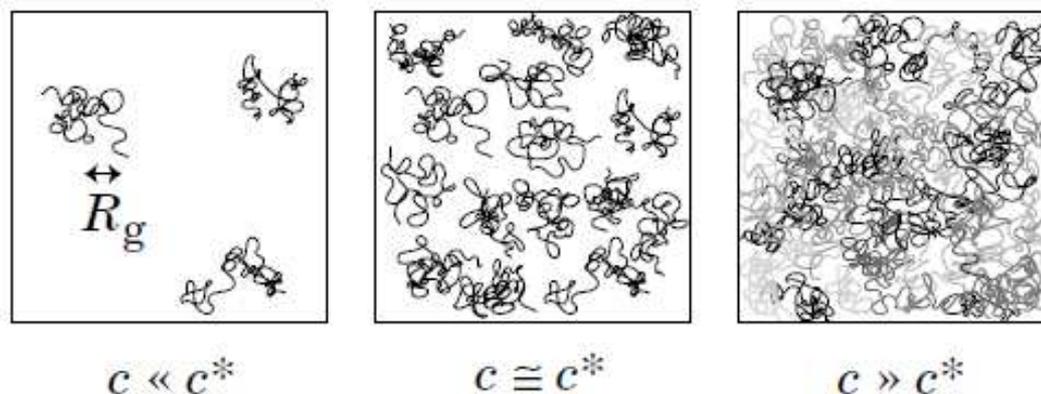


FIGURA 4. REGIMES DE CONCENTRAÇÃO PARA SOLUÇÕES DE POLÍMEROS FLEXÍVEIS LINEARES: SOLUÇÃO DILUÍDA  $c \ll c^*$ ; SOLUÇÃO NA CONCENTRAÇÃO CRÍTICA  $c \cong c^*$ ; SOLUÇÃO SEMIDILUÍDA  $c \gg c^*$  (TERAOKA, 2002)

Quando  $c$  é menor que  $c^*$ , a solução é chamada diluída. As cadeias são separadas uma das outras e comportam-se mais ou menos de forma independente. A cadeia de polímero interage, principalmente, com as moléculas do solvente. A solução se aproxima de uma solução ideal. A situação é diferente em concentrações acima de  $c^*$ . A solução se enquadra no chamado regime semidiluído. Quando  $c$  é maior que  $c^*$ , as cadeias estão sobrepostas e entrelaçadas. A sua mobilidade é muito reduzida em comparação com as cadeias em soluções diluídas. As propriedades termodinâmicas das soluções semidiluídas são muito diferentes das de uma solução ideal extrapolada com a mesma concentração. Em soluções poliméricas, o desvio da idealidade da solução tem lugar à baixa concentração em termos da fração de volume ou da concentração em massa. A existência do regime semidiluído é característica de soluções poliméricas.

Em maiores concentrações ( $c^*$ ), as soluções entram no chamado regime concentrado, onde em cada segmento da cadeia do polímero não há espaço suficiente disponível para mobilidade. Para um polímero de uma massa molar significativamente elevada, existe uma variação de concentrações entre concentração crítica e concentrada (TERAOKA, 2002).

No processamento de materiais poliméricos em solução, é importante conhecer a dependência da concentração estática e as propriedades dinâmicas das macromoléculas em solução (YINGT E CHU, 1987), para que assim seja possível desenvolver e otimizar aplicabilidades da macromolécula. Visto que

elevadas massas molares em macromoléculas, tendem a formação de inúmeras conformações, levando ao emaranhamento e desemaranhamento entre elas, ocasionando na formação de laços ou nós temporários. Esse processo é dinâmico, já que estão em contínuo movimento. A intensidade e duração desses entrelaçamentos determinam algumas propriedades dessas macromoléculas em solução, visto que elas tentam a voltar ao seu estado de equilíbrio que têm a conformação de cadeias aleatórias (BRETAS e D'AVILA, 2000). Um dos efeitos que podem ser mencionados sobre a variação da massa molar, é com relação à viscosidade, onde o aumento dessa massa aumenta linearmente a viscosidade da solução, para um mesmo polímero-solvente e mesma temperatura (LUCAS, SOARES e MONTEIRO, 2001), interferindo nas propriedades de fluxo onde está a reologia.

### 1.5.3 Reologia

Reologia é definida como a ciência da deformação e fluxo da matéria, ou seja, a que estuda como os materiais podem responder quando determinada tensão ou deformação externa é aplicada (STEFFE, 1996). SCHARAMM (2000) define reologia como a deformação de um corpo (gases, líquidos ou sólidos) sofre sob a influência de tensões.

A viscosidade de um fluido é a propriedade que indica a resistência a uma determinada força de cisalhamento e/ou escoamento interna ao fluxo, a qual depende da taxa de cisalhamento ou deformação, temperatura, tempo e histórico anterior a essa força (SHARMA, MULVANEY e RIZVI, 2000). Assim sendo, de forma geral, podem ser divididos em fluidos newtonianos e não newtonianos.

Os fluidos newtonianos possuem um valor de viscosidade invariável a uma temperatura constante, enquanto que os fluidos não-Newtonianos a viscosidade aparente depende da taxa de cisalhamento (BARNES, HUTTON e WALTERS, 1989; CHHABRA e RICHARDSON, 1999). A figura 5 exemplifica como os fluidos estão organizados e subdivididos.

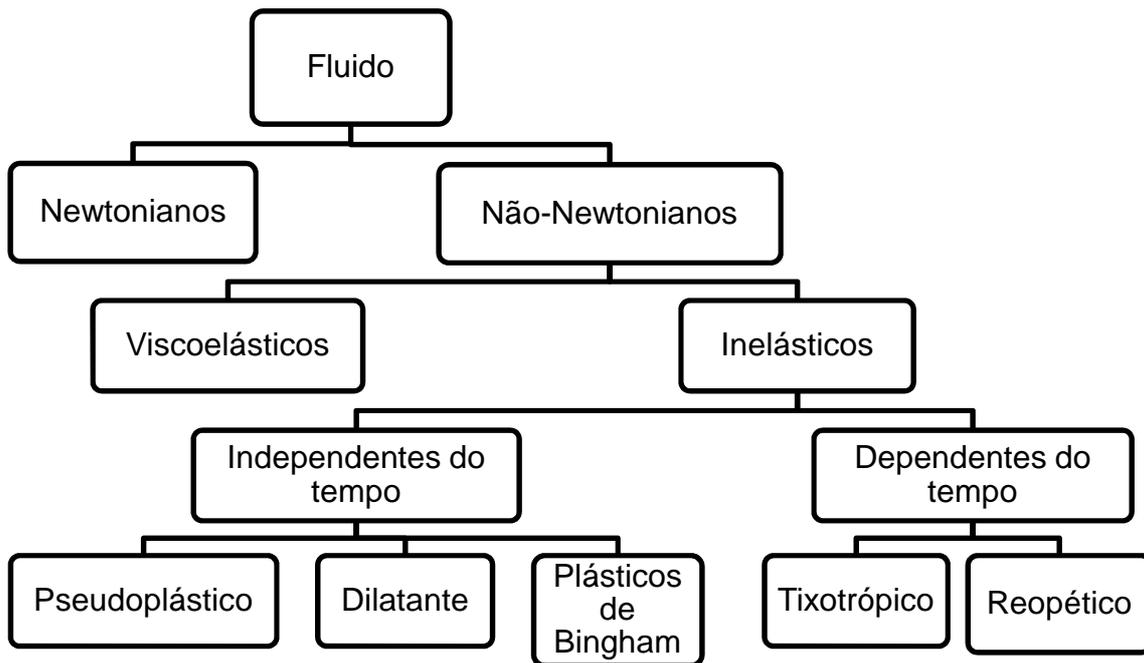


FIGURA 5. CLASSIFICAÇÃO DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DE FLUIDOS (TONELI *et al.*, 2005)

A figura 6 mostra a relação entre  $\log$  viscosidade ( $\eta$ ) e  $\log$  taxa de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ), conhecida como curva de viscosidade, a qual mostra como os fluidos citados se comportam a uma determinada taxa de cisalhamento.

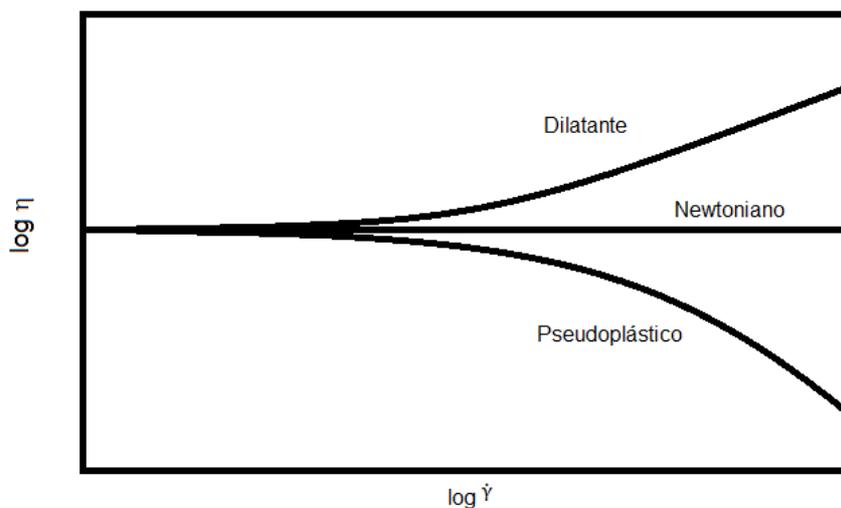


FIGURA 6. CURVAS DE VISCOSIDADE PARA FLUIDO DILATANTE, PSEUDOPLÁSTICO E NEWTONIANO (BRETAS e D'AVILA, 2000)

### 1.5.3.1 Fluidos Newtonianos

Os fluidos newtonianos, por definição, possuem uma relação estritamente linear entre tensão de cisalhamento e taxa de deformação, com reta passando pela origem (STEFFE, 1996), ou seja, não há alteração na viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento. A resistência que o fluido oferece ao escoamento é caracterizada como a sua viscosidade newtoniana ( $\eta$ ), como mostra a Equação (1).

As propriedades reológicas de fluidos newtonianos são independentes da taxa de cisalhamento e do histórico anterior de cisalhamento e são dependentes da composição e temperatura (BARNES, HUTTON e WALTERS, 1989). Para um fluido newtoniano, os valores de tensão de cisalhamento e da taxa de cisalhamento pertencem a uma reta em que a viscosidade não é afetada pelas mudanças na taxa de cisalhamento (SHARMA, MULVANEY e RIZVI, 2000).

Equação 1:

$$\tau = \eta (\dot{\gamma})$$

Onde no sistema MKS:

$\tau$ : tensão de cisalhamento ( $\text{N.m}^{-2} = \text{Pa}$ );

$\dot{\gamma}$ : taxa de cisalhamento ( $\text{s}^{-1}$ );

$\eta$ : viscosidade newtoniana ( $\text{Pa.s}$ )

### 1.5.3.2 Fluidos Não Newtonianos

Todos os fluidos que não apresentam a linearidade com relação à viscosidade, taxa de cisalhamento e tensão de cisalhamento são denominados como não newtonianos (SHARMA, MULVANEY e RIZVI, 2000).

Conforme o esquema da figura 5, os fluidos não newtonianos podem ser dependentes ou independentes do tempo. Para os fluidos não newtonianos independentes do tempo, quando são mantidas constantes a temperatura e a composição, tem-se a viscosidade aparente e que depende da taxa de cisalhamento ou da tensão de cisalhamento (BARNES, HUTTON e WALTERS,

1989). Os dependentes do tempo, além dos fatores acima citados, dependem do tempo que foram cisalhados. Para fluidos não newtonianos o termo viscosidade é substituído por  $\eta_{ap}$  que é a viscosidade aparente e é função do gradiente de velocidade (HAMINIUK, 2007), como pode ser observado na equação 2.

Equação 2:

$$\eta_{ap} = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$$

Onde:

$\eta_{ap}$ : viscosidade aparente (Pa.s);

$\tau$ : tensão de cisalhamento ( $N.m^{-2} = Pa$ );

$\dot{\gamma}$ : taxa de cisalhamento ( $s^{-1}$ )

A figura 7 ilustra o comportamento de fluidos não newtonianos, com relação as curvas de fluxo e as de viscosidade.

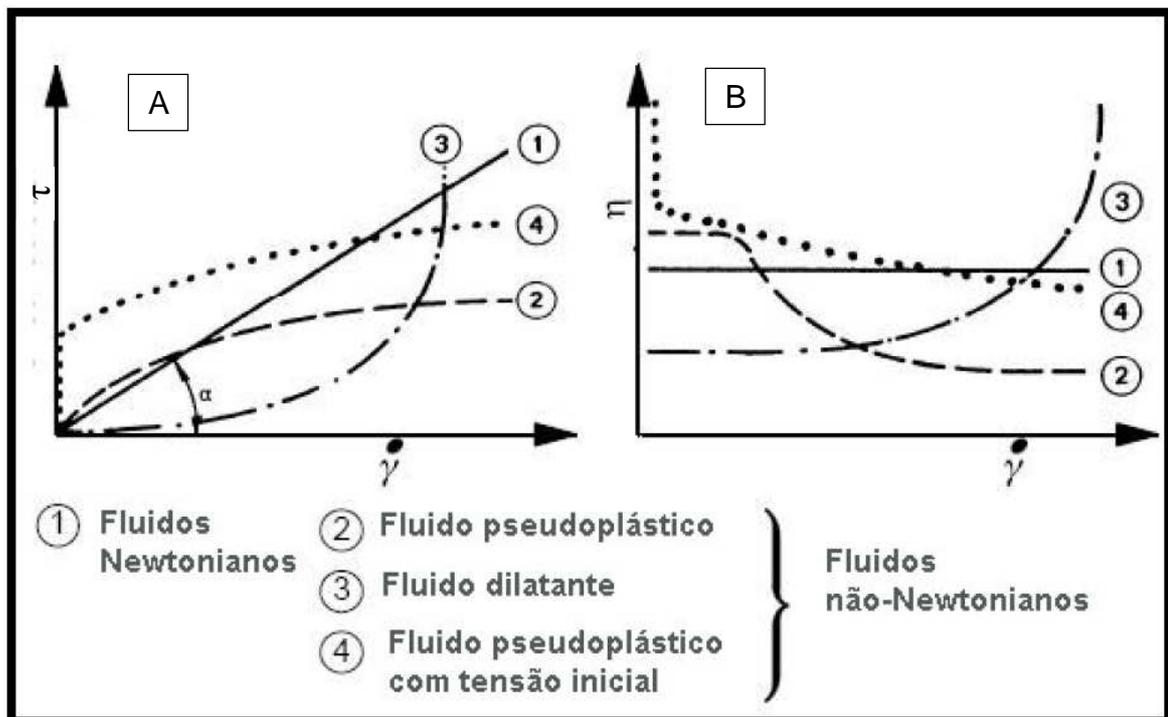


FIGURA 7. CURVAS DE FLUXO (A) E DE VISCOSIDADE (B) PARA FLUIDOS NÃO NEWTONIANOS (SCHARAMM, 2006)

### 1.5.3.2.1 Fluidos Dependentes do Tempo

A dependência do tempo em fluidos não newtonianos é observada com certa frequência. Um indício do comportamento reológico dependente do tempo de um fluido é a observação da chamada curva de histerese. A qual pode ser observada quando numa curva de fluxo do material analisado, a substância é submetida a um aumento na variação da taxa de cisalhamento (ida) e, quando essa atingir um valor máximo, é reduzida até retornar ao valor inicial (volta). Se essas duas curvas não se sobrepõem, formando uma área entre as curvas, essa área se denomina histerese (BARNES, HUTTON e WALTERS, 1989). A figura 8 exemplifica a formação dessa área.

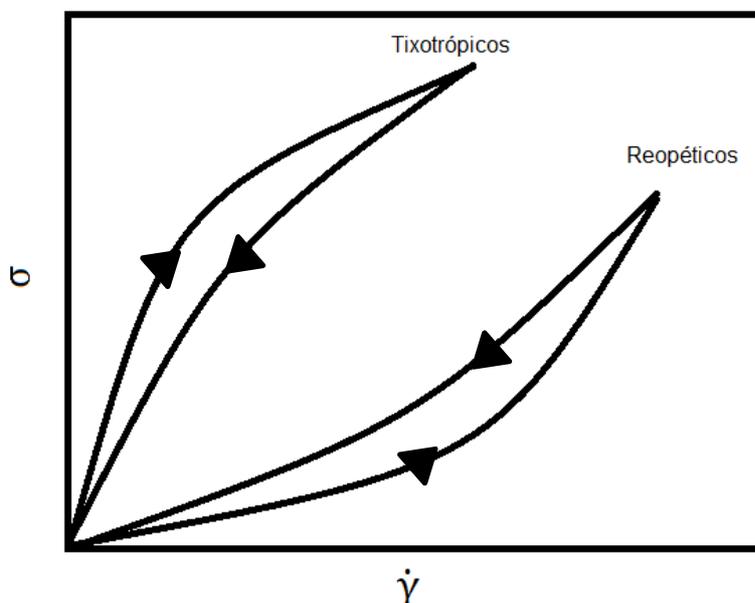


FIGURA 8. CURVAS DE ESCOAMENTO PARA FLUIDOS DEPENDENTES DO TEMPO (SHARMA, MULVANEY e RIZVI, 2000)

#### 1.5.3.2.1.1. Fluidos Tixotrópicos

Os fluidos tixotrópicos apresentam uma diminuição na viscosidade aparente quando submetido a uma tensão constante e um comportamento mais viscoso quando em repouso, ou seja, tendem a retornar à condição inicial de viscosidade. Fluidos desse tipo são conhecidos por conter pequenas partículas (cristais ou biopolímeros) que são mantidos unidos por forças ou ligações fracas.

O cisalhamento do material separa as partículas agregadas e então ocorre uma menor resistência ao escoamento e a viscosidade decresce com o tempo até um valor constante ser alcançado (BARNES, HUTTON e WALTERS, 1989). São exemplos de fluidos tixotrópicos comidas de bebe e iogurte.

#### **1.5.3.2.1.2. Fluidos Reopéticos**

O processo é inverso a tixotropia, ou seja, quando o fluido é submetido a uma tensão ou fluxo apresenta maior viscosidade e quando volta ao repouso diminui a viscosidade, tendendo a retornar ao seu comportamento reológico inicial. Há diferentes razões para este comportamento. A mais importante é que o cisalhamento aumenta a frequência das colisões entre as moléculas ou partículas dos fluidos, que pode levar para um aumento de agregados e, conseqüentemente, a um aumento na viscosidade aparente (BARNES, HUTTON e WALTERS, 1989).

#### **1.5.3.2.2 Fluidos Independentes do Tempo**

Os fluidos não newtonianos também podem ser classificados de acordo com a maneira com que a viscosidade aparente aumenta ou diminui com a taxa de deformação.

##### **1.5.3.2.2.1. Fluidos Pseudoplásticos**

Eles têm como comportamento característico a diminuição na viscosidade aparente com o aumento da taxa de cisalhamento. Geralmente, começam a escoar sob a ação de tensões de cisalhamento infinitesimais, não havendo a presença de uma tensão residual ou tensão de ruptura.

Segundo Toneli *et al.* (2005), esse comportamento pode ser explicado pela modificação da estrutura de cadeias longas das moléculas com o aumento da velocidade de cisalhamento. Essas cadeias tendem a se alinhar paralelamente às linhas de corrente, diminuindo a resistência ao escoamento.

Os fluidos pseudoplásticos tendem a apresentar um comportamento newtoniano quando submetidos a grandes velocidades de cisalhamento, provocado pelo total alinhamento molar. Com o aumento da taxa de cisalhamento, partículas rígidas se orientam na formação do fluxo e em soluções poliméricas, seus entrelaçamentos podem ser desfeitos e as moléculas se alinham e se orientam em direção ao fluxo, como pode ser observado na figura 9 (SCHARAMM, 2006).

Este tipo de fluido demonstra um decréscimo na viscosidade com um aumento na tensão de cisalhamento e em repouso tentem em manter uma ordem interna regular, formando uma resistência interna ao fluxo e, conseqüentemente, maior viscosidade (SCHARAMM, 2006). Purês de frutas e vegetais são considerados fluidos pseudoplásticos.

