

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA
NUTRIÇÃO

CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL E ANTINUTRICIONAL DE
FOLHAS DE *Abelmoschus esculentus* (L.) MOENCH; ATIVIDADE
MICROBIOLÓGICA DA LECTINA PRESENTE NA FRAÇÃO 30%

JOÃO PESSOA - PB

2012

MARIA EMÍLIA EVARISTO CALUÊTE

CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL E ANTINUTRICIONAL DE
FOLHAS DE *Abelmoschus esculentus* (L.) MOENCH; ATIVIDADE
MICROBIOLÓGICA DA LECTINA PRESENTE NA FRAÇÃO 30%

JOÃO PESSOA - PB

2012

MARIA EMÍLIA EVARISTO CALUÊTE

CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL E ANTINUTRICIONAL DE
FOLHAS DE *Abelmoschus esculentus* (L.) MOENCH; ATIVIDADE
MICROBIOLÓGICA DA LECTINA PRESENTE NA FRAÇÃO 30%

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Nutrição. Área de concentração: Ciências da Nutrição.

Orientadora: Dra. Tatiane Santi-Gadelha

Co-orientador: Dr. Emmanuel Prata Souza

JOÃO PESSOA - PB

2012

C166c *Caluête, Maria Emília Evaristo.*

Caracterização nutricional e antinutricional de folhas de Abelmoschus esculentus (L.) Moench; atividade microbiológica da lectina presente na fração 30% / Maria Emília Evaristo Caluête.-- João Pessoa, 2012.

74f. : il.

Orientadora: Tatiane Santi-Gadelha

Co-orientador: Emmanuel PrataSouza

Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCS

MARIA EMÍLIA EVARISTO CALUÊTE

CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL E ANTINUTRICIONAL DE
FOLHAS DE *Abelmoschus esculentus* (L.) MOENCH; ATIVIDADE
MICROBIOLÓGICA DA LECTINA PRESENTE NA FRAÇÃO 30%

Dissertação _____ em ____/____/2012.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dra. Tatiane Santi Gadelha – Orientadora Titular
UFPB/Departamento de Biologia Molecular/Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Nutrição

Prof. Dr. Emmanuel Prata Souza – Orientador Suplente
UFPB/ Departamento de Biologia Molecular/Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Nutrição

Prof. Dr. Carlos Alberto de Almeida Gadelha – Examinador externo titular
UFPB/Departamento de Biologia Molecular/Programa de Pós-Graduação em Biologia
Molecular

Prof^ª. Dra. Hilzeth de Luna Freire Pessoa – Examinador externo suplente
UFPB/Departamento de Biologia Molecular/Programa de Pós-Graduação em Biologia
Molecular

Prof. Dr. Plínio Delatorre – Examinador interno titular
UFPB/Departamento de Biologia Molecular/Programa de Pós-Graduação em Biologia
Molecular

Prof. Dr. Evandro Leite de Souza – Examinador interno suplente
UFPB/Departamento de Nutrição/Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição

Dedico, com todo meu amor:

A DEUS, que nos dedicou o dom da vida!

**Aos meus pais Maria José e José de Queiroz,
aos meus irmãos Fabiano e Rafael!**

Agradecimentos

Agradeço, em primeiro lugar a Deus, nosso criador, a Quem devoto toda minha adoração. Sem Ele a vida não seria possível!

À Prof. Dra. Tatiane Santi-Gadelha, por ter aceitado ser minha orientadora!

Ao Prof. Dr. Emmanuel Prata, pela co-orientação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição e todos os professores que fazem parte.

Aos meus pais, José de Queiroz e Maria José Evaristo, por todo amor, zelo, paciência, e principalmente por me ensinarem que o valor da vida está nas coisas mais simples! Aos meus amados irmãos, Fabiano e Rafael, meus companheiros pra toda vida!

À José Braz Júnior, pela paciência e carinho.

Aos meus colegas de mestrado, pela convivência harmoniosa, pelas brincadeiras; à Anna Júlia, pessoa que amei conhecer, e à Esther Pereira, amiga de todas as horas!

Aos meus amigos Tamires Santiago, Anderson Santiago, André Ferreira, pelo apoio e amizade.

À Érika, doutoranda em alimentos, Gilvandro, que muito me ensinaram nas análises no Centro de Tecnologia. À Prof^a Dra. Lúcia, que vai além de uma professora, me orientando com tanto carinho, e sempre um sorriso no rosto, me dizendo que tudo vai dar certo! À Prof^a Dra. Jailane Aquino, que muitas vezes me auxiliou nas análises, obrigado pela sua presença nas análises e pelos inúmeros e-mails que me enviou com dicas de análises!

À Prof^a Maria da Conceição, do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, sempre tão simpática e disponível a ajudar!

