

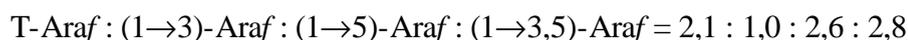
O resíduo insolúvel em álcool obtido a partir da polpa da azeitona tinha uma quantidade bastante grande de proteína e compostos fenólicos co-precipitados e, por tal motivo, não se tornou aplicável aos estudos de fraccionamento detalhado das paredes celulares. No entanto, o material das paredes celulares (CWM), livre de proteínas e compostos fenólicos intra-celulares contaminantes, foi preparado a partir da polpa da azeitona por trituração e moagem em moínho de bolas com soluções aquosas de SDS seguido de tratamento com solução de PAW. Este procedimento foi utilizado no presente estudo para a preparação de material em quantidade suficiente ao estudo estrutural detalhado das paredes celulares.

O CWM purificado continha 62% de material glicosídico, 8% de proteína e, dos 30% de restante material, parte correspondia a compostos de origem fenólica. Da análise de açúcares e metilação do CWM foi inferido que este material era rico em substâncias pécnicas contendo arabinose, celulose e também continha glucuronoxilanas e pequenas quantidades de xiloglucanas e (gluco)mananas; pequenas mas significativas quantidades de glicoproteínas ricas em hidroxiprolina também se encontravam presentes.

Durante a moagem em moínho de bolas com 0,5% SDS uma quantidade significativa de glicoproteínas ricas em arabinogalactanas e algumas xilanas, que aparentaram estar ligadas por ligações éster a polissacarídeos pécnicos, foram solubilizadas. Tanto quanto é conhecido, esta é a primeira vez que uma ligação entre uma xilana e um polissacarídeo pécnico é proposta.

Os polissacarídeos pécnicos, ricos em ácido galacturónico e arabinose, diferiram largamente na facilidade de extracção da matriz da parede celular. A maior parte foi extraída do CWM com CDTA e carbonato de sódio e pequenas quantidades surgiram também nos extractos de 1M e 4M KOH. Alguns polissacarídeos pécnicos foram solubilizados por neutralização do resíduo insolúvel obtido após a extracção com 4M KOH + borato (RC1) para dar o resíduo rico em celulose RC2. Este resíduo, após um curto tratamento com clorito / ácido acético libertou uma fracção adicional de polissacarídeos pécnicos e algumas glicoproteínas da parede celular ricas em hidroxiprolina.

Este estudo de fraccionamento detalhado mostrou que os polissacarídeos pécnicos da polpa da azeitona são compostos por um conjunto de polímeros estruturalmente semelhantes em que as proporções relativas das várias ligações dos resíduos de arabinose são comparáveis. As proporções relativas são:



A espectroscopia de RMN de ^{13}C mostrou que 70% dos resíduos de Araf em ligação terminal tinha uma configuração anomérica α e 30% tinha configuração anomérica β . Esta é a primeira vez que a ocorrência de resíduos de Araf em ligação terminal com configuração anomérica β é proposta para os polissacarídeos pécticos. Outra característica interessante dos polissacarídeos pécticos ricos em arabinose é a presença, na "arabinana", de resíduos de arabinose em ligação (1 \rightarrow 3).

Os polissacarídeos pécticos purificados da polpa da azeitona continham pequenas mas significativas quantidades de resíduos de xilose em ligação (1 \rightarrow 4), sendo possível que estes resíduos sejam parte integrante dos polissacarídeos pécticos da azeitona e não material hemicelulósico contaminante.

Nas paredes celulares da polpa da azeitona encontram-se também presentes xilanas acídicas, provavelmente provenientes das células lenhificadas existentes na polpa. Xilanas semelhantes têm sido isoladas das células lenhificadas da pêra (Jermyn e Isherwood, 1956), damasco mongol (Odonmazig *et al.* (1990) e goiaba (Marcelin *et al.*, 1993). Uma glucuronoxilana foi isolada e caracterizada por espectroscopia de RMN de ^{13}C , tendo sido encontrado 4-*O*-Me- α -D-GlcpA como único ácido urónico componente. A xilana apresentou um grau de polimerização de cerca de 250 resíduos de xilose, dos quais 13% eram ramificados com 4-*O*-Me- α -D-GlcpA.

As xiloglucanas não são abundantes na polpa da azeitona e as pequenas quantidades isoladas encontram-se associadas a xilanas. Este facto contrasta com as quantidades significativas de xiloglucanas que têm sido isoladas de outros tecidos moles de frutos e legumes.

Dos polímeros solúveis em 1M KOH pequenas quantidades de complexos xilana-xiloglucana e xiloglucana-xilana foram isolados. Estes complexos foram rigorosamente caracterizados por estudos de cromatografia de troca aniónica, cromatografia de filtração em gel e degradação com xilanase. Dois tipos distintos de complexos xilana-xiloglucana, de massa molecular aparente 100 e 2 000 kD, foram isolados e parcialmente caracterizados. Os polímeros de menor massa molecular continham xiloglucanas muito ramificadas possuindo curtas cadeias de xilanas acídicas e os polímeros de massa molecular mais alta eram xilanas acídicas possuindo curtas cadeias de resíduos característicos das xiloglucanas. Nestes complexos de elevada massa molecular não foram encontrados resíduos de

galactose em ligação terminal. Apesar da pequena quantidade em que ocorrem, é possível que os complexos isolados desempenhem um papel importante na organização da parede celular da polpa da azeitona.