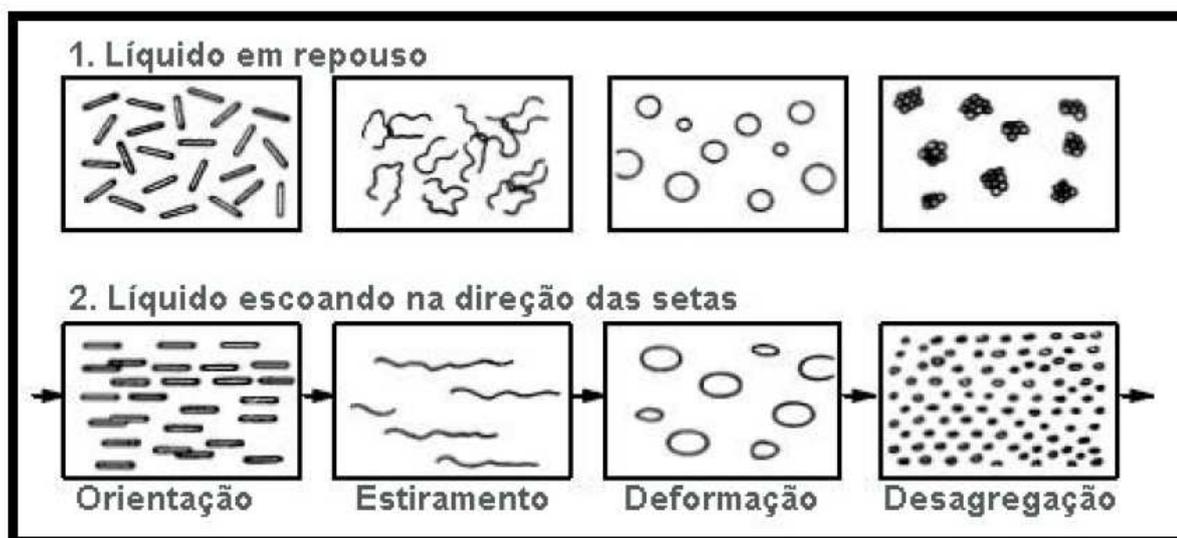


FIGURA 9. DISPERSÕES EM REPOUSO E EM ESCOAMENTO ATRAVÉS DE UM TUBO (SCHARAMM, 2006)

#### 1.5.3.2.2. Fluidos Dilatantes

Esses são caracterizados pelo aumento na viscosidade aparente, com o aumento na taxa de cisalhamento. Apresentam o comportamento inverso ao comportamento pseudoplástico, ou seja, a viscosidade do fluido aumenta com o aumento da taxa de cisalhamento. Somente são encontrados em líquidos que contém uma alta proporção de partículas rígidas insolúveis em solução, como

por exemplo alguns tipos de mel e suspensões de amido (STEFFE, 1996; BARNES, HUTTON e WALTERS, 1989).

#### **1.5.3.2.3. Fluidos Plásticos de Bingham e Plásticos**

Caracterizam-se por apresentarem uma tensão inicial ou residual, a partir da qual o fluido apresenta uma relação linear entre tensão de cisalhamento e taxa de deformação (BARNES, HUTTON e WALTERS, 1989). O fluido de Bingham apresenta comportamento de sólido sob repouso, ou seja, deve ser aplicado uma tensão inicial antes que o fluxo seja provocado (BARNES, HUTTON e WALTERS, 1989). Já os plásticos apresentam uma redução da viscosidade após atingida a tensão inicial ou residual. São exemplos os molhos de tomate, maionese e margarina.

#### **1.5.3.2.1 Fluidos Viscoelástico**

Fluidos não newtonianos viscoelásticos podem ser descritos como os que apresentam simultaneamente, propriedades de fluidos e de sólidos, onde as propriedades viscosas podem ser não newtonianas e dependentes do tempo. As propriedades elásticas, por sua vez, manifestam-se, através da presença de tensões perpendiculares à direção de cisalhamento com magnitude diferente daquelas apresentadas pelas tensões paralelas à direção de cisalhamento (BARNES, HUTTON e WALTERS, 1989), a clara de ovo batida, pode ser um exemplo desse tipo de fluido.

Com base no conhecimento acima descrito foi desenvolvido o presente trabalho cujos objetivos estão descritos a seguir.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Caracterizar as propriedades físico-químicas do hidrocolóide extraído de folhas de *Pereskia aculeata*.

### 2.2 Objetivos específicos

- Extrair a mucilagem das folhas de *Pereskia aculeata*;
- Caracterizar a composição química da mucilagem em termos de ácidos urônicos, açúcar total, proteína, minerais, monossacarídeos e de ligações glicosídicas;
- Determinar as características físico-químicas do biopolímero, tais como: a estabilidade térmica, a massa molar média ponderal e a média numérica, a dispersão, o raio de giro, a viscosidade intrínseca, a concentração crítica, o potencial zeta e a tensão superficial;
- Determinar o comportamento reológico da arabinogalactana em água, em diferentes pH, temperatura, concentração de cloreto de sódio e na presença de íons cálcio.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Origem das amostras

As folhas de *Pereskia aculeata* foram colhidas de um mesmo plantio situado no Sítio Pereiras, cidade de Ribeirão Branco-SP, onde há legalmente uma atividade agropecuária autorizada pela SAA-SP na UPA 1272. O material doado pela empresa Proteios®, foi encaminhado ao BioPol/UFPR, acondicionado em caixas de isopor. Uma exsicata coletada foi depositada no Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná, e identificada pelo Prof. Paulo Henrique Labiak Evangelista (Curador). O número de registro no Herbário é 75565. A liberação do uso desse vegetal foi autorizada pelo CNPq (Processo 010656/2013-8), credenciado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN), para acesso ao patrimônio genético para fins de pesquisa científica. As folhas foram colhidas em meados de abril, dentro da estação do outono, segundo o Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas à Agricultura, este período é caracterizado por temperatura de 18,9 °C de média (CEPAGRI, 2015).

Os solventes e os demais reagentes foram adquiridos do comércio e utilizados sem nenhum tratamento prévio.

#### 3.2 OBTENÇÃO DA MUCILAGEM

##### 3.2.1 Obtenção do pó etanólico de folhas de *Pereskia aculeata*

As folhas foram imersas em etanol absoluto 99%, por um período de aproximadamente 72 horas, posteriormente foram colocadas para secar a 23 °C ( $\pm 2$  °C). Após, foram passadas em peneira de 20 *mesh*, para obter o pó que foi tratado, via Soxhlet, com etanol o qual foi utilizado como solvente. O extrato

resultante foi desprezado, e o pó residual (etanólico) foi seco a 23 °C ( $\pm 2$  °C) (SIERAKOWSKI *et al.*, 1987- adaptado).

### **3.2.2 Obtenção do extrato aquoso e mucilagem bruta a partir do pó etanólico**

O pó etanólico foi submetido ao processo de extração com água deionizada a 25°C, em liquidificador repetidas vezes, até que não se observou visualmente alteração de viscosidade da água. O extrato foi filtrado, em filtro de pano tipo nylon, a fim de se obter uma amostra com menos fibras, e ao volume total foi acrescido 2 volumes de etanol (99%), para precipitação do polímero. Para melhor separação o material foi centrifugado a 8.000 g por 15 minutos, a 25°C, utilizando uma centrífuga da Sigma modelo 4K15. O precipitado foi tratado com etanol e re-centrifugado de 7 a 8 vezes, a fim de obter uma coloração clara e, posteriormente, foi agregado, peneirado e colocado para secar a 23°C ( $\pm 2$ °C) obtendo-se então a mucilagem bruta (SIERAKOWSKI *et al.*, 1987- adaptado).

### **3.2.3 Purificação da mucilagem bruta**

Após observação de uma difícil solubilidade da mucilagem bruta em água e em soluções salinas, em diferentes temperaturas, foi feita então a re-suspensão do material. Preparou-se uma dispersão aquosa do material a 10 g/L, que permaneceu sob agitação vigorosa em agitador mecânico por 16 h. Após a dispersão o material foi centrifugado a 10.000 g por 10 minutos, a 25°C, a fim de que tudo que fosse solúvel em água permanecesse em solução e o remanescente das fibras insolúveis sedimentasse. O sobrenadante foi recolhido e recebeu tratamento com cloreto de sódio (NaCl), formando uma solução 0,1 mol.L<sup>-1</sup>; após a homogeneização foi acrescido 2 volumes de etanol. Com o intuito de obter o precipitado, esse material foi centrifugado a 10.000 g por 20 minutos, a 4°C. O precipitado foi tratado com etanol, 3 vezes, e seco a 23°C ( $\pm 2$ °C) (SIERAKOWSKI *et al.*, 1987- adaptado). Após, foi possível então obter a

mucilagem purificada das folhas de *P. aculeata*, simplesmente denominada mucilagem, a qual foi empregada para todas as análises.

### **3.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ESTRUTURAL DA MUCILAGEM**

#### **3.3.1 Determinação de ácido urônico, açúcar total e proteína**

Para a determinação de ácidos urônicos foi utilizada a metodologia desenvolvida por FILISETTI-COZZI e CARPITA (1991). Sobre amostra a ser analisada foi adicionado ácido sulfâmico de potássio (40  $\mu\text{L}$ ), com o intuito de minimizar a interferência dos açúcares neutros; logo após foi feita a adição de tetraborato de sódio (2,4 mL) em solução de ácido sulfúrico para hidrolisar o polissacarídeo e, de meta-hidroxifenil (80  $\mu\text{L}$ ), como reagente colorimétrico. Como padrão foi utilizado ácido D-galacturônico, na faixa de concentração de 5 a 40  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . A absorbância foi lida em 525 nm.

O carboidrato total foi quantificado pelo método de Dubois utilizando fenol-ácido sulfúrico, onde sobre uma dispersão em água contendo a mucilagem adicionou-se 0,5 mL de fenol a 5% e, depois, 2,5 mL de ácido sulfúrico para análise (P.A.) a 98% (m/m). Primeiramente, ocorre a hidrólise seguida da desidratação dos carboidratos pelo ácido sulfúrico, formando o hidroximetilfurfural (de hexose) e furfural (de pentoses) que, posteriormente, reagem com o fenol formando um composto colorido, que é quantificado por espectrofotometria em comprimento de onda de 490 nm. Como padrão foi utilizado a galactose, na faixa de concentração de 10 a 100  $\text{g.mL}^{-1}$  em água, e as leituras da absorbância foram feitas a 490 nm (DUBOIS *et al.*, 1956).

Para a dosagem de proteína, utilizou-se o método de HARTREE (1972). Para tal previamente são preparadas três soluções: A, B e C. A solução A é constituída de tartarato de sódio e potássio e carbonato de cálcio, diluídas em hidróxido de sódio 1  $\text{mol.L}^{-1}$ ; a solução B é obtida pela mistura de tartarato de sódio e potássio com sulfato de cobre, também em hidróxido de sódio; e a solução C é o reagente de Folin diluído. O princípio do método baseia-se numa

mistura contendo molibdato, tungstato e ácido fosfórico (reagente Folin-Ciocalteu), que sofre uma redução quando reage com proteínas, na presença do catalisador cobre (II) o qual em meio alcalino forma um complexo de cobre (II) com peptídeos/proteínas. Para a quantificação da amostra, que foi previamente diluída em água, adiciona-se 0,9 ml do reagente A. A reação permanece por 10 minutos em banho-maria a 50 °C, e após é resfriada a temperatura ambiente; 0,1 mL do reagente B é acrescentado e fica em repouso a temperatura ambiente por 10 minutos; então o reagente C é adicionado, levado a banho maria a 50 °C por 10 min. Depois de resfriadas a temperatura ambiente as amostras foram analisadas a 650 nm. Foi utilizada albumina proveniente de soro bovino como padrão, na faixa de concentração de 20-100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  em água.

### 3.3.2 Determinação de minerais

A quantificação dos minerais presentes na mucilagem foi obtida através das leituras em Espectrômetro Ótico de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES, Radial), da marca SPECTRO, modelo ARCOS. Os comprimentos de onda usados para as determinações dos minerais variaram e estão apresentados na Tabela 1. Para tal, as amostras foram abertas previamente em ácido nítrico concentrado e, posteriormente, diluídas para 2% (v/v), para a injeção no equipamento e detecção dos seguintes metais: cálcio, ferro, manganês, fósforo, zinco, potássio, magnésio e sódio. As análises da quantificação foram realizadas através de curvas de calibração, previamente estabelecidas, e efetuadas no Centro Analítico de Instrumentação da Universidade de São Paulo.

TABELA 1. ELEMENTOS DETERMINADOS POR ICP OES E SEUS RESPECTIVOS COMPRIMENTOS DE ONDA

Metal	Comprimento de onda (nm)
Cálcio	396,847
Ferro	259,941
Fósforo	177,495
Magnésio	279,553
Manganês	257,611
Potássio	766,491
Sódio	589,592
Zinco	213,856

### 3.3.3 Composição da mucilagem em monossacarídeos

Os monossacarídeos foram identificados pelas técnicas de cromatografia aniônica de alta resolução com detecção por pulso amperométrico (HPAEC-PAD) e, também, por cromatografia em fase gasosa acoplada com um espectrômetro de massa. A primeira foi apenas uma análise qualitativa das unidades monossacarídicas presentes. E a segunda técnica foi mais quantitativa, a fim de analisar a composição monossacarídica e as ligações glicosídicas, pelas metodologias que seguem descritas a seguir.

### **3.3.3.1 Identificação de monossacarídeos por cromatografia aniônica de alta resolução com detecção por pulso amperométrico (HPAEC-PAD)**

Primeiramente, foi feita a hidrólise do polissacarídeo, onde foi preparada uma dispersão a  $8 \text{ mg.mL}^{-1}$  da mucilagem. Desta foi retirada uma alíquota de 1 mL, à qual foi adicionado 1 mL de ácido trifluoroacético (TFA) a  $4 \text{ mol.L}^{-1}$ , essa solução foi colocada em ampola e selada, e mantida em banho de areia a  $100^\circ\text{C}$ , por 8 horas (GORIN *et al.*, 1996). Após esse período, foram adicionados 2 mL de metanol e as amostras mantidas na capela com ar quente para evaporação; o processo foi repetido por mais 2 vezes para total remoção do TFA. Então, a amostra hidrolisada foi dissolvida em 1 mL de água e analisadas em sistema de cromatografia aniônica de alta resolução com detecção por pulso amperométrico (HPAEC-PAD) – Coluna CarboPac PA20 – DIONEX, fabricante Thermo Scientific, do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular/UFPR).

### **3.3.3.2 Identificação dos monossacarídeos e das ligações glicosídicas do polissacarídeo por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS)**

A mucilagem foi metilada de acordo com o método de Ciucanu e Kerek (1984). Para isso 40 mg da mucilagem foi dissolvida em 3 mL de dimetilsulfóxido (DMSO, solvente não protogênico) a  $40^\circ\text{C}$ , em seguida foi adicionado 0,75 mL de iodeto de metila ( $\text{CH}_3\text{I}$ ), o agente alquilante, seguida de lenta adição de 40 mg de hidróxido de sódio (NaOH) seco, para a formação do alcoóxido sob agitação vigorosa até a solidificação. Após 24 horas de repouso, o material foi solubilizado em água destilada e a solução alcalina foi neutralizada com ácido acético, seguido de diálise e liofilização. O processo de adição do  $\text{CH}_3\text{I}$  e NaOH foi repetido mais duas vezes, completando a etapa de metilação. A amostra foi dividida em duas. Uma seguiu para a carboxi-redução dos açúcares ácidos (B) e a outra para a hidrólise total (A).

A fração (B) foi tratada com hidreto de lítio em tetrahidrofurano para redução dos grupamentos carboxi (ácido) a hidroxí (álcool). Este produto foi remetilado pelo método de Ciucanu e Kerek (1984), o produto O-metilado foi hidrolisado, neutralizado, reduzido e acetilado. Para a hidrólise total (A, B) a amostra passou por tratamento com ácido sulfúrico 72% (m/m), redução com boroidreto de sódio deuterado e acetilação pelo método Wolfrom e Thompson, (1963 a, b). O produto final foi uma mistura de acetato de alditois parcialmente metilados. Então, as duas amostras (A e B) foram analisadas em cromatógrafo Varian modelo 3300, equipado com coluna capilar (30m x 0.25 mm i.d.), revestida com OV-225 + OV-17 (3:1) (GORIN *et al.*, 1982), acoplada com um espectrômetro de massa Finnigan-MAT. Foi utilizado como gás de arraste o gás hélio (1 mL.min<sup>-1</sup>) e a temperatura da coluna foi programada de 50 °C até 182 °C, a 40 °C.min<sup>-1</sup>, mantendo a 182 °C até o final da corrida. Os derivados dos monossacarídeos foram separados pelo tempo de retenção e os tipos de ligação foram determinados através das fragmentações específicas obtidas pela análise no espectrômetro de massa (Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular/UFPR).

### **3.3.4 Análise da estrutura da mucilagem por ressonância magnética nuclear**

As análises da estrutura de carboidratos pelos espectros de RMN monodimensionais (carbono - <sup>13</sup>C e hidrogênio - <sup>1</sup>H) e bidimensionais (HSQC - *heteronuclear single quantum coherence* e HMBC - *heteronuclear multiple quantum correlation spectroscopy*) foram realizadas em equipamento da marca Bruker, modelo DRX-400, série AVANCE, em tubo de 5 mm de diâmetro, em água deuterada (D<sub>2</sub>O), utilizando TMS-*p* como referência para a calibração dos espectros ( $\delta = 0$  ppm). Todas as análises foram realizadas a 70°C, frequência de 400 MHz para RMN - <sup>1</sup>H e 100 MHz para o RMN - <sup>13</sup>C. Esses experimentos foram realizados no Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFPR.

### 3.4 DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DA MUCILAGEM

#### 3.4.1 Análise por cromatografia de exclusão de tamanho (SEC)

A técnica da cromatografia de exclusão por tamanho (SEC), é utilizada para determinação de parâmetros macromoleculares de um polímero em solução onde por meio de colunas se faz a separação das moléculas com relação ao seu volume hidrodinâmico, fornecendo informações importantes para caracterização do material, como descrito a seguir.

Primeiramente, para a sequência de análises necessárias para a caracterização da massa molar, foi determinado o incremento do índice de refração em função da concentração ( $dn/dc$ ) da amostra preparada, a partir da faixa de concentração de 0,2 a 1,0 mg.mL<sup>-1</sup>, em solução de nitrato de sódio 0,1 mol.L<sup>-1</sup> contendo 200 ppm de azida de sódio. No sistema acoplado ao detector de índice de refração (IR) da marca Viscotek (Malvern Co., Estados Unidos), modelo VE3580, foram injetados 100 µL da amostra previamente filtrada, sequencialmente, em membranas de 3, 0,8 e 0,45 µm, com fluxo de injeção da fase móvel de 0,6 mL.min<sup>-1</sup>. O valor de  $dn/dc$  foi obtido pela extrapolação dos valores da área do pico de índice de refração em função da concentração, através de uma regressão linear.

Posteriormente, ao cálculo do  $dn/dc$ , para a determinação da distribuição da massa molar média numérica ( $M_n$ ), massa molar média ponderal ( $M_w$ ), raio de giro ( $R_g$ ) e viscosidade intrínseca ( $[\eta]$ ), volumes de 100 µL da solução aquosas da mucilagem foram filtrados em membranas de 3, 0,8, 0,45 e 0,22 µm (Millipore). A amostra foi injetada no GPC contendo coluna de polimetacrilato da Shodex-OH Pack SB-806M-HQ L007054 (Japão), com limite de exclusão de  $2 \times 10^7$  g.mol<sup>-1</sup>, e eluída com fluxo de fase móvel de 0,4 mL.min<sup>-1</sup>. O sistema do GPC estava acoplado a um refratômetro diferencial, a um detector viscosimétrico e a um detector de espalhamento de luz laser, comprimento de onda de 632,8 nm, modelo 270 Dual Detector (Viscotek), a baixo ângulo, 7° (LALLS, do inglês

*Low Angle Laser Light Scattering*) e a ângulo reto, 90° (RALLS, do inglês *Right Angle Laser Light Scattering*). Como eluente foi utilizado a mesma solução aquosa (0,1 mol.L<sup>-1</sup> de NaNO<sub>3</sub>, contendo 200 ppm de azida de sódio) da preparação da amostra. Para a padronização do equipamento quanto ao detector de IR e normalização do detector de espalhamento de luz, foram utilizados padrões cromatográficos de massa molar conhecida, o poli (óxido de etileno) (22.000 g.mol<sup>-1</sup>) e a dextrana (70.000 g.mol<sup>-1</sup>) de procedência da Viscotek, preparadas previamente no mesmo solvente. A compilação dos resultados obtidos pelos detectores, a saber: M<sub>w</sub>, M<sub>n</sub>, dispersão, concentração crítica (c\*), R<sub>g</sub> e ([η]) foi realizada pelo Software OmniSec 4.7 (Viscotek).