Aos secretários do Programa de Pós-Graduação, Seu Marcos e Seu Carlos, sempre solícitos!

Às Prof^{as} Angela Cordeiro e Antônia Lúcia, do LACOM, por disponibilizarem o espaço para análises; aos queridos Marco Aurélio, Anderson, João e Guilherme, não esquecerei toda a ajuda e simpatia! A Everton Viera, pessoa maravilhosa, obrigada mesmo! Ao Diego Araújo, do LACOM, pelo auxílio nas análises, pelo livro, pela torta, pelo pão doce, pelo carinho, pelas reclamações!

Ao Prof^o. Siqueira, pela amizade e bom humor!

Aos inúmeros amigos que fiz nessa caminhada: Cíntia, Patrícia, Raquel, Jocelmo, que sempre me perseguia pelos corredores do DBM, Galetto, pessoa formidável e engraçada, companheiro de almoço no primeiro ano, Rafael, Cyntia e Rubstênia, Derek Asp, Helena, André, Daniel Bezerra, Caetano, Prof^o Filipe do DSE, Prof^o Bruno, da Química, Dyego Carlos, Érika Soares, Yuri, Maria Clerya, Juarez, Vinícius de Moraes, Gregório, Joana Leite, Paulo Júnior, Carolina Leal, Rainer Magalhães, Rayane Delfino, Helanne Palmeira, Gustavo Nunes! Meus sinceros agradecimentos! À Helivaldo e Normando, pela amizade e brincadeiras, convivência quase que diária, pelos momentos hilários e desestressantes! Valeu de coração!

A minha querida Elba Ferreira, companheira de todas as horas, sempre me auxiliando nas análises e na vida. Agradeço a Deus por sua presença naquele laboratório!

À minha querida Amanda França, que tanto me ajudou, com palavras e ações e mesmo ausente sempre mandando mensagens: “Maria, você está precisando de mim”? Obrigado Senhor, por enviar seus anjos!

A Rodrigo Lacerda, companheiro de BioGer, agradeço sinceramente não só pela ajuda, mas amizade e pelos momentos hilários!

A minha querida técnica Maria Rita, agradeço sinceramente as palavras de apoio e o carinho!

Ao meu amigo e técnico João Ricardo, pessoa formidável, bem-humorada, ser humano espetacular, engraçado, meu companheiro de “passagem bar”! Adorei te conhecer!

A minha otimista amiga de laboratório Paula Perazzo, serzinho lindo, sempre achando que as coisas não irão dar certo! Adorei me tornar amiga sua Paulinha!

A minha amiga Maria Clara, amizade que vêm antes do laboratório, pessoa fantástica, que amo muito!

À minha amiga e companheira de BioGer, Sâmia Duarte, que sempre me apoia, me dá conselhos, me auxilia! Pessoa verdadeira, que admiro e amo muito!

À Daniel, amigo de longos anos, meus sinceros agradecimentos!

À Universidade Federal da Paraíba que proporcionou todo aprendizado!

Ao CNPq, pela bolsa e financiamento da pesquisa!

“Não é a ciência que deve reger o mundo, mas a Caridade!”

São Joseph Moscati

RESUMO

Os vegetais folhosos não convencionais tais como sementes, talos, farelos e folhas, podem ser inseridos na alimentação humana como fonte alternativa de nutrientes. Dentre as alternativas, destaca-se a folha de quiabo (*Abelmoschus esculentus*), vegetal pertencente à família Malvaceae, bastante difundido em regiões de clima tropical. No entanto, a biodisponibilidade dos nutrientes pode ser afetada por fatores antinutricionais. Em vista do exposto, este estudo objetivou a determinação da composição nutricional, antinutricional (lectina, tanino e saponina), detecção de compostos fenólicos, caracterização da lectina presente e atividade microbiológica da fração protéica das folhas de *Abelmoschus esculentus*. Para isso foram feitas análises de composição centesimal e teores de antinutricionais (lectina, saponina e tanino) em folhas frescas, branqueadas, cozidas e liofilizadas, enfocando o efeito de diferentes tratamentos sob esses parâmetros. A lectina foi determinada por meio de atividade hemaglutinante frente a hemácias de coelho e humanas do sistema ABO, sendo posteriormente confirmada presença pela especificidade a carboidratos. Foi testada sua inativação por meio de tratamento térmico, choque de pH, resistência a agente desnaturante, redutor e enzimático. A fração 30% foi submetida a testes de atividade antifúngica e antibacteriana. Os taninos foram determinados por meio do reativo de Folin-Denis, enquanto que teste hemolítico foi realizado para testar presença de saponinas. As folhas frescas, branqueadas, cozidas e liofilizadas apresentam predominância de carboidratos, 11,54%, 12,42%, 4,99% e 36,97%, respectivamente; fibras brutas, 3,85%, 4,21%, 3,86% e 12,88%, respectivamente; cálcio, 382,50%, 357%, 366,50% e 691% e magnésio, 232,50%, 237,50%, 138,50 e 438%, respectivamente. Foi detectada a presença de lectina, sendo maior atividade específica em folhas branqueadas (11, 14 UH/mgP), bem como sua inativação total por meio de tratamento térmico (100°C por 30 minutos) e também em pH básico. Foi detectada ausência de saponina. Apresenta teor de compostos fenólicos totais de 19,27 mg de GAE/g. A fração 30% não apresentou efeito inibitório sobre o crescimento de fungos e bactérias. Concluiu-se que a folha de *Abelmoschus esculentus* possui alto teor de carboidratos, fibras e minerais Ca, Mg e K, baixo valor calórico e ausente de saponinas, além de apresentar componentes antioxidantes. O tratamento térmico foi capaz de inativar a lectina presente e diminuir os teores de tanino para valores aceitáveis.

