

RESUMO

Neste trabalho foram desenvolvidos procedimentos experimentais que permitiram o isolamento e caracterização dos polímeros constituintes das paredes celulares da polpa da azeitona. O mesmo tipo de procedimento foi aplicado ao estudo de azeitonas processadas, em verde e em preto. Em adição, foram desenvolvidos procedimentos experimentais que permitiram o isolamento e caracterização dos polímeros dos tecidos lenhificados do caroço da azeitona.

Em estudos preliminares o resíduo insolúvel em álcool (AIR) foi utilizado como fonte de material da parede celular, tendo-se verificado que este resíduo não era apropriado para os estudos detalhados de fraccionamento devido à presença de grandes quantidades de proteínas e compostos fenólicos condensados. Assim, o material da parede celular (CWM) foi preparado por trituração da polpa da azeitona em soluções aquosas diluídas de dodecilsulfato de sódio (SDS), moagem em moínho de bolas do material húmido em SDS 0,5% e tratamento com uma solução de fenol : ácido acético : água (PAW) (2:1:1, m/v/v). Este procedimento proporcionou material livre de contaminantes intra-celulares como óleo, compostos fenólicos e proteínas.

A partir do extracto de 0,5% SDS foi isolado um complexo xilana-polissacarídeo péctico possivelmente associado por ligações éster, assim como também foram isoladas proteoglicanas ricas em arabinose, galactose e hidroxiprolina.

Vários polímeros foram solubilizados do CWM por extracção sequencial com soluções aquosas de CDTA, Na₂CO₃, 1M KOH, 4M KOH e 4M KOH + borato, até à obtenção de um resíduo rico em celulose (RC1). Por neutralização e diálise de RC1 foi solubilizada uma fracção rica em material péctico; o resíduo foi denominado RC2. Um curto tratamento de RC2 com clorito / ácido acético solubilizou polissacarídeos pécticos e algumas glicoproteínas, originando o resíduo final (RF).

Os polímeros dos vários extractos foram fraccionados por precipitação em soluções de concentração crescente de etanol seguido de cromatografia de troca aniónica. Algumas fracções seleccionadas foram submetidas a análise detalhada utilizando técnicas de análise de açúcares, metilação e espectroscopia de RMN de ¹³C, entre outras.

Os polissacarídeos pécticos são os maiores componentes das paredes celulares da polpa da azeitona. Estes polímeros são muito ricos em arabinose e, apesar de diferirem significativamente no modo de extracção da matriz da parede celular, são estruturalmente semelhantes. A proporção relativa dos diferentes tipos de ligação dos resíduos de arabinose é conservada em todos os polímeros analisados. A espectroscopia de RMN mostrou que 30 a 40% dos resíduos de L-arabinofuranose em ligação terminal possuem configuração anomérica β .

Quantidades significativas de xilanas acídicas foram isoladas dos precipitados obtidos por neutralização dos extractos de 1M KOH. A xilana mais abundante possuía uma cadeia principal com cerca de 250 resíduos, dos quais 13% se encontravam substituídos em C-2 com 4-O-Me-GlcpA em ligação terminal; ácido glucurónico em ligação terminal não foi detectado.

As xiloglucanas tinham xilanas associadas, não tendo sido detectada a existência de xiloglucanas puras pelos métodos cromatográficos usados. Dois tipos distintos de complexos xilana-xiloglucana, com massa molecular aparente de 100 e 2 000 kD, foram isolados e parcialmente caracterizados. Os polímeros de menor massa molecular eram xiloglucanas muito ramificadas possuindo curtas cadeias de xilanas acídicas e os polímeros de massa molecular mais elevada eram xilanas acídicas possuindo curtas cadeias de resíduos característicos das xiloglucanas.

Quantidades significativas de glicoproteínas da parede celular ricas em hidroxiprolina foram detectadas nas fracções neutras dos extractos de 4M KOH e 4M KOH + borato.

A análise da polpa da azeitona fresca e processada (em verde e preto) permite inferir que o amolecimento é devido principalmente à degradação dos polissacarídeos pécticos. Uma degradação semelhante dos polissacarídeos pécticos foi também observada por tratamento do CWM com água quente (um método frequentemente utilizado no passado para extracção de pectinas). As glucuronoxilanas, no entanto, não sofrem qualquer alteração com o processamento.

Os tecidos lenhificados do caroço da azeitona revelaram uma parede celular extremamente lenhificada que, após trituração, foi deslenhificada por tratamento prolongado com clorito / ácido acético. A holocelulose continha principalmente glucuronoxilanas e pequenas quantidades de complexos xilanas-polissacarídeos pécticos associados a material fenólico; uma pequena quantidade de polissacarídeos pécticos virtualmente livres de xilanas foi também isolada.