### 3.4.1.1 Determinação da concentração crítica

A determinação da concentração crítica foi realizada utilizando os parâmetros determinados pela técnica de espalhamento de luz, conforme a equação:

Equação (3)

$$c^* = \frac{M_w}{\frac{4}{3} \pi \cdot N_a \cdot R_g^3}$$

Onde:

M<sub>w</sub>: massa molar média ponderal (g.mol<sup>-1</sup>);

N<sub>a</sub>: número de Avogadro;

R<sub>g</sub>: raio de giro (cm).

### 3.4.2 Potencial zeta

As medidas do Potencial Zeta (ζ) foram feitas no equipamento Zetasizer Nano-ZS90 Malvern a 25 °C, para uma dispersão na concentração de 1 g/L, em pH 5,5 (preparada em água purificada (MilliQ System Millipore), as leituras em

triplicata foram realizadas após cinco minutos de equilíbrio. As análises foram realizadas no Instituto de Química da Universidade de São Paulo.

### **3.4.3 Análise termogravimétrica**

Para determinar a estabilidade térmica, teor de umidade e massa residual (cinzas e óxidos de metais), a amostra foi acondicionada em cadinho de alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), e analisadas no equipamento Netzsch STA 449 F3 Jupiter (Departamento de Química - UFPR), em varredura de temperatura na faixa de 25-700°C, taxa de aquecimento de  $5^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  em atmosfera de ar sintético.

### **3.4.4 Tensiometria**

As medidas foram realizadas utilizando o tensiômetro Dataphysics GmbH (Alemanha), modelo OCA 15+. As dispersões foram previamente preparadas em água na concentração de  $40\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  e, posteriormente, foram feitas 18 diluições até  $0,1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Procedeu-se as medidas pelo método da gota pendente e aproximações matemáticas de Laplace-Young, calculadas pelo *software* SCA20 do próprio equipamento. Foi utilizada uma seringa de  $500\ \mu\text{L}$  (Hamilton, Suíça), agulha de 38,1 mm de comprimento com 1,65 e 0,91 mm de diâmetro externo e interno, respectivamente. Os resultados foram obtidos pela média de dez medições em triplicata.

### **3.4.5 Ensaios Reológicos das mucilagens bruta e purificada**

As curvas de fluxo ou as de viscosidade, foram realizadas em reômetro Haake RS 1, com controle de temperatura ( $25\ ^\circ\text{C}$ ) através de um banho termo circulante Haake (DC30) e sensores Z20 DIN e C60/2Ti adequados para cada

faixa de viscosidade. Todo o sistema estava acoplado a um computador com *software Haake rheometer*.

Com relação ao comportamento viscoso da mucilagem foi primeiramente analisado o extrato bruto (primeira etapa de extração do material) para que, posteriormente, fosse comparada com a mucilagem purificada, e escolhida a amostra que apresentasse o melhor perfil. Para as análises foram variados alguns fatores, como: concentração, pH (3, 5, 7,2 e 10), concentração de NaCl (de 0,1, 0,2 e 0,3 mol.L<sup>-1</sup>), concentração de CaCl<sub>2</sub> (0,0075 mg.mL<sup>-1</sup>), comportamento viscoso da mucilagem após submetida a curvas de viscosidade com diferentes temperaturas de aquecimento (de 20 a 70°C), e de resfriamento (de 70 a 20°C), ambas com variação a cada 5°C.

Após a obtenção dos dados experimentais das curvas de viscosidade em água, os resultados foram tratados matematicamente pela equação Ostwald de Waele (equação 4), através do mesmo *software* acoplado ao computador:

Equação (4)

$$\tau = K \dot{\gamma}^n$$

Onde:

$\tau$ : tensão de cisalhamento (Pa);

$\dot{\gamma}$ : taxa de cisalhamento (s<sup>-1</sup>);

$K$ : coeficiente de consistência (Pa.s<sup>n</sup>);

$n$ : índice de comportamento do fluido (adimensional).

As análises no regime oscilatório foram realizadas no mesmo sistema de análise do não oscilatório. A mucilagem escolhida para estas análises recebeu tratamentos de temperatura, cálcio, hidreto (proteção contra a reação de  $\beta$ -eliminação) e pH, visto as melhores condições previamente apresentadas. As condições foram 15 horas em aquecimento, 0,0075 mg.mL<sup>-1</sup> de Ca<sup>2+</sup>, pH 7,1 em tampão fosfato (0,1 mol.L<sup>-1</sup>).

Antes de realizar as análises dos espectros mecânicos (módulos G' e G'' em função da frequência) foi realizada uma varredura de tensão na faixa de 0,10 a 10 Pa em diferentes valores de frequência (0,05, 1 e 10 Hz) com o objetivo de determinar a região viscoelástica. Neste estudo, após a varredura de tensão, o

valor de tensão escolhido para a varredura de frequência foi de 0,1 Pa. Também foi realizado um estudo da amostra pelo modelo de Cox-Merz, através da equação 5:

Equação 5

$$\eta^* (\omega) = \eta_{ap} (\dot{\gamma}) \quad \text{para } \omega = \dot{\gamma}$$

Onde:

$\eta^*$ : viscosidade dinâmica complexa (mPa.s);

$\eta_{ap}$ : viscosidade aparente de cisalhamento (mPa.s);

$\omega$ : frequência de oscilação (rad.s<sup>-1</sup>);

$\dot{\gamma}$ : taxa de cisalhamento (s<sup>-1</sup>).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 EXTRAÇÃO E RENDIMENTO DA MUCILAGEM

As folhas verdes de *Pereskia aculeata* receberam tratamento com etanol para a desidratação, seguida da remoção de pigmentos e lipídeos em Soxhlet, também com etanol e, posteriormente, foram seguidos os procedimentos de extração em água, purificação e análises do material. O rendimento das folhas secas, depois do período que desidratou, e foram retirados os pigmentos e lipídios em etanol, foi de 11,8%, em relação às folhas verdes. Essa porcentagem indica o grau de retenção de água nas folhas, importante para a transpiração e próprio da fisiologia das folhas desse vegetal (cactácea). Espécies de *Pereskia* são consideradas como os cactos existentes que melhor representam os “cactos ancestrais”, apresentam uma ideia para demonstrar como os cactos regularam o uso da água como prioridade para a evolução sem folhas e desenvolvimento do caule suculento (EDWARDS e DIAZ, 2006). É conhecido que o estresse térmico pode causar injúrias, e levar a uma diminuição severa do crescimento e desenvolvimento, podendo causar até a morte da planta (LIMA *et al.*, 2013). Portanto, o maior teor de água pode auxiliar no controle da temperatura e na sobrevivência do vegetal.

O rendimento em porcentagem (m/m) de pó bruto em relação às folhas verdes foi de 5,4 % e o do pó purificado de 1,6%. A porcentagem obtida para o pó purificado está dentro do intervalo observado para a amostra extraída das folhas de caqui (*Diospyros kaki*), 1,22%, (DUAN *et al.*, 2003). Em trabalho efetuado por Sierakowski (1982) que tratou as folhas de *P. aculeata* com etanol, acetona e benzeno, seguido de extração aquosa com temperatura de 85°C, o rendimento foi de 2,13%, em relação às folhas verdes provenientes de Viçosa (MG). Portanto, o observado, em nosso trabalho, para o extrato bruto é maior, além de menor consumo de energia e a metodologia empregada no presente trabalho é menos agressiva ao ser humano e ao meio ambiente por não usar o benzeno. Segundo a EPA (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos) um longo período de exposição a este solvente, além de causar intoxicações,

pode levar o indivíduo a ocorrência de vários tipos de câncer. Também, há que se considerar a possível interferência quanto à natureza do solo nos valores de rendimento e da presença de mais fibras no extrato. Dispersões subsequentes mostraram que a presença das fibras dificultou a solubilização da amostra e induziu a etapa de purificação por re-solubilização e centrifugação, que resultou num menor rendimento (75-80%) em massa, mas que permitiu a obtenção de um material mais solúvel em água e que, pelo método de extração utilizado e dispersão, pode ser denominado de mucilagem (SÁENZ, SEPÚLVEDA e MATSUHIRO, 2004; PRAJAPATI *et al.*, 2013).

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ESTRUTURAL DA MUCILAGEM

### 4.2.1 Determinação de ácido urônico, açúcar total e proteína

Com relação às determinações da composição da mucilagem os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 2.

TABELA 2. DETERMINAÇÃO EM % (m/m) DE ÁCIDO URÔNICO, AÇÚCAR TOTAL E PROTEÍNA PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata*

Análises	% (m/m)
Ácido Urônico <sup>1</sup>	26,2±0,2
Açúcar Total <sup>2</sup>	48,3±0,8
Proteína <sup>3</sup>	18,8±0,2

<sup>1</sup> FILISETTI-COZZI e CARPITA (1991)

<sup>2</sup> DUBOIS *et al.* (1956)

<sup>3</sup> HARTREE (1972)

Estudos iniciais realizados por Sierakowski (1982) com o mesmo vegetal, mas com local de coleta diferente, apresentaram resultados de 12,0% para ácido urônico, 41,0% de açúcar total e 15,25% de proteína, seguindo as metodologias de Bitter e Muir (1962), Dubois *et al.* (1956) e Kjeldahl (1968), respectivamente.

Assim, além da metodologia o solo também pode interferir na composição das amostras. Recentemente, estudos foram realizados por Lima Jr *et al.* (2013), com as folhas de *P. aculeata*, que encontraram os índices de proteína de 10,5% e açúcar total de 46,9%, segundo os métodos de Kjeldahl (1968) e Dubois *et al.* (1956), respectivamente. Este mesmo grupo encontrou 0,44% de ácido urônico pela dosagem de Blumenkrantz e Asboe-Hansen (1973) usando o método com m-hidroxidifenil (MHDP) (CONCEIÇÃO *et al.*, 2014), sugerindo que o método de extração a quente da mucilagem de folhas de *P. aculeata* que utilizaram não foi o adequado por promover auto hidrólise e retirar uma concentração significativa de grupamentos ácidos da estrutura do material e que, num processo de extração, devem ser preservados pois é um componente que pode dar ao polissacarídeo diferentes propriedades e aplicações.

#### **4.2.2 Determinação de minerais**

Como já mencionado na literatura, a *P. aculeata* apresenta propriedades importantes em termos de componentes necessários para a nutrição como exemplo proteína, carboidrato, vitaminas, fibras, além da quantidade de minerais, os quais são consideráveis para o correto funcionamento do organismo humano. A Tabela 3 apresenta a composição em minerais quantificada no espectrômetro ótico de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).

TABELA 3. QUANTIFICAÇÃO DE MINERAIS PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata*

Minerais	Conteúdo * (mg/100g)
Cálcio	0,15 ± 0,0005
Ferro	0,01 ± 0,002
Manganês	0,01 ± 0,001
Fósforo	0,094 ± 0,001
Zinco	0,001 ± 0,0001
Potássio	0,3 ± 0,001
Magnésio	1,61 ± 0,02
Sódio	1,98 ± 0,08

\*Determinados no ICP OES

De forma geral, a amostra apresentou maiores teores de sódio, seguido de magnésio, potássio e cálcio. O cálcio em alimentos tem interessante função, já que a sua principal fonte são os alimentos lácteos e algumas pessoas possuem intolerância a lactose; portanto, essa mucilagem como alimento pode ser uma fonte importante na ingestão de cálcio. O sódio está presente em altas concentrações em alimentos processados, porém é encontrado em baixas concentrações em alimentos de origem vegetal, e, em baixas concentrações, é importante para o bom funcionamento do organismo para regulação da bomba sódio potássio, na manutenção do equilíbrio osmótico do organismo dos seres humanos. Mas, parte do sódio pode vir do processo de purificação ao qual foi precipitado em meio salino (NaCl). O potássio é encontrado em alimentos, como as hortaliças, visto que é um dos constituintes essenciais das células e o magnésio para o bom regulamento do organismo e imunidade (SALAZAR *et al.*, 2006; YUYAMA *et al.*, 1997)

Estudo realizado por Takeiti *et al.* (2009) com as folhas de *P. aculeata*, mostra teor próximo para a quantidade de magnésio, e com relação aos outros minerais, as porcentagens são maiores. Já Conceição *et al.* (2014), encontraram valores superiores aos relatados na literatura e da Tabela 3; e para a técnica empregada de microscopia eletrônica de varredura, onde não há necessidade de tratamento químico do material, erros podem ocorrer por não atribuir

características da amostra de uma forma geral, e, apenas, de uma região da imagem. As diferenças com os resultados da literatura, também, podem ser relacionadas com as características de solo, clima e processo de extração empregado e pela técnica de quantificação dos minerais. A técnica multielementar como ICP OES, que corresponde à espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente, permite a observação do plasma no modo de configuração axial e radial, ou seja, um modo de observação mais sensível para cada elemento, portanto com maior confiabilidade.

#### 4.2.3 Composição da mucilagem em monossacarídeos

De forma qualitativa, foram analisados os monossacarídeos pela técnica de cromatografia aniônica de alta resolução com detecção por pulso amperométrico (HPAEC-PAD), a qual além de fornecer os monossacarídeos neutros, detecta os ácidos, como pode ser observado na Tabela 4. Por isso a importância da sua avaliação e, posteriormente, a comparação com os monossacarídeos detectados como acetatos de O-metil alditois.

TABELA 4. DETERMINAÇÃO DE MONOSSACARÍDEOS POR CROMATOGRAFIA ANIÔNICA DE ALTA RESOLUÇÃO COM DETECÇÃO POR PULSO AMPEROMÉTRICO (HPAEC-PAD) DA MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata*

Monossacarídeo	Conteúdo (% Molar)
L-Arabinose	35,9
D-Galactose	55,4
L-Ramnose	3,2
L-Fucose	1,8
Ácido D-Galacturônico	3,7

Os monossacarídeos detectados obedecem a seguinte proporção 1: 1,8: 2,1: 20,4: 31,5 para fucose: ramnose: ácido galacturônico: arabinose: galactose, respectivamente. Identificando a presença de ácido galacturônico, como o representante do ácido urônico quantificado pela técnica

espectrofotocolorimétrica. A principal importância dessa detecção se deu em relação à presença de L-fucose que é um monossacarídeo normalmente não detectado devido à labilidade das unidades no processo de hidrólise e, também, a identificação de ácido galacturônico. Todavia, a quantificação desse último mostra que, provavelmente, a hidrólise não foi total e, portanto, é um resultado apenas qualitativo, uma vez que os valores obtidos através de hidrólise ácida são inferiores aos métodos colorimétricos de determinação de açúcares ácidos.

Considerando os resultados da Tabela 5, a qual apresenta os açúcares metilados, suas respectivas ligações e a porcentagem de açúcares ácidos que se tornaram neutros após a carboxi redução, essa tabela seria a melhor forma de representação da quantificação das unidades monossacarídicas; mesmo sendo uma técnica onde pode haver perdas no processo de síntese e de extração dos acetados de alditóis O-metilados. Destaca-se que para comprovar a presença do tipo de ácido urônico no polissacarídeo, e suas ligações glicosídicas envolvidas, a amostra foi carboxi-reduzida, onde esta metodologia é realizada no intuito de reduzir as carboxilas do ácido urônico, convertendo-as em álcool, logo em monossacarídeos neutros correspondentes. Após essa reação, observou-se um aumento na quantidade de galactose total de 49% para 58%, com o aparecimento de 2,4,6-Me<sub>3</sub>-Galp, sugerindo ligações em C-1 e C-3 nas unidades de Galp, aumento de 2,3,6-Galp (ligações em C-1 e C-4), as quais indicam que as unidades de ácido galacturônico estavam presentes, com diferentes ligações glicosídicas, e, provavelmente, mais envolvidas com as unidades de ramnose e de fucose da estrutura polissacarídica, também pelo aumento em porcentagem dessas unidades com o procedimento prévio da carboxi-redução do polissacarídeo antes da hidrólise. A aparente redução, em mol%, das unidades de arabinose de 38 para 21, sugere que essas fazem parte das ramificações, como cadeias laterais mais externas e relacionadas à parte neutra da estrutura.

TABELA 5. DETERMINAÇÃO DE MONOSSACARÍDEOS COMO DERIVADOS DE ACETATO DE ALDITÓIS O-METILADOS\*, APÓS REAÇÃO DE METILAÇÃO DA MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata*, ANTES A APÓS O PROCESSO DE CARBOXI-REDUÇÃO

O-Metil-Alditóis acetato	Tipos de Ligações Glicosídicas	Mol%	
		A	B
2,3,5-Me <sub>3</sub> -Araf	Terminal Araf	24	13
2,3-Me <sub>2</sub> -Araf	1,5-Araf	1	1
3-Me-Arap	1,2,4-Arap	13	7
2,3,4,6-Me <sub>4</sub> -Galp	Terminal Galp	1	2
2,3,6-Me <sub>3</sub> -Galp	1,4-Galp	15	19
2,6-Me <sub>2</sub> -Galp	1,3,4-Galp	33	34
2,4,6-Me <sub>3</sub> -Galp	1,3-Galp		3
2-Me-Rhap	1,3,4-Rhap	3	6
3-Me-Rhap	1,2,4-Rhap	6	8
3-Me-Fucp	1,2,4-Fucp	4	7

\* Identificados por GC-MS, em coluna OV-225 + OV-17 (3:1), conforme materiais e métodos

A - Metilado, carboxi-reduzido, metilado, hidrolisado, reduzido e acetilado

B - Metilado, hidrolisado, reduzido e acetilado

Como avaliação da composição a amostra é principalmente composta por galactose (~49 mol%) e arabinose (~21 mol%), sugerindo que o polissacarídeo extraído das folhas de *P. aculeata* é uma fração rica em arabinogalactana ácida, com porcentagens próximas as encontradas em cactos de *Cereus triangularis* (PETERA *et al.*, 2015). E é constituída por menores quantidades de ramnose (~14 mol%), fucose (~7%) e ácido galacturônico (~9 mol%). As espécies de cactáceas apresentam basicamente em sua composição os monossacarídeos: galactose, arabinose, ramnose e ácido galacturônico (SÁENZ, SEPÚLVEDA e MATSUHIRO 2004).

A análise da tabela 5 revela, também, a presença de 2,3,6-Me<sub>3</sub>-Galp e 2,6-Me<sub>2</sub>-Galp, sugerindo que a cadeia principal é constituída de ligações (1→4)

para as unidades de galactose com 34% dessas unidades substituídas na posição C-3. A presença de 2,3-Me<sub>2</sub>-Araf e 3-Me-Arap indicam, respectivamente, a presença de ligações (1→5) entre as unidades de arabinofuranose e de ligações em C-1, C-2 e C-4 para as unidades de arabinopiranosose. Assim, parte da estrutura da arabinogalactana é similar a descrita por Sierakowski *et al.* (1987) e por Habibi *et al.* (2004).

Com os resultados acima obtidos pode-se sugerir que o método de Ciucanu e Kerek (1984) aqui utilizado foi melhor para o processo de metilação e de preservação da estrutura polissacarídica, uma vez que foi possível identificar as unidades de fucose, embora ainda de forma qualitativa. Em trabalho anterior, empregando a metilação por Haworth (1915) ou por Kuhn, Trischmann e Löw (1955), que envolve em ambas a solubilização em meio básico (NaOH a 40% ou N, N-dimetilformamida), esse monossacarídeo não foi identificado (SIERAKOWSKI *et al.*, 1987). Portanto, essa unidade não foi identificada, por ter sido, possivelmente, perdida por reação de β-eliminação, especialmente por estar próxima glicosidicamente ao ácido galacturônico.

#### **4.2.4 Análise da estrutura da mucilagem por ressonância magnética nuclear**

Com as análises de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono, pode-se, de forma não degradativa, avaliar a composição da amostra em termos de polissacarídeo constituinte.

Os monossacarídeos encontrados podem ser comprovados pela análise de RMN de <sup>13</sup>C, como pode ser observado na Figura 10 e Tabelas 6 e 7. Onde os principais monossacarídeos da cadeia principal referentes à arabinogalactana, arabinose e galactose, estão apresentados com seus respectivos deslocamentos.

Adicionalmente, com a ajuda do espectro bidimensional de HSQC-RMN (*heteronuclear single quantum coherence*), foi possível elucidar outros deslocamentos de hidrogênio referentes à cadeia principal, o qual relaciona as ligações diretas entre carbono e hidrogênio de uma molécula, como pode ser observado na Figura 11 e Tabela 8.