Uma pequena mas significativa quantidade de glicoproteínas ricas em hidroxiprolina foi isolada a partir dos extractos obtidos com 4M KOH e 4M KOH + borato e também da fracção solubilizada com clorito / ácido acético a partir de RC2. A cromatografia de troca aniónica sugeriu a possibilidade destas glicoproteínas se encontrarem associadas a polissacarídeos pécticos, sendo possível que a associação entre estes polímeros seja via ligações fenólicas.

A partir da análise das azeitonas em fresco e processadas em verde e preto pode ser inferido que o amolecimento da polpa da azeitona é devido principalmente à degradação dos polissacarídeos pécticos. Uma degradação semelhante foi observada por tratamento do CWM com água quente (um método usualmente utilizado no passado para extracção de pectinas), o qual causa despolimerização das pectinas por reacções de β -eliminação e origina pequenas quantidades de fragmentos pécticos ricos em arabinose. Os polissacarídeos hemicelulósicos das azeitonas processadas foram mais facilmente extraídos, provavelmente devido à hidrólise de algumas ligações de "cross-linking" na parede celular durante o processamento. As xilanas acídicas não aparentam ter sido afectadas pelo processamento.

As paredes celulares dos tecidos lenhificados do caroço da azeitona revelaram ser extremamente lenhificadas, tendo sido necessário recorrer a trituração em azoto líquido para que o tamanho da partícula fosse efectivamente reduzido. As paredes celulares continham, como polímeros principais, celulose (30%), glucuronoxilanas (30%), substâncias pécticas (2-3%) e lenhina (30-45%). A partir da holocelulose, após exaustivo tratamento com clorito / ácido acético, foi possível isolar glucuronoxilanas, complexos xilanas-polissacarídeos pécticos associados a material fenólico e pequenas mas significativas quantidades de polissacarídeos pécticos virtualmente livres de xilanas.

A xilana mais abundante isolada dos tecidos lenhificados possuía um grau de polimerização de 89 resíduos de xilose dos quais 7% se encontravam ramificados. Todos os resíduos de ácido urónico aparentaram ser de 4-O-Me- α -D-GlcpA em ligação terminal e a razão entre os resíduos de ácido glucurónico e os de xilose foi de 1:14. Estudos de hidrólise ácida parcial revelaram que a xilana possuía uma estrutura regular.

Os estudos detalhados das paredes celulares das azeitonas frescas e das processadas proporcionou uma melhor compreensão das modificações bioquímicas / químicas que ocorrem durante o processamento da azeitona. Este conhecimento pode ser explorado efectivamente no melhoramento de produtos da indústria da azeitona, nomeadamente:

- a) um controlo mais eficiente das condições de fermentação;
- b) melhor controlo das alterações de textura durante o processamento das azeitonas quer em verde quer em preto.

Apesar do presente trabalho ter permitido o isolamento dos polissacarídeos das paredes celulares da polpa da azeitona fresca e processada assim como dos polissacarídeos das paredes celulares dos tecidos lenhificados do caroço e a elucidação das suas características estruturais, existem ainda várias áreas que poderão vir a ser exploradas numa investigação futura:

1. Determinação da estrutura detalhada de um ou dois dos maiores polissacarídeos pécnicos da polpa.
2. A natureza das ligações entre as xilanas e os polissacarídeos pécnicos nos complexos isolados a partir do extracto de SDS.
3. A natureza da ligação entre a xilana e a xiloglucana e entre a xiloglucana e a xilana nos complexos isolados a partir do extracto de 1M KOH.
4. A natureza da ligação entre os polissacarídeos não celulósicos que se encontram associados no resíduo rico em celulose (RC2) da polpa da azeitona.
5. A determinação das características estruturais das glicoproteínas ricas em hidroxiprolina presentes na polpa.
6. O efeito da maturação no metabolismo dos polissacarídeos pécnicos da azeitona.
7. Exploração dos conhecimentos referidos, especialmente as alterações durante a maturação, para melhoramento dos produtos da indústria da azeitona.

A composição das paredes celulares da azeitona é muito característica e distinta dos restantes produtos. Os resultados obtidos neste estudo podem ser utilizados como futura base de investigação com vista ao desenvolvimento de novos produtos ou subprodutos da azeitona como sejam:

- a) o bagaço da azeitona para preparação em larga escala de novos polissacarídeos pécnicos ricos em arabinose; este procedimento requererá estudos nutricionais em seres humanos;

b) os tecidos lenhificados do caroço como fonte para a produção de xilose tal como tem sido proposto para as cascas da amêndoa (Pou-llinas *et al.*, 1990).