TABELA 6. LIGAÇÕES E DESLOCAMENTOS QUÍMICOS REFERENTES A ARABINOSE OBTIDOS POR  $^{13}\text{C}$ -RMN. EM  $\text{D}_2\text{O}$ , A  $70^\circ\text{C}$ . DESLOCAMENTOS QUÍMICOS EXPRESSOS EM ( $\delta$ ) ppm

Carbono / Unidades monossacarídicas	1,5- $\alpha$ -Araf	Araf-Terminal	Arap
C-1	108,2	108,6	101
C-2	81,6	81,6	67,6
C-3	76,5	76,5	73,2
C-4	86,5	86,5	65,7
C-5	62,6	62,6	62,3

TABELA 7. LIGAÇÕES E DESLOCAMENTOS QUÍMICOS REFERENTES A GALACTOSE OBTIDOS POR  $^{13}\text{C}$ -RMN. EM  $\text{D}_2\text{O}$ , A  $70^\circ\text{C}$ . DESLOCAMENTOS QUÍMICOS EXPRESSOS EM ( $\delta$ ) ppm

Carbono/Unidades monossacarídicas	1,3,4- $\beta$ -Galp	1,4- $\beta$ -Galp
C-1	105,6	104,2
C-2	73,9	72,9
C-3	82,2	74,7
C-4	79,6	79,2
C-5	75,4	75,4
C-6	61,6	61,6

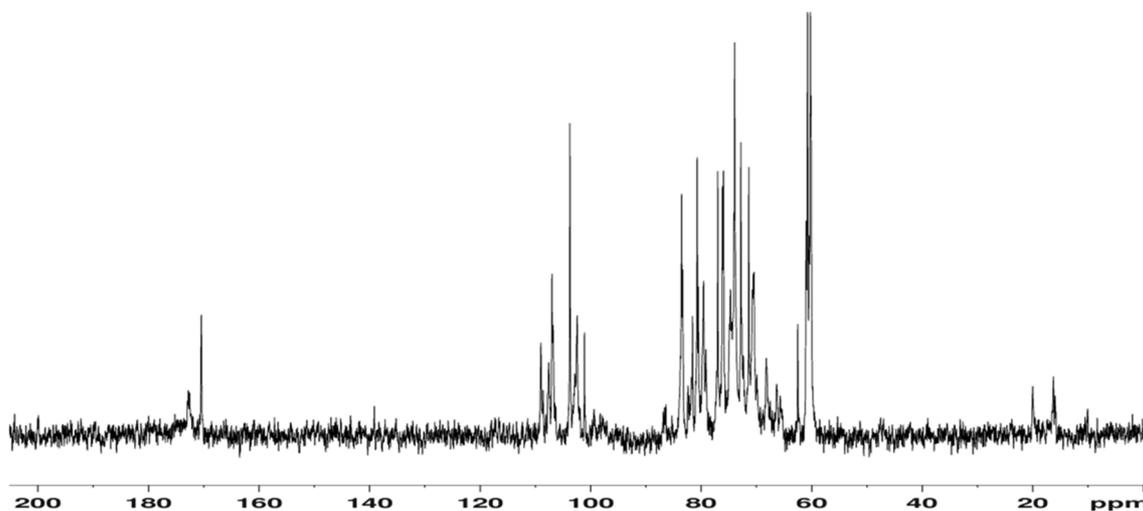


FIGURA 10. ESPECTRO DE  $^{13}\text{C}$ -RMN PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata* EM  $\text{D}_2\text{O}$ , A  $70^\circ\text{C}$ . DESLOCAMENTOS QUÍMICOS EXPRESSOS EM ( $\delta$ ) ppm.

Também, foram encontrados os deslocamentos, de unidades das ramificações, referentes à ramnopirranose, em  $\delta$  103,8, 70,8, 71,4, 73,8, 70, 16,3 atribuídas ao C-1, C-2, C-3, C-4, C-5 e C-6, respectivamente (PRAJAPATI *et al.*, 2013; HABIBI *et al.*, 2004; KANG *et al.*, 2011).

As unidades de  $\alpha$ -fucopirranose apresentaram deslocamentos em  $\delta$  102,4 ppm relacionado a C-1, além do  $\delta$  19,9 atribuído ao C-6 desse monossacarídeo. No espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (dado não apresentado), a fucose  $\delta$  1,2, pode ser relacionada por integração, onde foi possível encontrar uma quantidade de 6,1 %, próxima a encontrada por análise de metilação (7 %), segundo o processo B. Esses assinalamentos são importantes visto que a unidade de fucose é um açúcar com destacada função na saúde humana, atuando, por exemplo, como uma unidade sinalizadora em respostas em processos de inflamação e imunidade, inclusive tem apresentado efeitos fisiopatológicos funcionalmente para o tratamento de câncer (LISTINSKY, SIEGAL e LISTINSKY, 2011). Estudos realizados por Péterszegi *et al.* (2003) observaram que compostos constituídos por unidades de galactose, ácido galacturônico e fucose, extraídos a partir de um polissacarídeo bacteriano de elevada massa molecular, apresentaram bons resultados sobre o retardo do envelhecimento celular da pele, por meio do estímulo da proliferação de fibroblastos.

A amostra também apresentou sinal característico de C-6 em  $\delta$  173,4 ppm de carboxila ( $-\text{COOH}$ ) na forma ácida, em  $\delta$  171 ppm de ( $-\text{COO}^-$ ) de ácido

galacturônico na forma esterificada, e em  $\delta$  100,2 e 99,4 ppm para C-1 nas formas esterificada e livre, respectivamente.

A quantificação dos sinais de C-6 por integração ( $\int$ ) 0,21 e 0,18 respectivamente, indicam que 46,1 % do ácido urônico estão esterificados. Corroborando com esse dado, o resultado obtido através do espectro de HSQC-RMN (Figura 11). Onde a integração do H-5 do  $\alpha$ -D-ácido galacturônico esterificado e do livre ( $\delta$  5,  $\int$  0,142 e  $\delta$  4,67,  $\int$  0,2558, respectivamente) mostra que 35,5 % do ácido está esterificado. Essa diferença pode ser atribuída as propriedades de relaxação dos núcleos de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$ -RMN. Esses resultados indicam baixo grau de esterificação (GRASDALEN, BAKØI e LARSEN, 1988).

Além dos deslocamentos em  $\delta$  67,5, 67,7, 77,24, 70,5, correspondentes aos C-2, C-3, C-4 e C-5 provenientes de unidades de ácido  $\alpha$ -D-galacturônico, ligadas (1 $\rightarrow$ 4) (DUAN *et al.*, 2003; DO NASCIMENTO *et al.*, 2015). E para o espectro de  $^1\text{H}$ -RMN o deslocamento a  $\delta$  2,15 que evidenciam a presença do grupo acetil no polissacarídeo (SIERAKOWSKI *et al.*, 1990; PETERA *et al.*, 2015).

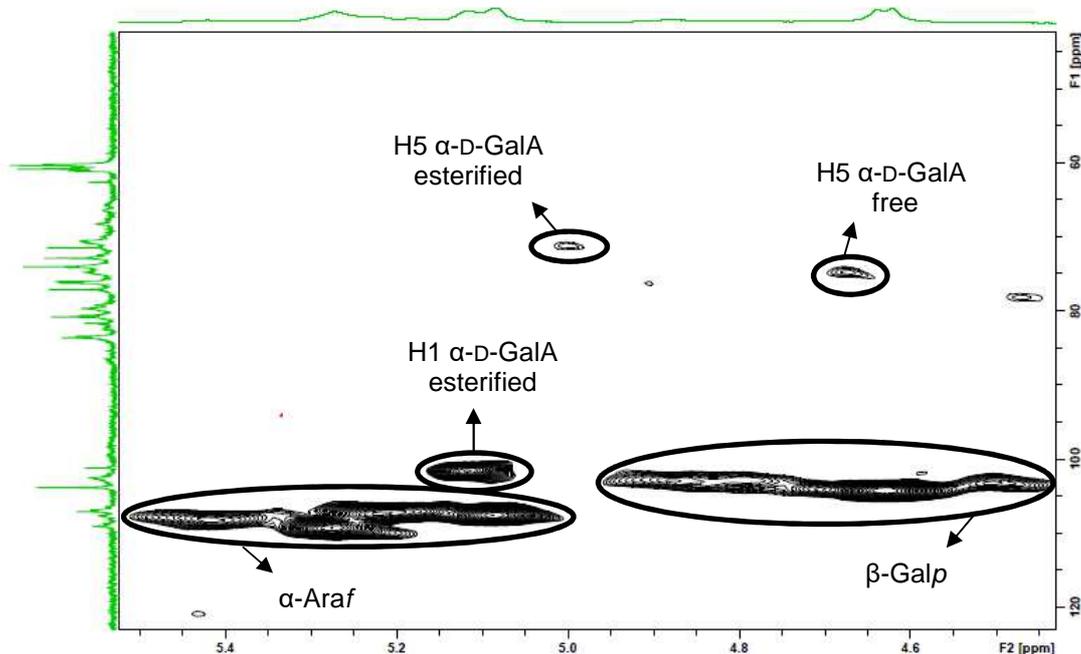


FIGURA 11. ESPECTRO DE HSQC-RMN PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata* EM  $\text{D}_2\text{O}$ , A 70 °C. DESLOCAMENTOS QUÍMICOS EXPRESSOS EM ( $\delta$ ) ppm.

TABELA 8. LIGAÇÕES E DESLOCAMENTOS QUÍMICOS REFERENTES AOS MONOSSACARÍDEOS DA MUCILAGEM DE FOLHAS DE *P. aculeata*, OBTIDOS POR HSQC-RMN. EM D<sub>2</sub>O, A 70°C. DESLOCAMENTOS QUÍMICOS EXPRESSOS EM (δ) ppm

Unidades / Ligações	Deslocamentos Químicos (δ, ppm)					
	1	2	3	4	5	6
<b>1,4-β-Galp</b>						
<sup>1</sup> H	4,6	3,8	3,8	4,1	3,7	3,7
<sup>13</sup> C	104,2	72,9	74,7	79,2	75,4	61,6
<b>Araf-Terminal</b>						
<sup>1</sup> H	5,1	4,1	3,9	4,0	3,7	
<sup>13</sup> C	108,6	81,6	76,5	86,5	62,6	

Através do espectro bidimensional de HMBC-RMN (Anexo A1), o qual revela a correlação entre hidrogênio e carbonos com distâncias de 3 a 4 ligações, foi possível elucidar algumas ligações entre as moléculas.

Como pode ser observado na Figura 12, a qual relaciona as possíveis ligações entre os monossacarídeos. Onde se pode destacar como principais correlações em δ 4,7 e 79,6 ppm referentes ao H-1 e ao C-3 da cadeia principal de 1,4-β-galactopiranosose, também em δ 5,6 e 108 ppm de H-1 e C-1 de α-arabinofuranose-terminal e ligada (1→5), respectivamente. Em outra relação com a cadeia principal, há um deslocamento em δ 4,54 de H-1 de 1,4-β-galactopiranosose relacionado ao δ 73,2 de C-3 da cadeia de 1,2,4-arabinopiranosose. O deslocamento de H-2 de arabinofuranose-terminal a δ 4,1 ppm ligados a C-2 de 1,3,4-β-galactopiranosose em δ 73,9 ppm, e ao C-1 de 1,4-β-galactopiranosose em δ 104,2. Os deslocamentos a δ 4,5 e 104 referentes, respectivamente, ao H-1 de 1,4-β-galactopiranosose e ao C-1 de ramnopiranosose. Também se observa que o H-5 de unidades de ácido-D-galacturônico livre está relacionado ao C-1 de unidades de 1,4-β-galactopiranosose, em δ 4,6 e 104 ppm, respectivamente.

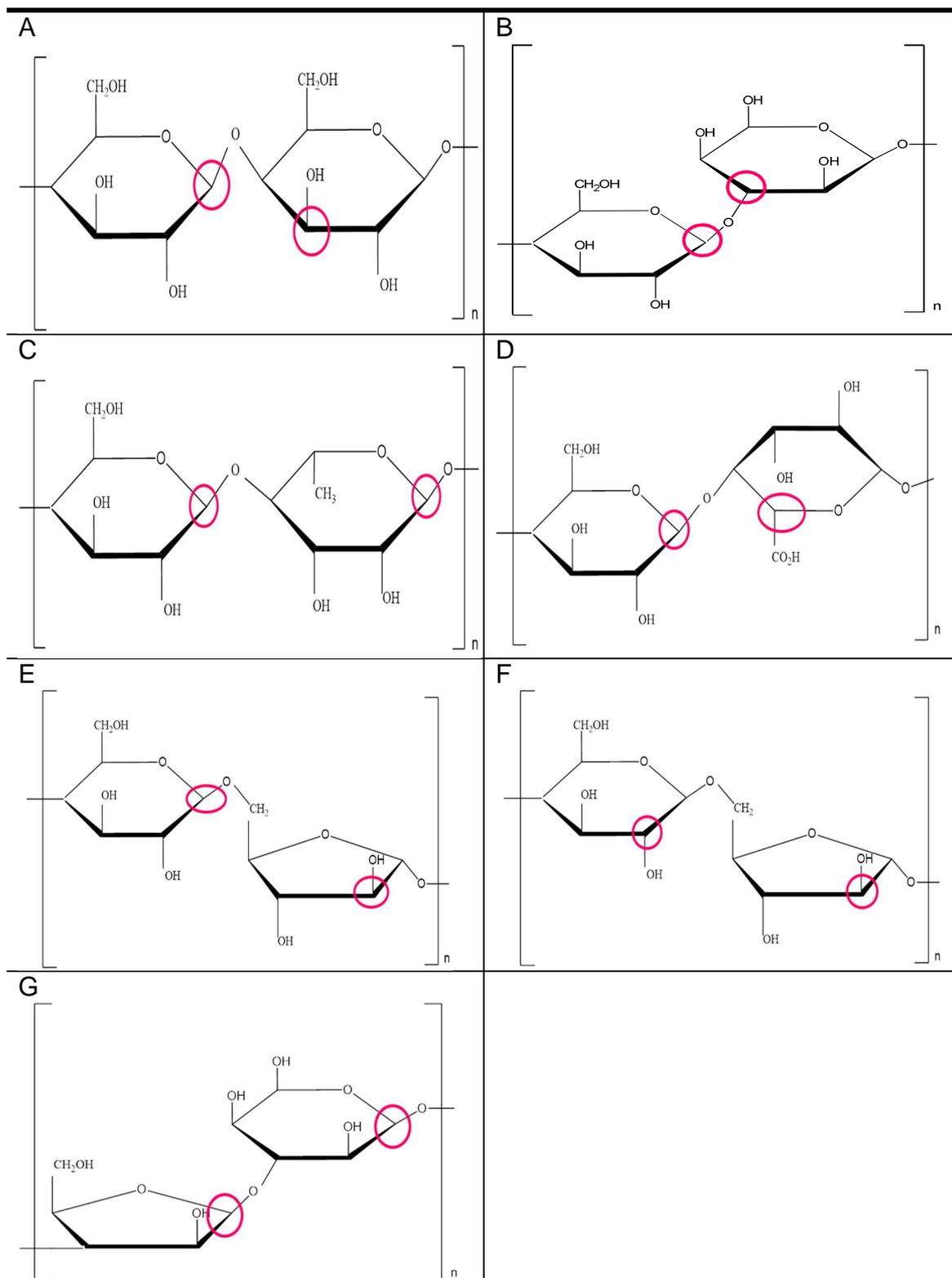


Figura 12. REPRESENTAÇÃO DOS MONOSSACARÍDEOS ENCONTRADOS PELO ESPECTRO DE HMBC-RMN. A: LIGAÇÕES ENTRE H-1 DE 1,4- $\beta$ -Galp E C-3 DE 1,4- $\beta$ -Galp. B: LIGAÇÕES ENTRE H-1 DE 1,4- $\beta$ -Galp E C-3 DE 1,2,4-Arap. C: LIGAÇÕES ENTRE H-1 DE 1,4- $\beta$ -Galp E C-1 DE Rhap. D: LIGAÇÕES ENTRE C-1 DE 1,4- $\beta$ -Galp E H-5 DE D-Galp. E: LIGAÇÕES ENTRE H-2 DE Araf-t E C-1 DE 1,4- $\beta$ -Galp. F: LIGAÇÕES ENTRE H-2 DE Araf-t E C-2 DE 1,3,4- $\beta$ -Galp. G: LIGAÇÕES ENTRE H-1 DE Araf-t E C-1 DE 1,5- $\alpha$ -Araf.

### 4.3 Determinação de parâmetros físico-químicos da mucilagem

#### 4.3.1 Análise termogravimétrica

Por meio da análise termogravimétrica (TG) e da respectiva derivada ( $dTG$ ), foi possível verificar os teores de umidade, cinzas e estabilidade térmica, como pode ser observado pelo termograma na Figura 13. As transições de fase em hidrocolóides podem ser resultantes, por exemplo, das mudanças na composição. Conhecer as temperaturas de transição e as quantidades termodinâmicas é importante para compreender os processos, tais como desidratação, evaporação, congelamento e conservação de amostras (MOTHÉ e RAO, 2010).

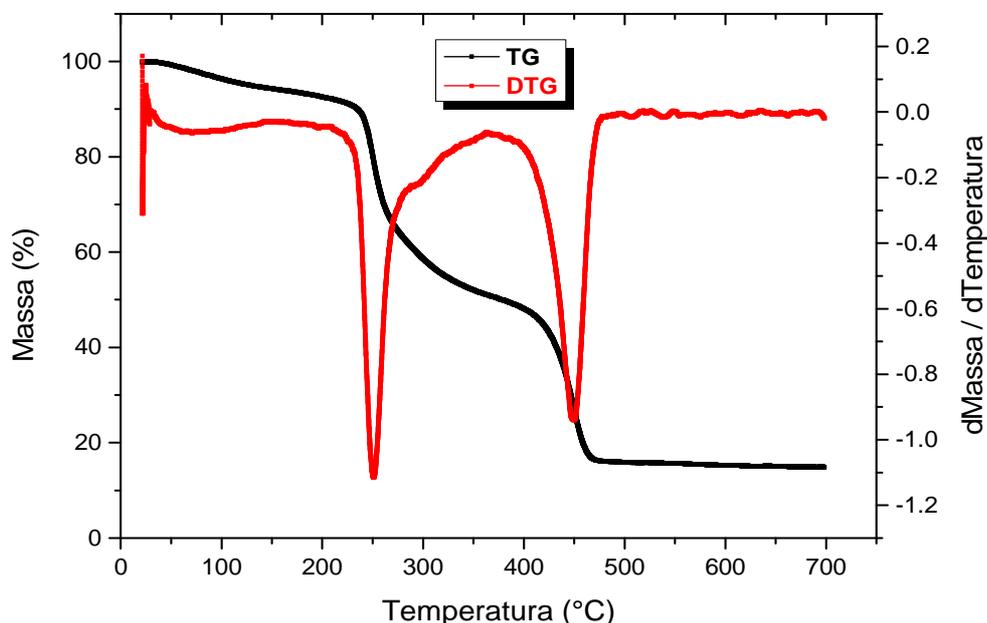


FIGURA 13. CURVAS DE TG E  $dTG$  PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata*, OBTIDA POR ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA. EM ATMOSFERA DE AR ATMOSFÉRICO E TAXA DE AQUECIMENTO DE  $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$

A curva de TG indica diferentes etapas de degradação até a queima total da fração orgânica da amostra. Podem ser observados três eventos bem

definidos. O primeiro em aproximadamente 90 °C, referente à perda de água; o segundo evento próximo a 250 °C pode ser atribuído ao início da degradação do material e a quebra de ramificações, devido a considerável perda de massa, indicado pela curva derivada da curva termogravimétrica ( $dTG$ ); o último evento em 450 °C é referente à degradação da amostra e pode ser atribuído aos resíduos de pirólise de carboidrato e resíduos minerais. Estes valores são muito próximos aos encontrados por Mercê *et al.* (2001) e por Conceição *et al.* (2014), com estudos envolvendo polissacarídeo das folhas de *P. aculeata*.

Encontrou-se 9 % de umidade, e estudos realizados por Lima Jr *et al.*, (2013) apresentaram 13,5 % de umidade, porém utilizaram outro método de análise para obter esse dado. A quantidade de massa residual, constituída por cinzas e por óxidos de metais foi de aproximadamente 16 %. Enquanto o referido autor acima encontrou 42,5 % em seus estudos para as folhas de *P. aculeata*.

#### **4.3.2 Análise por cromatografia de exclusão por tamanho (SEC)**

A técnica de cromatografia de exclusão por tamanho (SEC) desempenha um fator muito importante no estudo de macromoléculas naturais e sintéticas, pois tem a habilidade de medir muitos parâmetros, entre os quais a  $M_w$  e sua distribuição, importante característica de polissacarídeos que pode influenciar em seu comportamento, na viscosidade por exemplo, e até mensurar dimensão do espaço que uma cadeia de um polímero ocupa, em analogia a uma esfera oca, com massa e momento de inércia iguais aos da molécula, conhecido como  $R_g$ .

Como pode ser visto no perfil cromatográfico na Figura 14, há a presença de 4 picos no IR, que mostram populações com diferentes distribuições de massa molar, e que eluem em tempos diferentes. Sendo, portanto, uma amostra dispersa com distribuição multimodal. A própria composição química desse material pode interferir nessa característica de dispersão, especialmente em relação à composição como em ácidos urônicos e proteína. O material em estudo é altamente heterogêneo, com relação ao observado pela técnica de SEC, visto que além da variação na composição das diferentes unidades de monômeros

(monossacarídeos e aminoácidos), e de suas possíveis ligações e ramificações, também pode apresentar variação na distribuição das massas molares (LIMA *et al.*, 2013).

O primeiro pico, assinalado na Figura 14, é o que traz as informações mais relevantes sobre a amostra, visto que todos os detectores o indicam neste tempo de eluição. Assim sendo, a Tabela 9 apresenta os resultados obtidos pelas análises de cromatografia de exclusão por tamanho (SEC) acoplada a multidetectores, conforme descrito em materiais e métodos, com informações referentes ao primeiro pico.

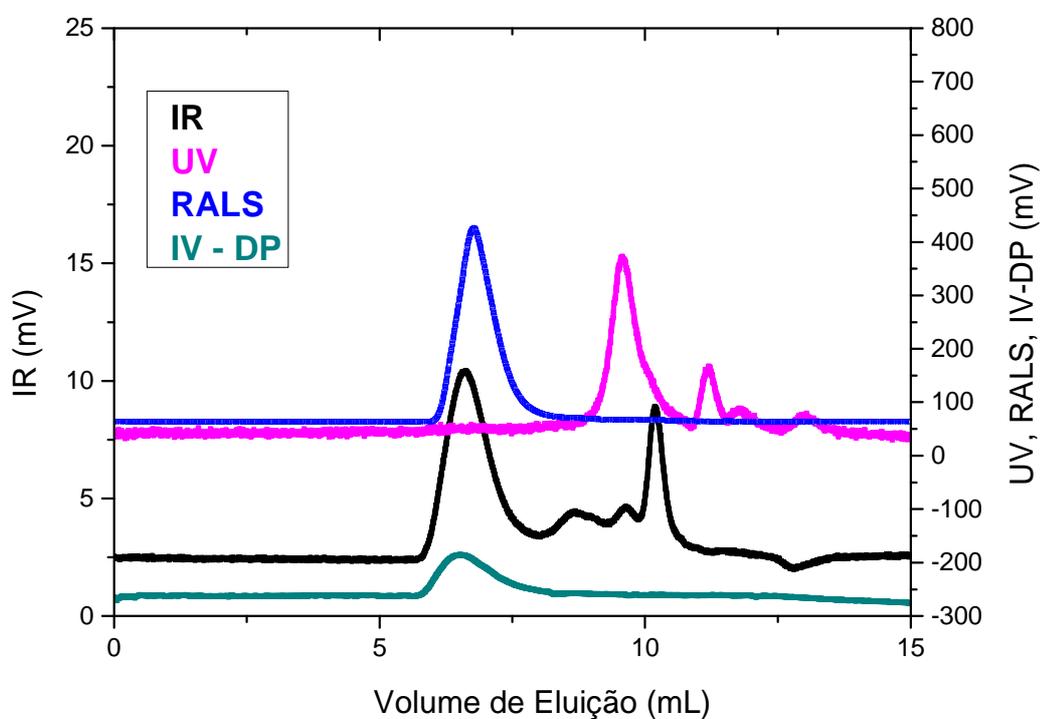


FIGURA 14. PERFIL DE ELUIÇÃO POR CROMATOGRAFIA DE EXCLUSÃO POR TAMANHO DA MUCILAGEM de folhas de *P. aculeata*, NA CONCENTRAÇÃO DE 1 mg.mL<sup>-1</sup>, EM 0,1 mol.L<sup>-1</sup> DE NaNO<sub>3</sub>

TABELA 9. CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES MACROMOLECULARES DA MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata*, ANALISADAS POR SEC-MULTIDETECTORES

Análises	Valores
dn/dc (mL.g <sup>-1</sup> )	0,16
M <sub>w</sub> (g.mol <sup>-1</sup> )/ 10 <sup>5</sup>	7,9
M <sub>n</sub> (g.mol <sup>-1</sup> )/ 10 <sup>5</sup>	6,1
M <sub>w</sub> /M <sub>n</sub>	1,3
[η] (dL.g <sup>-1</sup> )	2,6
K (10 <sup>-3</sup> )	1,42
α	0,55
R <sub>g</sub> (Flory-Fox) (nm)	41
c* (mg.mL <sup>-1</sup> )	4,6

Valores de dn/dc; massa molar média ponderal (M<sub>w</sub>); massa molar média numérica (M<sub>n</sub>); dispersão (M<sub>w</sub>/M<sub>n</sub>); viscosidade intrínseca ([η]); raio de giro segundo Flory-Fox (R<sub>g</sub>);

Os resultados encontrados para o índice de dn/dc, que é uma constante que relaciona o índice de refração do meio em função da concentração para a amostra total, foi de 0,16, o mesmo valor encontrado por Cipriani *et al.* (2009) em uma arabinogalactana extraída do farelo de soja. A determinação desse valor é importante porque se incluem nos cálculos da determinação da massa molar pelas técnicas de espalhamento de luz, como será visto a seguir.

Com relação à M<sub>w</sub>, uma das principais característica físico-químicas de polissacarídeos solúveis em água é que podem variar ao longo de uma ampla faixa, de aproximadamente 10<sup>3</sup> a 10<sup>7</sup> g.mol<sup>-1</sup> (DUSHKIN *et al.*, 2013). O valor aqui encontrado para este parâmetro foi de 7,9 x 10<sup>5</sup> g.mol<sup>-1</sup>. Valores próximos são encontrados na literatura, por exemplo, para arabinogalactanas extraídas de folhas do caqui, das flores de crisântemo e do fruto de tamarillo (*Solanum betaceum*) que apresentaram massa molar de 9,0 x 10<sup>5</sup> g.mol<sup>-1</sup> (DUAN *et al.*,

2003),  $1,7 \times 10^5 \text{ g.mol}^{-1}$  (LIANG *et al.*, 2014) e  $1,3 \times 10^6 \text{ g.mol}^{-1}$  (DO NASCIMENTO *et al.*, 2015), respectivamente, determinadas pela técnica de SEC.

Quanto à  $M_n$ , encontrou-se o valor de  $6,1 \times 10^5 \text{ g.mol}^{-1}$ . Este índice é importante quando relacionado à  $M_w$ , para dar informações sobre a dispersão do polímero. A razão  $M_w/M_n$ , chamada de dispersão, é uma medida útil sobre a distribuição de massa molar do polímero. Altos valores desse índice indicam uma ampla distribuição com quantidades dos materiais em ambos os extremos. Quando  $M_w/M_n$  tem valor igual a 1, indica que todas as moléculas poliméricas têm a mesma massa molar (SUN, 1922). O valor da tabela 9 (1,3) mostra que o material é disperso, dentro da faixa de 1,5 ~ 2,0 que é a normalmente encontrada para polissacarídeos naturais (WANG e CUI, 2005).

A viscosidade intrínseca  $[\eta]$  é uma indicação da dimensão espacial das moléculas do polímero em uma solução diluída (STRIEGEL, 2003), definida como a viscosidade para a concentração, infinitamente diluída, tendendo a zero (LUCAS, SOARES e MONTEIRO, 2001). A dependência da  $[\eta]$  está diretamente relacionada com a massa molar e pode fornecer informações sobre a dimensão dos polímeros e sobre a arquitetura, quando relacionadas à equação de Mark-Houwink,  $[\eta] = KM^\alpha$ . Onde, K e  $\alpha$  são constantes para um determinado sistema envolvendo polímero/solvente/temperatura. O valor de  $\alpha$  de 0,55, indica que o polissacarídeo estudado tem estrutura de cadeias flexíveis (MOREIRA *et al.*, 2004), quando em solução de nitrato de sódio

O valor do raio de giro ( $R_g$ ) encontrado para a amostra (41 nm), é ocasionado pela repulsão eletrostática das cargas do polieletrólito, que geram uma expansão do volume molar, preferencialmente, através de entrelaçamentos, ou zonas de junção, através de cadeias laterais (DE FREITAS *et al.*, 2010). Portanto, revela a arquitetura da macromolécula e pode estar relacionado à distribuição do ácido urônico na estrutura, tanto na cadeia principal como nas ramificações e, também, à presença de proteína, os quais interferem na mobilidade das cadeias.

No valor de concentração crítica ( $c^*$ ) obtida pela equação 3, observa-se que a amostra foi preparada dentro do regime diluído. Quando a concentração do polímero em solução é menor que  $c^*$ , as cadeias ficam separadas, e se comportam quase que de forma independente, ou seja, há pouca interação entre

as cadeias do polímero e, preferencialmente, interagem com as moléculas do solvente (TERAOKA, 2002).

#### 4.3.3 Potencial zeta

A medida do potencial zeta é determinada utilizando técnicas de eletroforese e indica o potencial de superfície das partículas, medindo as forças eletrostáticas repulsivas e atrativas, onde pode ser influenciado pelas alterações na interface com o meio dispersante, devido à dissociação de grupos funcionais na superfície ou adsorção de espécies iônicas que estão presentes no meio aquoso da dispersão (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003; MIRHOSSEINI *et al.*, 2008).

O potencial zeta da mucilagem das folhas de *P. aculeata* é de -25 mV, onde as mudanças na carga da superfície podem ser atribuídas a presença de ácido galacturônico e as carboxilas de cadeias laterais de aminoácidos, impactando na carga negativa (PATHAK *et al.*, 2015). Também, é atribuída às cargas negativas na estrutura de algumas moléculas à presença em grande quantidade de hidroxila e carboxila. Assim, a combinação de massa molar elevada, com uma proporção adequada de carboidratos, proteínas e uma carga predominantemente negativa são fatores que podem melhorar a estabilidade de sistemas coloidais, tais como produtos coloidais farmacêuticos, cosméticos e alimentares (SIBAJA-HERNÁNDEZ *et al.*, 2015).

#### 4.3.4 Tensiometria

A Figura 15 apresenta a relação entre a tensão superficial e o logaritmo da concentração para avaliar o seu comportamento. A observação da tendência em diminuir a tensão superficial com o aumento da concentração, pode ser explicada pela presença de grupos O-acetil, O-metil nos polissacarídeos e dos grupos R laterais de aminoácidos da proteína, na composição da amostra, que induzem mudanças de polaridade na superfície (menos polar) e que podem implicar na capacidade da mucilagem de agir como um hidrocolóide tensoativo (YAPO *et al.*, 2007). Não foram encontrados valores de tensão superficial na literatura próximos aos relatados neste trabalho visto que a maioria das medidas

é instantânea. Portanto, a diferença pode ser devida ao tempo de equilíbrio (10 minutos) antes da medida, e que deve ser propiciado com o intuito de que as moléculas do tensoativo migrem do centro da solução para a interface, se orientem e se acomodem na superfície. (MYERS, 1999; KAMINSKI *et al.*, 2015).

Em uma solução, as moléculas de tensoativos tentam ocupar a superfície e a partir do momento que a superfície é saturada, elas migram da superfície, se aglomeram no interior da solução e formam agregados; a concentração a qual isso acontece chama-se por concentração de adsorção crítica. Acima da concentração de adsorção crítica, pode-se avaliar a concentração crítica de auto-associação, definido como o momento em que as associações entre cadeias poliméricas começam a se formar, e aumentam com o aumento da quantidade de grupos hidrofílicos (GIUSTI, POPOT e TRIBET, 2012).

A tensão superficial da amostra em concentração abaixo de  $1 \text{ mg.mL}^{-1}$  é muito próxima a encontrada para a água ( $72,75 \text{ mN.m}^{-1}$ ) na temperatura de análise, acima dessa concentração há diminuição concomitante da tensão superficial. Por intersecção das tangentes a mucilagem apresenta a concentração de adsorção crítica aproximadamente a  $1 \text{ mg.mL}^{-1}$ . Já com relação a concentração de auto-associação encontrou-se praticamente uma tendência a um platô em concentrações a partir de  $8 \text{ mg.mL}^{-1}$ .

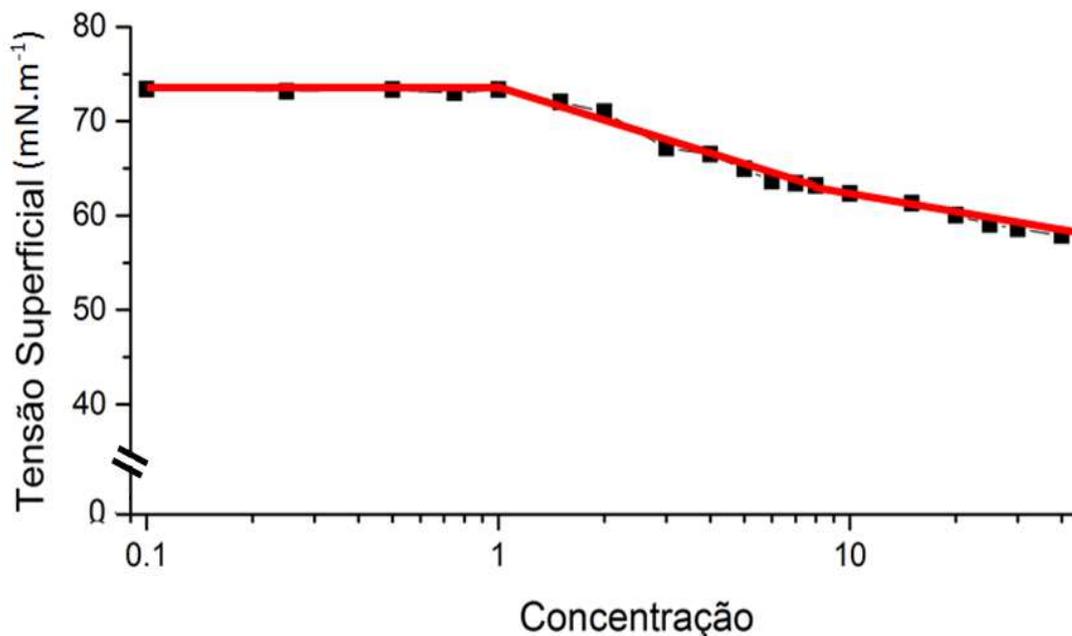


FIGURA 15. TENSÃO SUPERFICIAL DA MUCILAGEM PREPARADA EM ÁGUA, RELACIONADA AO LOG DAS CONCENTRAÇÕES ENTRE 0,1 E 40 mg.mL<sup>-1</sup>, A 25°C±2

### 4.3.5 Ensaios Reológicos

#### 4.3.5.1 Mucilagem dispersa em água

O comportamento reológico de mucilagens em solução, apresenta alta dependência do meio, como massa molar, concentração, pH, temperatura, açúcar e sal para formar gel (HUA *et al.*, 2015). Após ensaios reológicos prévios fez-se a escolha da melhor concentração da amostra (60 mg.mL<sup>-1</sup>) para análise do comportamento em fluxo. A Figura 16 mostra a diferença no comportamento reológico das curvas de viscosidade entre a mucilagem no extrato bruto e a purificada (previamente descritas nos Materiais e Métodos). Pode-se afirmar que a remoção de material insolúvel no processo de purificação por centrifugação melhorou o comportamento da dispersão, contribuindo para melhorar a organização e interação das estruturas, visto a grande diminuição da histerese. Esse é um fenômeno que ocorre quando numa curva de fluxo se aplicada uma

taxa de cisalhamento, e a curva da volta não se sobrepõe a curva de ida. Tal comportamento pode ser atribuído em decorrência da perda de moléculas de água das redes internas, e da não repetição da organização macromolecular no sentido do cisalhamento tendendo ao repouso. Observou-se um valor da viscosidade maior após a purificação onde, por exemplo, no ponto de taxa de cisalhamento de  $100 \text{ s}^{-1}$ , a viscosidade aparente é 170 e 512 mPa.s para o extrato bruto e para a amostra purificada, respectivamente. Isso mostra a melhor interação/entrelaçamento das cadeias dos polissacarídeos gerando o aumento na viscosidade, após a remoção de partículas sólidas insolúveis em água, implicando numa maior quantidade (concentração) de mucilagem e, conseqüentemente, maior viscosidade.

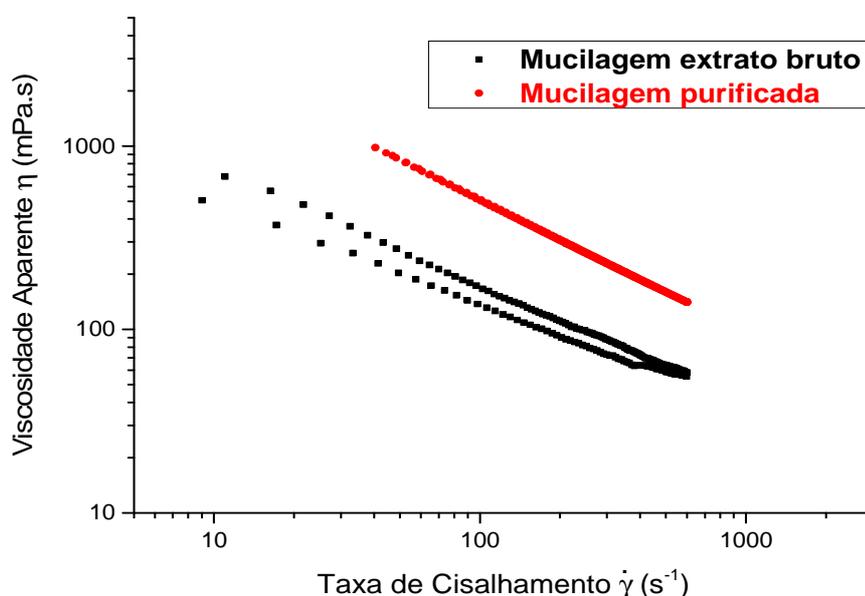


FIGURA 16. CURVAS DE VISCOSIDADE APARENTE PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata*, EXTRATO BRUTO E PURIFICADO. NA CONCENTRAÇÃO  $60 \text{ mg.mL}^{-1}$  PREPARADAS EM ÁGUA PURA, A  $25^\circ\text{C}$

Com relação ao perfil das curvas de viscosidade os dados foram tratados pelo modelo matemático de Ostwald de Waele, o qual prevê uma representação adequada para fluidos não-newtonianos submetidos ao cisalhamento. Os valores do índice de comportamento ( $n$ ) caracteriza os fluidos como pseudoplásticos quando  $0 < n < 1$ , onde a viscosidade diminui com o aumento da taxa de cisalhamento. Para fluidos Newtonianos o  $n = 1$ , independente da taxa de cisalhamento, mantendo a viscosidade constante. E para os fluidos

dilatantes, aqueles que aumentam a viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento o valor de  $1 < n < 2$  (VAJRVELU *et al.*, 2014). Nos resultados obtidos e apresentados na Tabela 10 para as duas amostras, o valor de  $n$  variou entre 0,53 e 0,58, mostrando que têm comportamento pseudoplástico, o que pode ser observado também pelo comportamento da curva da Figura 16.

Os valores de  $K$ , coeficiente de consistência, é bem maior para a mucilagem purificada, e este está relacionado à viscosidade, ou seja, quanto maior a viscosidade, maior será o coeficiente de consistência.

TABELA 10. PARÂMETROS REOLÓGICOS REFERENTES AO MODELO MATEMÁTICO DE OSWALD DE WAELE PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata*

Amostras	$n$	$K$ (Pa.s <sup><math>n</math></sup> )	$r^2$
Amostra Purificada	0,58	9004	0,97
Amostra Extrato Bruto	0,53	1412	0,98

Equação de Oswald de Waele:  $\tau = K \dot{\gamma}^n$

#### 4.3.5.2 Mucilagem dispersa em soluções de NaCl

Sabe-se que os polissacarídeos aniônicos ou catiônicos podem exibir o valor de viscosidade elevada em água como resultado das interações repulsivas de grupos com cargas iônicas ao longo das cadeias macromoleculares. No entanto, na presença de sais adicionados, as repulsões de carga-carga são reduzidas, e as cadeias adotam uma conformação mais compacta, o que resulta numa diminuição considerável da viscosidade e até separação de fases, devido às associações inter e intra-moleculares (ZHANG *et al.*, 2005). Dessa forma, as alterações da concentração de sais entre 0,15, 0,2 e 0,3 mol.L<sup>-1</sup>, apresentados na Figura 17, além das soluções isoionicas, teve como propósito observar o comportamento da mucilagem na presença e ausência de íons. Conforme acima relatado, sabe-se que, pode haver expansão das cadeias dos polímeros, devido

à presença de grupos carregados de mesmo sinal quando da ausência de carga contrária, oriunda de força salina suficiente para a neutralização dessas cargas.

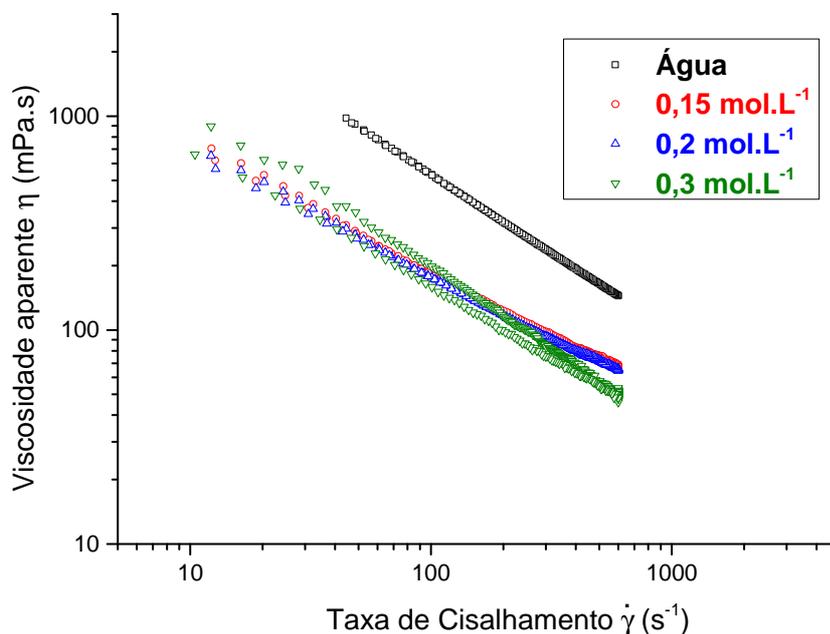


FIGURA 17. CURVAS DE VISCOSIDADE APARENTE PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata*, NA CONCENTRAÇÃO 60 mg.mL<sup>-1</sup> PREPARADAS EM ÁGUA E EM SOLUÇÕES DE NaCl, A 25°C

Nas curvas da figura 17 observa-se que, para uma mesma concentração da mucilagem, o melhor comportamento para a curva de viscosidade foi para a concentração de 0,15 mol.L<sup>-1</sup> de NaCl, onde a força iônica é mais forte em relação à solubilização em água, e assim as concentrações dos contra íons fazem a molécula se “contrair” expressando menor viscosidade, devido ao efeito de blindagem (SHAO *et al.*, 2014). Observou-se, também, no perfil das curvas significativa histerese quando se adicionou uma concentração salina de 0,3 mol.L<sup>-1</sup>, pela competição das moléculas de água quer pelo polieletrólito e eletrólito.

#### 4.3.5.3 Efeito do aquecimento no preparo da dispersão e do aquecimento/resfriamento nas curvas de viscosidade

As curvas de viscosidade também foram avaliadas com relação ao efeito da temperatura na dispersão da mucilagem antes das análises da viscosidade.

(Figura 18). Pelo aumento da viscosidade aparente da amostra aquecida antes das leituras, observa-se uma maior dispersão das moléculas no solvente, e maior interação entre elas. Fato que, possivelmente, pode ser explicado pela presença das proteínas que, com o aquecimento, são desnaturadas e migram para a interface, aumentando os valores da viscosidade em solução pela melhor interação entre as cadeias de polissacarídeos.

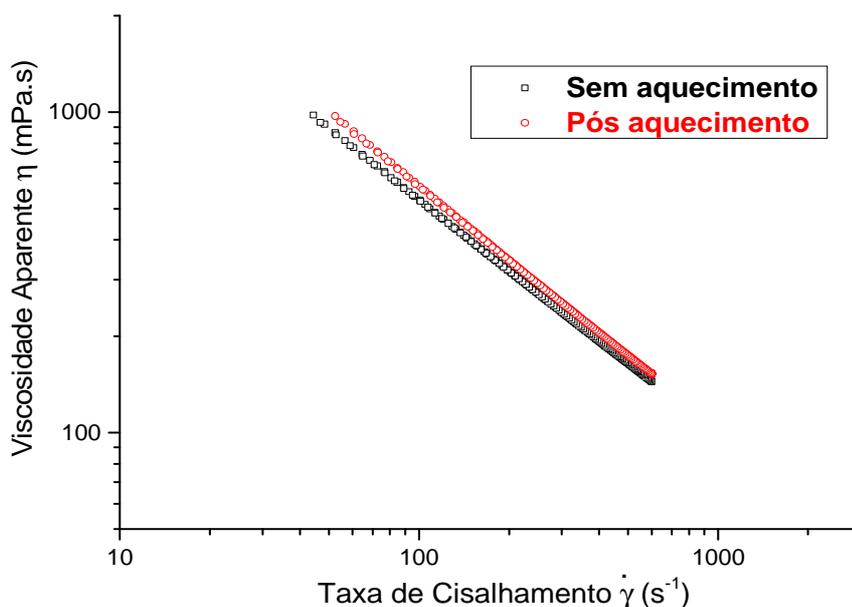


FIGURA 18. CURVAS DE VISCOSIDADE APARENTE PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata*, NA CONCENTRAÇÃO 60 mg.mL<sup>-1</sup> PREPARADAS EM ÁGUA, SEM AQUECIMENTO E PÓS AQUECIMENTO ANTES DAS ANÁLISES, A 25°C

Nas rampas de variação de temperatura, entre 20 a 70°C a cada 5°C, tanto no sentido do aumento quanto da diminuição de cada temperatura, teve-se como objetivo observar o relaxamento das moléculas, e de que forma a energia térmica influencia no comportamento viscoso do material. Com o aumento da temperatura, ocorrem mais facilmente as transições conformacionais e os movimentos moleculares, os quais podem afetar consideravelmente as interações intermoleculares, incluindo ligações de hidrogênio, repulsões eletrostáticas, associações hidrofóbicas e interações de van der Waals (HUA *et al.*, 2015). No efeito da variação de temperatura notou-

se também que, com o aquecimento, houve uma diminuição da viscosidade, bem como acontece para a maioria das soluções de polissacarídeos pelo rearranjo molecular em solução. Este fato mostra que o aumento da temperatura enfraquece as propriedades espessantes e a pseudoplasticidade da solução aquosa (SHAO *et al.*, 2014). Porém, observou-se que aquecer a amostra no reômetro e depois resfriar a 25°C para fazer as curvas de fluxo, há um aumento da viscosidade, ou seja, as cadeias se solubilizam e se organizam melhor, comprovado pelo índice  $K$ , onde a amostra pós aquecimento obteve um valor de 19.440 Pa.s<sup>n</sup>.

#### **4.3.5.4 Efeito da variação de pH e da adição de íons cálcio à dispersão**

Da literatura sabe-se que arabinogalactanas ácidas que possuem baixo grau de esterificação (menor que 50%) formam gel na presença de íons cálcio, através da zona de junção intermolecular entre as cadeias do polissacarídeo, segundo o modelo Egg-Box (DURAND *et al.*, 1990; IGLESIAS E LOZANO, 2004; BRACCINI e PÉREZ 2001; HUA *et al.*, 2015). Nessa perspectiva trabalhamos com as duas variáveis, pH e concentração de íons cálcio.

Inicialmente, a amostra foi avaliada com ensaios a pH 3, 5, 7,2 e 10, Figura 19. Os pHs ácidos (3 e 5) foram corrigidos levando em consideração possível uso da mucilagem em produtos alimentícios ácidos (exemplo a formulação de iogurtes), o pH 7,1 referente ao pH corporal, além da análise para a possível formação de um sistema viscoelástico.

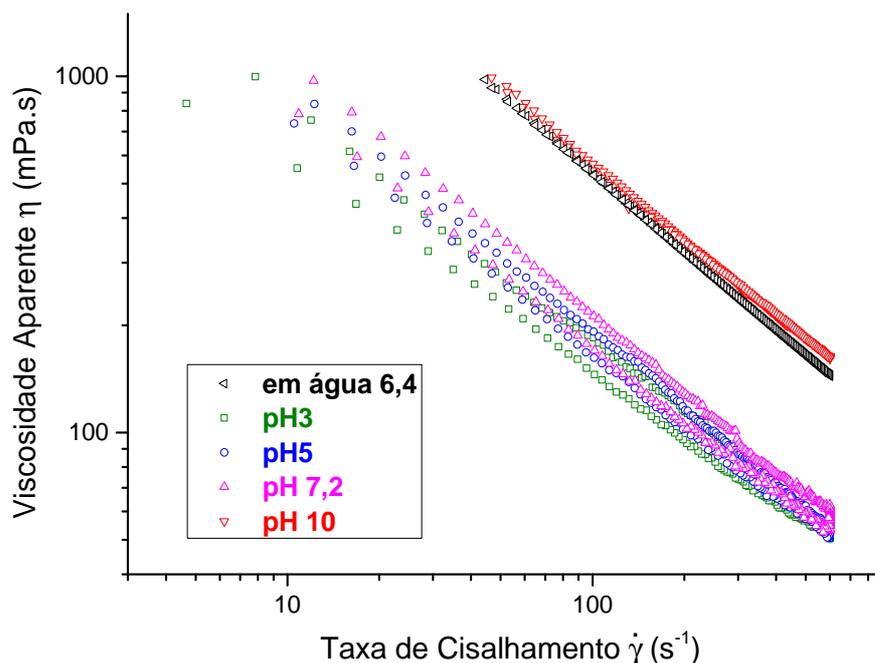


FIGURA 19. CURVAS DE VISCOSIDADE APARENTE PARA MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata*, NA CONCENTRAÇÃO DE 60 mg.mL<sup>-1</sup>, EM DIFERENTES pHs E EM ÁGUA, A 25°C

Em solução aquosa, observou-se que a dispersão apresenta pH entre 6,4 e 6,5. E, nas variações de pH a que as amostras foram submetidas, observa-se que a viscosidade aumentou concomitantemente com o aumento do pH, possivelmente por maior ionização de grupamentos carboxilas, especialmente do ácido urônico, de hidroxilas formando alcóxido, os quais por repulsão iônica, estendem a molécula e aumentam seu volume hidrodinâmico e, conseqüentemente, sua resistência ao fluxo (SHAO *et al.*, 2014).

A adição de íons cálcio, um eletrólito divalente, foi efetuada na tentativa de se observar o envolvimento dos grupos COO<sup>-</sup> presentes na estrutura do polímero com o íon adicionado, formando as conhecidas Egg-box (Figura 20).

Com a adição de íons cálcio à solução da melhor concentração desse íon para a interação entre os grupamentos funcionais COO<sup>-</sup> e o Ca<sup>2+</sup> foi a 0,0075 mg.mL<sup>-1</sup>. E, nos cálculos efetuados, essa concentração está relacionada à quantidade de ácido urônico presente na amostra e a quantidade necessária de cálcio, obedecendo a relação  $R = [2(Ca^{+2})/(COO^{-})]$ , com  $R = 0,05$  (CÁRDENAS, GOYCOOLEA e RINAUDO, 2008; BRACCINI e PÉREZ 2001).

A figura 20 apresenta de modo comparativo as amostras da mucilagem dispersa em água, da mucilagem com íons cálcio a  $0,0075 \text{ mg.mL}^{-1}$  ( $\text{Ca}^{2+}$   $0,0075 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) e da mucilagem que recebeu tratamentos, como pré-aquecimento, adequação de pH e proteção a degradação, visto as melhores condições previamente apresentadas, assim como descrito nos Materiais e Métodos. Nessas condições, como observado pela Figura 20 e Tabela 11, foi a amostra pré-aquecida, tamponada e protegida com íons hidreto a que apresentou a maior viscosidade e a menor histerese quando comparada as mucilagem purificada e com adição de cálcio, comprovado pelo índice de consistência ( $K$ ), indicando significativo aumento da viscosidade, e do valor de  $n$ , que indica que a solução permanece no regime pseudoplástico. Com destaque para a dependência do tempo revelada para a mucilagem que foi tratada com íons cálcio apenas.

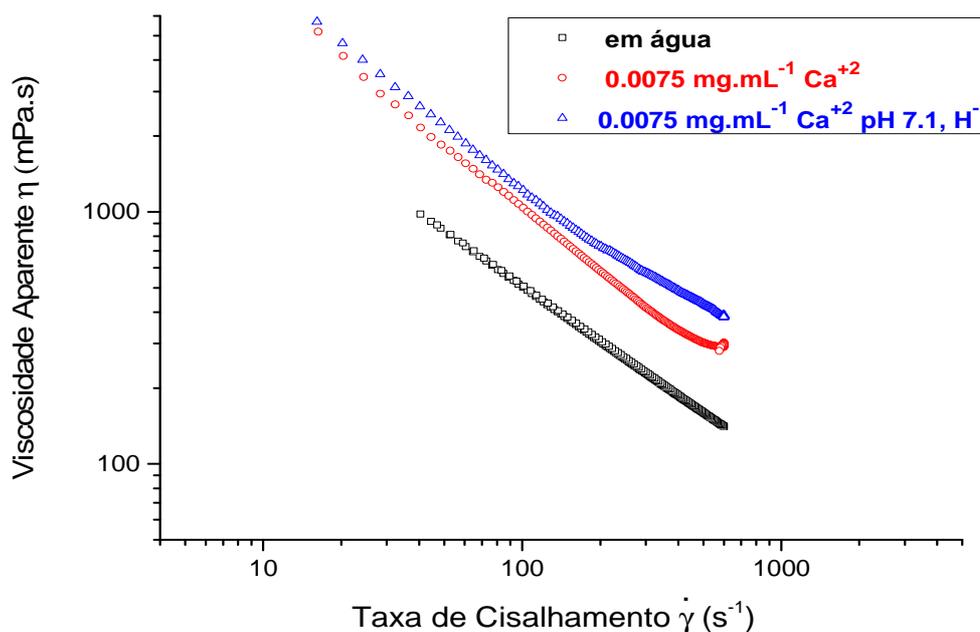


FIGURA 20. CURVAS DE VISCOSIDADE APARENTE PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata*, NA CONCENTRAÇÃO  $60 \text{ mg.mL}^{-1}$  PREPARADAS EM ÁGUA, COM ÍONS CÁLCIO EM pH 7,1 COM E SEM PRÉ-AQUECIMENTO, E COM E SEM HIDRETO, A  $25^\circ\text{C}$

TABELA 11. PARÂMETROS REOLÓGICOS REFERENTES AO MODELO MATEMÁTICO DE OSWALD DE WAELE PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata*

Amostras	$n$	$K$	$r^2$
		(Pa.s <sup>n</sup> )	
Em água	0,58	9.004	0,97
Com Ca <sup>2+</sup> (*)	0,18	45.740	0,99
Aquecida 15h, Ca <sup>2+</sup> (**)	0,21	50.160	0,97

Equação de Oswald de Waele:  $\tau = K \dot{\gamma}^n$

(\*) 0,0075 mg.mL<sup>-1</sup> de cálcio

(\*\*) 0,0075 mg.mL<sup>-1</sup> de cálcio, pH 7,1 (tampão fosfato) e hidreto (H)

#### 4.3.5.5 Análise em regime oscilatório

A análise de materiais viscoelásticos é projetada de forma a não destruir a estrutura da amostra, de modo que as medições possam fornecer informações sobre as forças intermoleculares e interpartículas no material (THOMBRE e GIDE, 2013). Assim sendo, para uma melhor caracterização da amostra mais viscosa foram realizadas análises no sistema oscilatório. Primeiramente, foi feito a curva de tensão, com o intuito de observar a região viscoelástica, na qual a organização da rede é mantida, ou seja, independente da frequência aplicada os módulos de armazenamento ou elástico ( $G'$ ) e o módulo de perda ou viscoso ( $G''$ ), não se alteram. É importante que a análise oscilatória seja realizada neste intervalo, porque senão os valores dos módulos serão muito menores devido ao cisalhamento e à destruição da rede do polissacarídeo (HAMINIUK *et al.*, 2009). A Figura 21 apresenta a relação entre os módulos de ( $G'$  e  $G''$ ) e a variação da tensão de cisalhamento entre 0,01 a 20 Pa, nas frequências de 0,05, 1 e 10 Hz para a amostra que apresentou os maiores valores de viscosidade aparente. Nota-se que para todas as frequências avaliadas a região entre 0,04 e 1 Pa é a viscoelástica, visto o platô formado, portanto escolheu-se a tensão de 0,1 Pa para os demais ensaios.

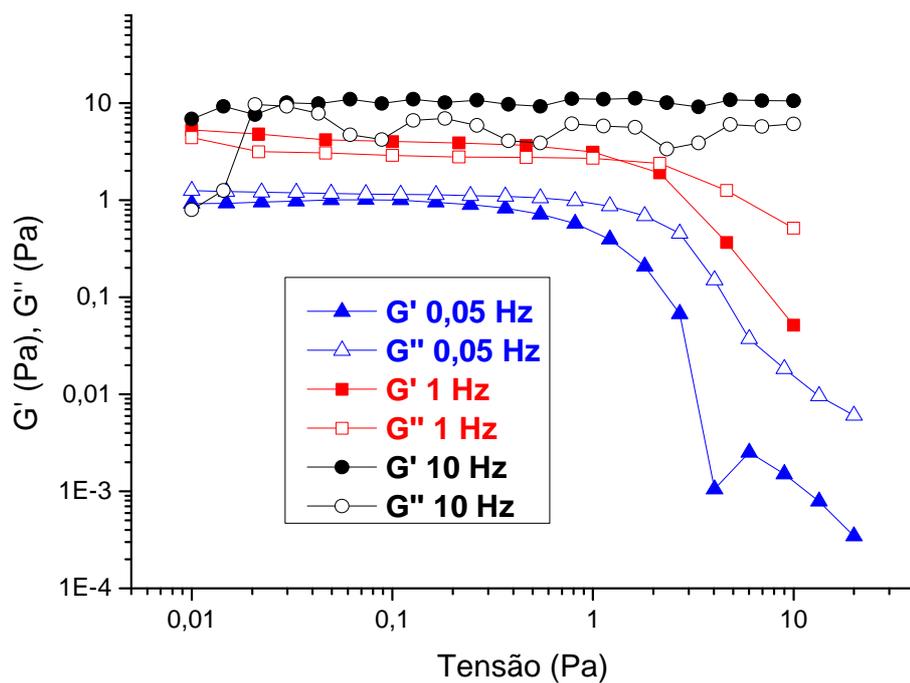


FIGURA 21. CURVAS PARA DETERMINAÇÃO DA REGIÃO VISCOELÁSTICA PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata*, COM ÍONS  $Ca^{2+}$ , pH 7,1 E  $H^+$ , A  $25^{\circ}C$

Para a caracterização da força das interações, foi analisada uma curva de varredura de frequência entre  $0,01$  a  $20$  Hz, aplicando a tensão de  $0,1$  Pa, cujo perfil pode ser observado na Figura 22.

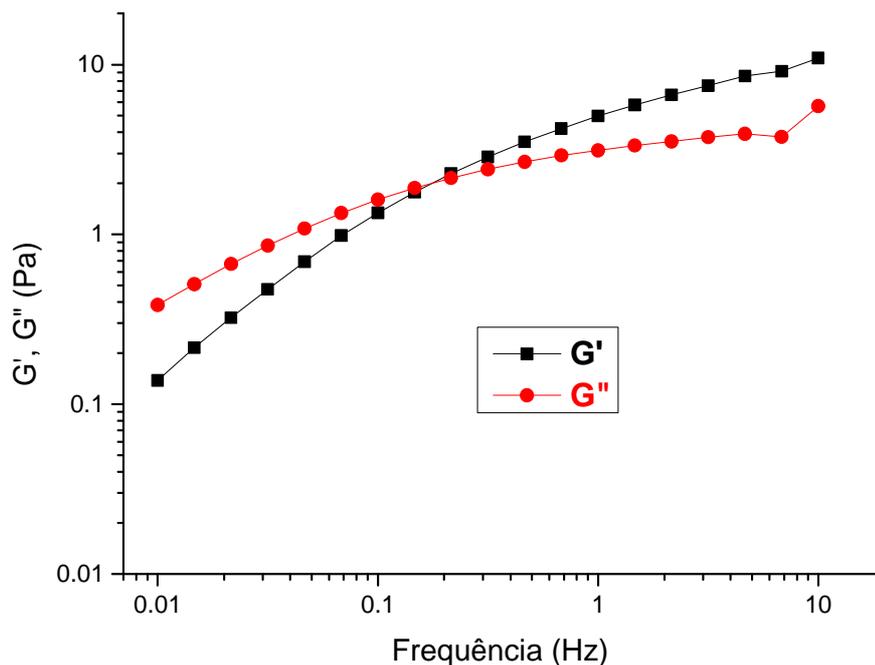


FIGURA 22. VARREDURA DE FREQUÊNCIA PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata*, a 60g/L, COM ÍONS  $\text{Ca}^{2+}$ , pH 7,1 E H<sup>+</sup>. G' (MÓDULO DE ARMAZENAMENTO) E G'' (MÓDULO DE PERDA), A 25°C

Uma solução diluída, solução concentrada e um gel apresentam diferentes comportamentos quando submetidos a varredura de frequência (STEFFE, 1996). Observa-se, na Figura 22, o espectro mecânico da amostra onde, inicialmente, a baixos valores de frequência, o G'' (módulo viscoso) é maior, comportamento característico de dispersão líquida, porém com o aumento da frequência ocorreu o “fenômeno de crossover”, ou seja, a intersecção entre os dois módulos, onde  $G' = G''$ . Essa característica do G' tornar-se maior que G'' em alta frequência é um comportamento típico de dispersões concentradas, onde o entrelaçamento físico entre as cadeias aumenta e, conseqüentemente, os valores do módulo elástico (STEFFE, 1996). Em baixas frequências, há tempo suficiente para o desemaranhamento da cadeia principal e para o rearranjo dentro da escala de tempo do período de oscilação. Assim, a resposta predominante do polímero à deformação é de fluxo viscoso (maior G''), contudo, com o aumento da frequência, o tempo necessário para rearranjos da cadeia excede a escala de tempo da velocidade de deformação e a deformação elástica

da rede emaranhada torna-se progressivamente mais significativa e, por conseguinte, os dois módulos se interceptam. A partir de uma frequência superior a 0,3 Hz o módulo elástico é superior ao viscoso devido à interação entre as partículas, e da formação de uma rede estrutural complexa, que não são afetadas em baixas amplitudes de oscilação (AHMED *et al.*, 2007).

Uma maneira de complementar a caracterização das propriedades reológicas é através do modelo de Cox-Merz (Figura 23), onde é representada a curva de viscosidade dinâmica complexa ( $\eta^*$ ) *versus* frequência ( $\text{rad.s}^{-1}$ ) junto à curva de viscosidade aparente ( $\eta_{ap}$ ) *versus* a taxa de cisalhamento ( $\text{s}^{-1}$ ). Afirma-se que houve a formação de um gel quando a viscosidade dinâmica complexa for a de maior valor nas curvas de viscosidade. O modelo de Cox-Merz explica a relação entre a viscosidade aparente, em taxa de cisalhamento rotacional e a viscosidade complexa, em uma varredura de frequência de oscilação. Assim, a correlação de Cox-Merz permite o uso de dados a partir da região linear no estudo do comportamento viscoelástico não linear (THOMBRE e GIDE, 2013).

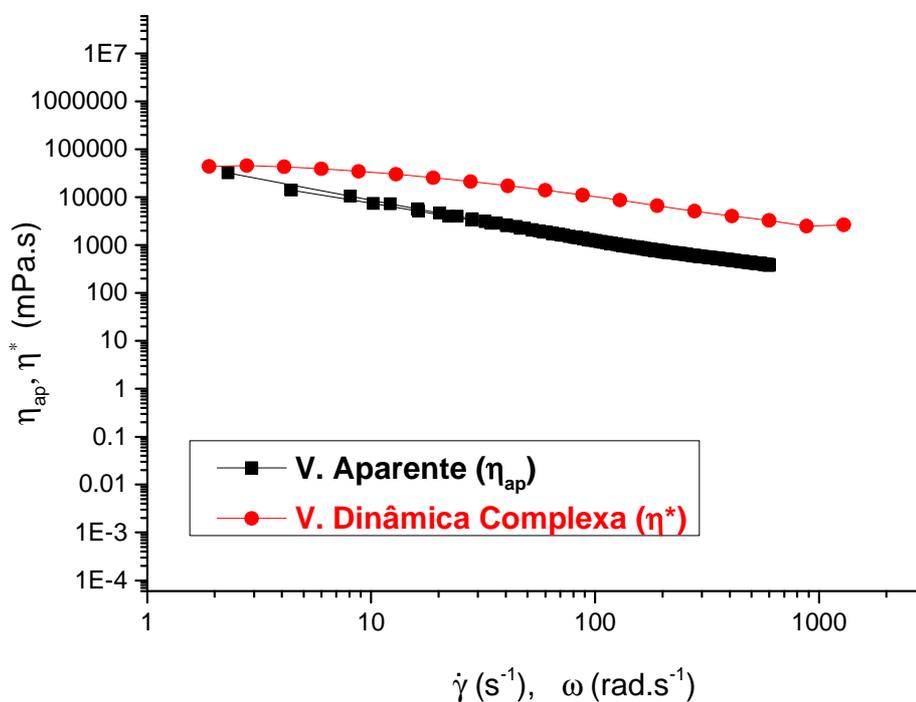


FIGURA 23. GRÁFICO DE COX-MERZ PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata*, a 60 g.L<sup>-1</sup>, COM ÍONS Ca<sup>2+</sup>, pH 7,1 E H<sup>+</sup>, 25 °C

Num sistema com comportamento de líquido, ou seja, onde não ocorre entrelaçamentos entre as cadeias, as duas curvas de viscosidade absoluta e da dinâmica complexa se sobrepõem (SITTIKIYOTHIN, TORRES E GONÇALVES, 2005). Nos perfis apresentados na Figura 23, pode-se ver que o sistema não tem caráter de um líquido, mas também não formou um gel, tendo apenas características de uma dispersão viscoelástica, uma vez que a viscosidade absoluta é maior que a viscosidade dinâmica (HAN *et al.*, 2002; ROBERTS e CAMERON, 2002).

O comportamento obtido pode estar relacionado à quantidade de ácido galacturônico, quantificado por espectrofotocolorimetria e por espectros de RMN, o qual influencia diretamente na formação ou não de um gel, visto que a força do gel pode ser atribuída aos valores inclusive do grau de esterificação, quanto maior o teor, mais forte é o gel (HAMINIUK *et al.*, 2009; DO NASCIMENTO *et al.*, 2014) e não é esse o caso desse conteúdo nessa mucilagem.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

A extração aquosa a 25 °C mostrou bom rendimento e características químicas interessantes para a mucilagem das folhas de *P. aculeata*, principalmente, pelo conteúdo em carboidratos, presença de ácidos urônicos esterificados ou não, de proteína e vários importantes minerais como nutrientes.

A análise da composição em monossacarídeos e da estrutura confirmou a presença de uma Arabinogalactana do tipo I, constituída por uma cadeia principal de unidades de (1→4)- $\beta$ -galactopiranosose, substituída em C-3 por unidades de arabinose, com baixo grau de esterificação (35,5 %) no ácido galacturônico, que apresenta diferentes tipos de ligação. Destaque-se a identificação da fucose, provavelmente, nas ramificações, que ainda não havia sido encontrada em arabinogalactanas de folhas de *Pereskia aculeata*.

O perfil por SEC-multidetectors mostrou heterogeneidade e dispersão nas massas molares, com o pico 1 constituído por um polissacarídeo de alta massa molar, com conformação de cadeias flexíveis em concentração diluída, em solução de NaNO<sub>3</sub>.

A mucilagem mostrou comportamento tensoativo acima de 1 g/L, e formação de auto-associação acima de 8 g/L, cuja propriedade pode ser atribuída a presença de grupos O-acetil, O-Me, e de proteínas na sua constituição. Pode, portanto, ser usada como um agente emulsificante e estabilizante em solução aquosa, cujo potencial zeta a 25 °C é influenciado pela presença de ácidos urônico e proteína, especialmente, devido à presença de grupamentos hidroxila e carboxila.

O comportamento reológico, a 25 °C, da mucilagem em dispersão a 60 g/L mostrou caráter pseudoplástico com características de polieletrólito em presença de sal e com a forma mais estendida em pH 10.

A dispersão da mucilagem a 60 g/L em água, com pré-aquecimento a 70 °C, mostrou aumento da viscosidade e melhoria da pseudoplasticidade, pela melhor solubilização e interação das moléculas, além da interferência das proteínas desnaturadas após o aquecimento que tendem a migrar para interface, interferindo na viscosidade do meio.

A dispersão a 60 g.L<sup>-1</sup> da mucilagem em água e pH 7,1, em presença de cátion divalente (Ca<sup>2+</sup>) suficiente para neutralizar a carga negativa da arabinogalactana, pode estabelecer ligação cruzada por *Egg-Box* com aumento da viscosidade.

A combinação das melhores condições, como pré-aquecimento, presença de Ca<sup>2+</sup>, pH 7,1 tamponado, e de hidreto mostrou características de uma dispersão viscoelástica a 60 g.L<sup>-1</sup>, provavelmente decorrente do baixo grau de esterificação da mucilagem.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, J.; RAMASWAMY, H.S.; SASHIDHAR, K.C. Rheological characteristics of tamarind (*Tamarindus indica* L.) juice concentrates. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 2, p. 225–231, 2007.

ALMEIDA FILHO, J.; CAMBRAIA, J. Estudo do valor nutritivo do “Ora-pro-nobis” (*Pereskia acueata* Mill). **Ceres**, v. 21, n. 114, p. 105-111, 1974.

ARCHANA, G.; SABINA, K.; BABUSKIN, S.; RADHAKRISHNAN, K.; FAYIDH, M. A.; BABU, P. A. S.; SIRVARAJAN, M.; SUKUMAR, M. Preparation and characterization of mucilage polysaccharide for biomedical applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 1, p. 89–94, 2013.

ASPINAL, G. O. In: **Biogenesis of Plant Cell Wall Polysaccharides**. New York: Academic Press, 1973. p. 95-115.

ASPINAL, G. O. **The Polysaccharides**. New York: Academic Press, 1982. v. 1, p. 503.

AVIGAD, G.; DEY, P. M. **Carbohydrate metabolism: storage carbohydrates**. In: DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. *Plant Biochemistry*. Bristol: Academic Press, 1997. p. 143.

BARNES, A.; HUTTON, J.F.; WALTERS, K. **An Introduction to Rheology**. Netherlands: Elsevier, 1989, 199p.

BERK, Z. **Braverman’s introduction to the biochemistry of foods**. 1. ed. Amsterdam: Elsevier, 1976. 315p.

BITTER, T., MUIR, H.M., A modified Uronic Acid carbazole reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 4, p. 330-334, 1962.

BORTOLIN, A.; AOUADA, F.A.; MOURA de, M.R.; RIBEIRO, C.; LONGO, E.; MATTOSO, L.H.C. Application of polysaccharide hydrogels in adsorption and controlled-extended release of fertilizers processes. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 123, p. 2291, 2012.

BRACCINI, I.; PÉREZ, S. Molecular Basis of Ca<sup>2+</sup>- Induced Gelation in Alginates and Pectins: The Egg-Box Model Revisited. **Biomacromolecules**, v. 2, p. 1089-1096, 2001.

BRETAS, R. E. S.; D'AVILA, M. A. **Reologia de polímeros fundidos**. Editora de UFSCar, São Carlos, 2000.

BUTTERWORTH, C. A.; WALLACE, R. S. Molecular phylogenetics of the leafy cactus genus *Pereskia* (Cactaceae). **Systematic Botany**, v. 30, n. 4, p. 800-808, 2005.

CAPEK, P.; MATULOVÁ, M.; NAVARINI, L.; SUGGI-LIVERANI, F. Structural features of an arabinogalactan-protein isolated from instant coffee powder of *Coffea arabica* beans. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 180-185, 2010.

CÁRDENAS, A.; GOYCOOLEA, F. M.; RINAUDO M. On the gelling behaviour of 'nopal' (*Opuntia ficus indica*) low methoxyl pectin. **Carbohydrate Polymers**, v. 73, n 2, p. 212-222, 2008.

CARPITA, N.; McCANN, M. The cell wall. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**, USA: Courier. p. 52-108, 2000.

CEPAGRI – Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas a Agricultura. Disponível em: < <http://www.cepagri.unicamp.br/> > Acesso em 10 de julho de 2015.

CHHABRA, R. P.; RICHARDSON, J. F. **Non-Newtonian flow in the process industries: fundamentals and engineering applications**, Butterworth-Heinemann, Oxford, 1999.

CIPRIANI, T. R.; MELLINGER, C. G.; BERTOLINI, M. L.C.; BAGGIO, C. H.; FREITAS, C. S.; MARQUES, M. C. A.; GORIN, P. A. J.; SASSAKI, G. L.; IACOMINI, M. Gastroprotective effect of a type I arabinogalactan from soybean meal. **Food Chemistry**, v. 115, p. 687-690, 2009.

CIUCANU, I.; KEREK, F. Rapid and simultaneous methylation of fatty and hydroxy fatty acids for gas—liquid chromatographic analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 284, p. 179-185, 1984.

CONCEIÇÃO, M. C.; JUNQUEIRA, L. A.; SILVA, K. C. G.; PRADO, M. E. T.; RESENDE, J. V. de. Thermal and microstructural stability of a powdered gum derived from *Pereskia aculeata* Miller leaves. **Food Hydrocolloids**, v. 40, p. 104-114, 2014.

CORRÊA, M. P. Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Plantas Exóticas Cultivadas, 5, Rio de Janeiro, G.B., Ministério da Agricultura. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, n. 5, p. 31, 1974.

DAI, Y.N.; LI, P.; ZHANG, J.P.; WANG, A.O.; WEI, Q. Swelling characteristics and drug delivery properties of nifedipine-loaded pH sensitive alginate–chitosan hydrogel beads. **Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials**, v. 86B, p. 493-500, 2008.

DAMASCENO, A. D. A.; BARBOSA, A. A. A. Levantamento etnobotânico de plantas do bioma cerrado na comunidade de Martinésia, Uberlândia, MG. **Horizonte Científico**, Uberlândia, MG, v. 2, n. 1, p. 30, 2008.

DE FREITAS, R. A.; DRENSKI, M. F.; ALB, A. M.; REED, W. F. Characterization of stability, aggregation, and equilibrium properties of modified natural products; The case of carboxymethylated chitosans. **Materials Science and Engineering: C**, v. 30, p. 34-41, 2010.

DELGOBO, C. L.; GORIN, P. A. J.; TISCHER, C. A.; IACOMINI, M. The free reducing oligosaccharides of angico branco (*Anadenanthera colubrina*) gum exudate: an aid for structural assignments in the heteropolysaccharides. **Carbohydrate Research**, v. 99, p. 41-50, 1999.

DIALLO, D.; PAULSEN, B. S.; LILJEBÄCK, T. H. A.; MICHAELSEN, T. E. The malian medicinal plant *Trichilia emetica*; studies on polysaccharides with complement fixing ability. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 84, n. 2-3, p. 279-287, 2003.

DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, v. 17, p 25-39, 2003.

DO NASCIMENTO, G. E.; CORSO, C. R.; WERNER, M. F. DE P.; BAGGIO, C. H.; IACOMINI, M.; CORDEIRO, L. M.C. Structure of an arabinogalactan from the edible tropical fruit tamarillo (*Solanum betaceum*) and its antinociceptive activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 116, p. 300-306, 2015.

DONG, Q.; FANG, J. Structural elucidation of a new arabinogalactan from the leaves of *Nerium indicum*. **Carbohydrate Research**, v. 332, p. 109-114, 2001.

DUAN, J.; WANG, X.; DONG, Q.; FANG, J.; LI, X. Structural features of a pectic arabinogalactan with immunological activity from the leaves of *Diospyros kaki*. **Carbohydrate Research**, v. 338, p. 1291-1297, 2003.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

DURAND, D.; BERTRAND, C.; CLARK, A.H.; LIPS, A. Calcium-induced gelation of low methoxy pectin solutions – Thermodynamic and rheological considerations. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 12, p. 14-18, 1990.

DUSHKIN, A. V.; METELEVA, E. S.; TOLSTIKOVA, T. G.; PAVLOVA, A. V.; KHVOSTOV, M. V. Gel chromatographic and toxicological studies of the mechanochemical transformations of water-soluble polysaccharides. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 46, n. 10, p. 630-633, 2013.

EDWARDS, E. J.; DIAZ, M. Ecological physiology of *Pereskia guamacho*, a cactus with leaves. **Plant, Cell and Environment**, v. 29, p. 247-256, 2006.

FILISSETTI-COZZI, T. M.; CARPITA, N. C. Measurement of uranic acids without interference from neutral sugars. **Analytical Biochemistry**, v. 197, p. 157-162, 1991.

FINCHER, C. B.; STONE, B. A.; CLARKE, A. E. Arabinogalactan-proteins: structure, biosynthesis and function. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 34, p. 47-70, 1983.

FONSECA, H.; ARZOLLA, J.D.P.; SARRUGE, J.R. Aminoácidos livres de três variedades de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) do Paraná, **19º Simpósio Brasileiro de Cromatografia**, p. 45-50, 1964.

GIUSTI, F.; POPOT, J.-L.; TRIBET, C. Well-defined critical association concentration and rapid adsorption at the air/water interface of a short amphiphilic polymer, amphipol A8-35: a study by Förster resonance energy transfer and dynamic surface tension measurements. **Langmuir**, v. 28, p. 10372-10380, 2012.

GOODWIN, J. W. **Colloids and Interfaces with Surfactants and Polymers – An Introduction**. John Wiley & Sons, Ltd. Interfacial Dynamics Corporation Portland, Oregon, USA, 2004.

GORIN, P. A.J.; TEIXEIRA, A. Z. A.; TRAVASSOS, L. R.; LABOURIAU, M. L. S.; IACOMINI, M. Characterization of carbohydrate components of an unusual hydrogel formed by seed coats of *Magonia pubescens* (Tingui). **Carbohydrate Research**, v. 282, n. 2, p. 325-333, 1996.

GORIN, P. A. J.; GIBLIN, E. M.; SLATER, G. P.; HOGGE, L. Improved resolution of O-methylalditol acetates by gas-liquid chromatography on capillary columns with blended coatings of OV-17 and OV-225. **Carbohydrate Research**, v. 106, n. 2, p. 235-238, 1982.

GRASDALEN, H.; BAKØI, O. E.; LARSEN, B. Determination of the degree of esterification and the distribution of methylated and free carboxyl groups in pectins by <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, v. 184, p. 183-191, 1988.

HABIBI, Y.; MAHROUZ, M.; MARAIS, M.-F.; VIGNON, M. R. An arabinogalactan from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. **Carbohydrate Research**, v. 339, p. 1201-1205, 2004.

HAMINIUK, C. W. I.; SIERAKOWSKI, M.R.; IZIDORO, D. R.; MACIEL, G. M.; SCHEER, A. DE P.; MASSON, M. L. Comportamento reológico de sistemas pécticos de polpas de frutas vermelhas. **Food Science and Technology**, v. 29, n.1, 2009.

HAN, X.-Z.; CAMPANELLA, O.H.; GUAN, H.; KEELING, P.L.; HAMAKER, B.R. Influence of maize starch granule-associated protein on rheological properties of starch pastes. Part II. Dynamic measurements of viscoelastic properties of starch pastes. **Carbohydrate Polymers**, Shannon, v. 49, p. 323-330, 2002.

HARTREE, E.F. Determination of protein a modification as the Lowry method that gives a linear photometric response. 1972. **Analytical Biochemistry**, v. 48, p. 422-427.

HAWORTH, W. N. A new method of preparing alkylated sugars. **Journal Chemical Society**, v. 107, p. 8-16, 1915.

HROMÁDKOVÁ, Z.; KOŠTÁLOVÁ, Z.; VRCHOTOVÁ, N.; EBRINGEROVÁ, A. Non-cellulosic polysaccharides from the leaves of small balsam (*Impatiens parviflora* DC.). **Carbohydrate Research**, v. 389, p. 147–153, 2014.

HUA, X.; WANG, K.; YANG, R.; KANG, J.; ZHANG, J. Rheological properties of natural low-methoxyl pectin extracted from sunflower head. **Food Hydrocolloids**, v. 44, p. 122–128, 2015.

IGLESIAS, M.T.; LOZANO, J.E. Extraction and characterization of sunflower pectin. **Journal of Food Engineering**, v. 62, p. 215-223, 2004.

ISHIDA, H.; SUZUNO, H.; SUGIYAMA, N.; INNAMI, S.; TADOKORO, T.; MAEKAWA, A. Nutritive evaluation on chemical components of leaves, stalks and stems of sweet potatoes (*Ipomoea batatas* *poir*). **Food Chemistry**, v. 68, p. 359-367, 2000.

JANI, G. K.; SHAH, D. P.; PRAJAPATI, V. D.; JAIN, V. C. Gums and mucilages: versatile excipients for pharmaceutical formulations. **Gums and mucilages/Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 5, p. 308-322, 2009.

KAČURÁKOVÁ, M.; CAPEK, P.; SASINKOVÁ, V.; WELLNER, N.; EBRINGEROVÁ, A. FT-IR study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses. **Carbohydrate Polymers**, v. 43, n. 2, p. 195-203, 2000.

KAMINSKI, G.A.; SIERAKOWSKI, M.R.; PONTAROLO, R.; DE FREITAS, R. A. Comparison between the interactions of the cationic surfactant DODAB with xanthan and galactomannan. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 478-484, 2015.

KANG, J.; CUI, S. W.; PHILLIPS, G. O.; CHEN, J.; GUO, Q.; WANG, Q. New studies on gum ghatti (*Anogeissus latifolia*) part II. Structure characterization of an arabinogalactan from the gum by 1D, 2D NMR spectroscopy and methylation analysis. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1991-1998, 2011.

KARDOŠOVÁ, A.; EBRINGEROVÁ, A.; ALFÖLDI, J.; NOSÁL'OVÁ, G.; MATÁKOVÁ, T.; HRÍBALOVÁ, V. Structural features and biological activity of an acidic polysaccharide complex from *Mahonia aquifolium* (Pursh) Nutt. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, n. 2, p. 165-176, 2004.

KUHN, R.; TRISCHMANN, H.; LÖW, I. Zur permethylierung von Zuckern und glycosiden. **Angewandte Chemie**, v. 67, n. 1, p. 32, 1955.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger princípios de bioquímica**. 4.ed. São Paulo: Sarvier, p. 1202, 2006.

LI, J. M.; NIE, S. P. The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods, **Food Hydrocolloid**, n. 53, p. 46-61, 2016.

LIANG, F.; HU, C.; HE, Z.; PAN, Y. An arabinogalactan from flowers of *Chrysanthemum morifolium*: structural and bioactivity studies. **Carbohydrate Research**, v. 387, p. 37-41, 2014.

LIMA JR , F.A.; CAVALCANTE, C. M.; RESENDE DE, J.V.; JUNQUEIRA, L.A.; PEREIRA, C.G.; PRADO, M.E.T. Response surface methodology for optimization of the mucilage extraction process from *Pereskia aculeata* Miller. **Food Hydrocolloids**, v. 33, p. 38-47, 2013.

LIMA, R. B.; DOS SANTOS, T. B.; VIEIRA, L. G. E.; FERRARESE, M. DE L. L.; O. FERRARESE-FILHO, DONATTI, L.; BOEGER, M. R. T.; PETKOWICZ, C. L. DE O. Heat stress causes alterations in the cell-wall polymers and anatomy of coffee leaves (*Coffea arabica* L.). **Carbohydrate Polymers**, v. 93, p. 135-143, 2013.

LISTINSKY, J. J.; SIEGAL, G. P.; LISTINSKY, C. M. The emerging importance of  $\alpha$ -L-fucose in human breast cancer: a review. **American Journal of Translational Research**, v. 3, p. 292-322, 2011.

LUCAS, E.F.; SOARES, B.G.; MONTEIRO, E.E.C. **Caracterização de polímeros – Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica**. Rio de Janeiro – Ed, e-papers, 366p, 2001.

LUCYSZYN, N.; LUBAMBO, A. F.; SENS, C. V.; SOUZA, C. F.; SIERAKOWSKI, M. R. Physico-chemical properties of arabinogalactan from *Pereskia aculeata* Miller leaves and of its mixtures with lysozyme. In: 7th International Symposium on Natural Polymers and Composites and XII International Macromolecular, 2010, Gramado. Anais do 7th International Symposium on Natural Polymers and Composites and XII International Macromolecular, 2010. p. 545-549.

MA, T.; MA, H.; ZHAO, H.; QI H.; ZHAO, J. Identification, characterization, and transcription analysis of xylogen-like arabinogalactan proteins in rice (*Oryza sativa* L.). **BMC Plant Biology**, v.14, p. 299, 2014.

MALVIYA, R.; SRIVASTAVA, P.; KULKARNI, G.T. Applications of Mucilages in Drug Delivery - A Review. **Advances in Biological Research**, v. 5, n. 1, p. 01-07, 2011.

MAPA. Manual de hortaliças não-convencionais. Conteúdo completo disponível em: [http://www.abcsem.com.br/docs/manual\\_hortalicas\\_web.pdf](http://www.abcsem.com.br/docs/manual_hortalicas_web.pdf). Brasília, 2010.

McNEIL, M.; DARVILL, A.G.; ALBERSHEIM, P. Structure of plant cell wall, X. Rhamnogalacturonan I, a structurally complex pectic polysaccharide in the walls of suspension-cultured sycamore cells. **Plant Physiology**, v. 66, p. 1120-1134, 1980.

MERCÊ, A. L.R.; FERNANDES, E.; MANGRICH, A.S.; SIERAKOWSKI, M.R. Evaluation of the complexes of galactomannan of *Leucaena leucocephala* and  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$ . **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 11, n. 3, p. 224-231, 2000.

MIRHOSSEINI, H.; TAN, C. P.; HAMID, N. S. A.; YUSOF, S. Effect of Arabic gum, xanthan gum and orange oil contents on  $\zeta$ -potential, conductivity, stability, size index and pH of orange beverage emulsion. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, v. 315, p. 47-56, 2008.

MOREIRA, J. C.; DA SILVA, I. F.; WANG, S. H.; BALOGH, D. T. Determinação das Constantes K e  $\alpha$  da Equação de Mark-Houwink de Poli(p-acetóxiestireno). **Polímeros**, v. 14, p. 80-82, 2004.

MOTHÉ, C. G.; RAO, M. A. Thermal behavior of gum arabic in comparison with cashew gum. **Thermochimica Acta**, v. 357-358, p. 9-13, 2000.

MOURA, M. R. de; GUILHERME, M. R.; CAMPESE, G. M.; RADOVANOVIC, E.; RUBIRA, A. F.; MUNIZ, E. C. Porous alginate- $\text{Ca}^{2+}$  hydrogels interpenetrated with PNIPAAm networks: Interrelationship between compressive stress and pore morphology. **European Polymer Journal**, v. 41, p. 2845-2852, 2005.

MYERS, D. In: "Surfaces, Interfaces, and Colloids: Principles and Applications", 2nd ed., D. Myers, John Wiley & Sons Inc., p. 150, 1999.

OH, J. K.; DRURUMRINGHT, R.; SIEGWART, D. J.; MATYJASZEWSKI K. The development of microgels/nanogels for drug delivery applications. *Progress in Polymer Science*, v. 33, p. 448-477, 2008.

PRAJAPATI, V. D.; JANI, G. K.; MORADIYA, N. G.; RANDERIA, N. P. Pharmaceutical applications of various natural gums, mucilages and their modified forms. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, p. 1685-1699, 2013.

PETERA, B.; DELATTRE, C.; PIERRE, G.; WADOUACHI, A.; ELBOUTACHFAITI, R.; ENGEL, E.; POUGHON, L.; MICHAUD, P.; FENORADOSOA, T. A. Characterization of arabinogalactan-rich mucilage from *Cereus triangularis* cladodes. **Carbohydrate Polymers**, v. 127, n. 20, p. 372-380, 2015.

PÉTERSZEKI, G.; ISNARD, N.; ROBERT, A. M.; ROBERT, L. Studies on skin aging. Preparation and properties of fucose-rich oligo- and polysaccharides. Effect on fibroblast proliferation and survival. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 57, p. 187–194, 2003.

PATHAK, P. O.; NAGARSENKER, M. S.; BARHATE, C. R.; PADHYE, S. G.; DHAWAN, V. V.; BHATTACHARYYA, D.; VISWANATHAN, C.L.; STEINIGER, F.; FAHR A. Cholesterol anchored arabinogalactan for asialoglycoprotein receptor targeting: synthesis, characterization, and proof of concept of hepatospecific delivery. *Carbohydrate Research*, v. 408, p. 33-43, 2015.

PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. **Handbook of hydrocolloids**, 2ed. Woodhead Publishing Limited, 2009.

REID, J.S.G.; EDWARDS, M.E. Galactomannans and other cell wall storage polysaccharides in seeds. Stephen A. L. (Ed.) **Food polysaccharides and their applications**. New York: Marcel Dekker. Inc., p. 155-186, 1985.

ROBBINS, S. R. J. **Gum arabic**. A review of recent trends in selected markets for water-soluble gums. Overseas Development Natural Resources Institute Bulletin, v. 108, p. 18-33, 1988.

ROBERTS, S.A.; CAMERON, R.E. The effects of concentration and sodium hydroxide on the rheological properties of potato starch gelatinisation. **Carbohydrate Polymer**, v. 50, p. 133-143, 2002.

ROYO, V. A.; MORAES, F. R. C.; CESTARI, A.; LIMA, T. C.; SILVA, M. L. A.; MARTINS, C. H. G.; FURTADO, N. A. J. C. **Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato bruto de ramos de *Pereskia aculeata* Mill.** XIX Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química – SBQ / MG Ouro Preto - 27 a 29 de Novembro de 2005.

SAEED, F.; PASHA, I.; ANJUM, F. M.; SULTAN, M. T. Arabinoxylans and arabinogalactans: a comprehensive treatise. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, p. 467-476, 2011.

SÁENZ, C.; SEPÚLVEDA, E.; MATSUHIRO, B. *Opuntia spp* mucilage's: a functional componente with industrial perspectives. **Journal of Arid Environments**, v. 57, p. 275–290, 2004.

SAHA, D.; BHATTACHARYA, S. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 6, p. 587-597, 2010.

SALAZAR, J.; VELÁSQUEZ, R.; QUESADA, S.; PICCINELLI, A.L.; RASTRELLI, L. Chemical composition and antinutritional factors of *Lycianthes synanthera* leaves (chomte). **Food Chemistry**, v. 97, p. 343-348, 2006.

SARTOR, C. F. P.; AMARAL, V.; GUIMARÃES, H. E. T.; BARROS, K. N.; FELIPE, D. F.; CORTEZ, L. E. R.; VELTRINI, V. C. Estudo da ação cicatrizante das folhas de *Pereskia aculeata*. **Revista Saúde e Pesquisa**, Maringá, PR, v. 3, n. 2, p. 149-154, 2010.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. DE L.; POHLMANN, A. R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SCHARAMM, G. **A practical approach to rheology and rheometry**. 2nd edition, Karlsruhe, Germany, 2000.

SCHEINVAR, L. **Flora Ilustrada Catarinense: Cactaceas**, Itajaí, SC. v. 1, 1995.  
SHARMA, S. K., MULVANEY, S. J., RIZVI, S. S. H. **Food processing engineering: theory and laboratory experiments**. United States of America: Wiley-Interscience. 2000. 348p.

SHAO, P.; QIN, M.; HAN, L.; SUN, P. Rheology and characteristics of sulfated polysaccharides from chlorophytan seaweeds *Ulva fasciata*. **Carbohydrate Polymers**, v. 113, p. 365-372, 2014.

SHAW, D.J. **Introdução à química de colóides e de superfícies**. Tradução de J.H. Maar. São Paulo: Edgard Blucher/Edusp, 1975.

SHOWALTER, A. M. Arabinogalactan-proteins: structure, expression and function. **CMLS Cellular and Molecular Life Sciences**. v. 58, p. 1399-1417, 2001.

SIBAJA-HERNÁNDEZ, R.; ROMÁN-GUERRERO, A.; SEPÚLVEDA-JIMÉNEZ, G.; RODRÍGUEZ-MONROY, M. Physicochemical, shear flow behaviour and emulsifying properties of *Acacia cochliacantha* and *Acacia farnesiana* gums. *Industrial Crops and Products*, v. 67, p. 161-168, 2015.

SIERAKOWSKI, M. R. **Alguns aspectos químicos, físico-químicos e estruturais da mucilagem extraída de folhas de *Pereskia aculeata*, Mill.** Curitiba, 1982. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

SIERAKOWSKI, M. R.; GORIN, P.A.J.; REICHER, F.; CORRÊA, J.B.C. Some structural features of a heteropolysaccharide from the leaves of the cactus *Pereskia aculeata*. **Phytochemistry**, v. 26, p. 1709-1713, 1987.

SIERAKOWSKI, M. R. **Aspectos estruturais da mucilagem de *Pereskia aculeata*, Mill (ora-pro-nobis)**. Curitiba, 1988. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

SIERAKOWSKI, M.R.; GORIN, P.A.J.; REICHER, F.; CORRÊA, J.B.C. Location of O-acetyl groups in the heteropolysaccharide of the cactus *Pereskia aculeata*. **Carbohydrate Research**, v. 201, n. 2, p. 277-284, 1990.

SITTIKIYOTHIN, W.; TORRES, D.; GONÇALVES, M.P.; Modelling the rheological behaviour of galactomannan aqueous solutions. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, n. 3, p. 339-350, 2005.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C.B. **Química orgânica**. Rio de Janeiro: LTC, P. 542, 2006.

STEFFE, J. F. **Rheological Methods in Food Process Engineering**, Press, East Lansing, Michigan State, USA. 418p. 1996.

STEPHEN, A.M. **Other plant polysaccharides**. In: The polysaccharides, v. 2, ASPINALL, G.O. (Ed.). Academic Press, New York, 1 983, p. 97-1 95.

STRIEGEL, A.M. **Multiple Detection in Size-Exclusion Chromatography**. New Orleans, La: ACS Divisions of Analytical Chemistry, 2003.

SUN, S. F. **Physical chemistry of macromolecules: basic principles and issues**. 2nd ed. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 1922.

TAKEITI, C. Y.; ANTONIO, G.C.; MOTTA, E.M.P.; COLLARES-QUEIROZ, F.P.; PARK, K.J. Nutritive evaluation of non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, n. 1, p. 148-160, 2009.

TERAOKA, I. **Polymer Solutions: An Introduction to Physical Properties**. John Wiley & Sons, Inc. ISBNs: 0-471-38929-3 (Hardback); 0-471-22451-0 (Electronic). 2002.

THOMBRE, N. A.; GIDE, P. S. Rheological characterization of galactomannans extracted from seeds of *Caesalpinia pulcherrima*. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n. 1, p. 547-554, 2013.

TONELI, J. T. DE C. L.; MURR, F. E. X.; PARK, K. J. Estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.7, n.2, p.181-204, 2005.

United States Environmental Protection Agency, Benzene. Disponível em: <<http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/benzene.html>> Acesso em 28 de abril de 2014.

VAJRARELU, K.; SREENADH, S.; DEVAKI, P.; PRASAD, K.V. Peristaltic Transport of a Herschel–Bulkley Fluid in an Elastic Tube. **Heat Transfer—Asian Research**, v. 3, p. 104, 2014.

WANG, H.; SHI, S.; BAO, B.; LI, X.; WANG, S. Structure characterization of an arabinogalactan from green tea and its anti-diabetic effect. **Carbohydrate Polymers**, v. 124, p. 98-108, 2015.

WANG, Q.; CUI, S. W. Understanding the Physical Properties of Food Polysaccharides. In: CUI, S. W. **Food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications**, New York, Taylor and Francis, 2005.

WHISTLER, R. L.; BeMILLER, J. N. **Carbohydrate Chemistry for Food Scientists**, St. Paul, Minnesota, USA, Eagan press, p. 117-151, 1997.

WOLFROM, M.L.; THOMPSON, A. Reduction with sodium borohydride. In: WHISTLER, R. L. (Ed.). **Methods in Carbohydrate Chemistry, v. 2**. New York: Academic Press, p. 65-68, 1963a.

WOLFROM, M.L.; THOMPSON, A. Acetylation. In: WHISTLER, R. L. (Ed.). **Methods in Carbohydrate Chemistry, v. 2**. New York: Academic Press, p. 211-215, 1963b.

XU, Y.; DONG, Q.; QIU, H.; CONG, R.; DING, K. Structural characterization of an arabinogalactan from *Platycodon grandiflorum* roots and antiangiogenic activity of its sulfated derivative. **Biomacromolecules**, v. 11, p. 2558–2566, 2010.

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

YINGT, Q.; CHU, B. Overlap Concentration of Macromolecules in Solution. **Macromolecules**, v. 20, p. 362-366, 1987.

YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L.; MACEDO, S. H. M.; GIOIA, T.; YUYAMA, K.; FÁVARO, D. I. T.; AFONSO, C.; VASCONCELLOS, M. B. A.; COZZOLINO, S. M. F. Determinação dos teores de elementos minerais em alimentos convencionais e não convencionais da região Amazônica pela técnica de análise por ativação com nêutrons instrumental. **Acta Amazônica**, v. 27, n. 3, p. 183-196, 1997.

Zhang, Y.; Schmidt, J.; Talmon, Y.; Zakin, J. L. Co-solvent effects on drag reduction, rheological properties and micelle microstructures of cationic surfactants. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 286, n. 2, p. 696–709, 2005.

## ANEXOS

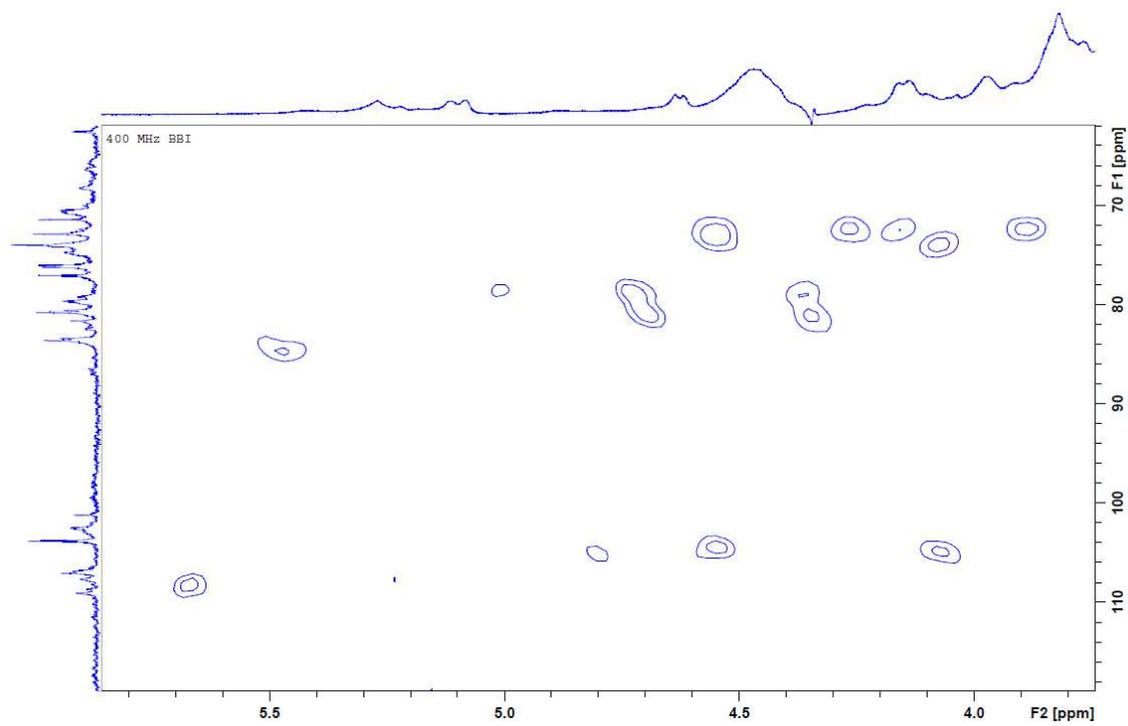


Figura A1. ESPECTRO DE HMQC-RMN PARA A MUCILAGEM DAS FOLHAS DE *P. aculeata* EM D<sub>2</sub>O, A 70 °C. DESLOCAMENTOS QUÍMICOS EXPRESSOS EM (δ) ppm.