Palavras-chave: Folhas de *Abelmoschus esculentus*. Composição nutricional. Compostos fenólicos. Fatores antinutricionais. Lectina.

ABSTRACT

The non-conventional vegetables's leafy such as seeds, stems, leaves and crumbs, can be inserted in food as an alternative source of nutrients. Among the alternatives, there is okra's leaves (*Abelmoschus esculentus*), vegetable belonging to the Malvaceae family, is widespread in tropical regions. However, the bioavailability of nutrients can be affected by antinutritional factors. In view of the above, this study aimed to determine the nutritional composition, antinutritional (lectin, tannin and saponin) detection of phenolic compounds, characterization of this lectin and biological activity of the protein from *Abelmoschus esculentus*'s leaves. The analysis were made of composition and content of antinutritional (lectin, saponin and tannin) in fresh leaves, blanched, cooked and lyophilized, focusing on the effect of different treatments on these parameters. The lectin was determined by hemagglutination activity against rabbit erythrocytes and ABO human system, and subsequently confirmed by the presence of specific carbohydrate. Inactivation was tested by means of heat treatment, the pH shock, resistance to denaturing agent, reducing and enzymatically. The fraction 30% underwent testing for antifungal and antibacterial activity. Tannins was determined by the Folin-Denis reactive, while hemolytic test was performed to test the presence of saponin. The fresh leaves, blanched, cooked and lyophilized present predominantly carbohydrate, 11.54%, 12.42%, 4.99% and 36.97% respectively, crude fiber, 3.85%, 4.21%, 3.86% and 12.88% respectively, calcium, 382.50%, 357% 366.50% to 691% and magnesium, 232.50% 237.50% 138.50% and 438 respectively. It was detected the presence of lectin, specific activity was higher in leaves bleached (11.14 HU / mgP) and total inactivation by heat treatment (100°C for 30 minutes) at basic pH. It was detected the absence of saponin. Displays total phenolic content of 19.27 mg GAE / g. The 30% fraction showed no inhibitory effect on the growth of fungi and bacteria. It was concluded that the *Abelmoschus esculentus*'s leaves is high in carbohydrates, fiber and minerals Ca, Mg and K, low calorie and absent saponins, besides having antioxidant components. The heat treatment was able to inactivate this lectin and lower tannin content to acceptable values.

Key-words: Antinutritional factors.*Abelmoschus esculentus*'s leaves.Lectin.Nutritional composition.Phenolic compounds.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Espécie <i>Abelmoschus esculentus</i>.....	18
Figura 2: Folha de <i>Abelmoschus esculentus</i>.....	18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Linhagens bacterianas.....	37
Tabela 2: Linhagens de fungos dermatófitos.....	38

LISTA DE TABELAS DO ARTIGO

Tabela 1: Composição centesimal da folha de <i>Abelmoschus esculentus</i> , em base úmida.	61
Tabela 2: Teores de minerais (média \pm desvio-padrão) encontrados na folha de <i>Abelmoschus esculentus</i>	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Fe: Ferro

Ca: Cálcio

Mg: Magnésio

K: Potássio

µg: micrograma

g: grama

Mol: Molar

DBM: Departamento de Biologia Molecular

CCEN: Centro de Ciências Exatas e da Natureza

AOAC: Associação Oficial de Químicos Analistas

NaOH: Hidróxido de Sódio

N: Normal

H₂SO₄: Ácido Sulfúrico

HCl: Ácido Clorídrico

(NH₄)₂SO₄: Sulfato de Amônio

Rpm: rotação por minuto

Na₂SO₄: Sulfato de Sódio

TCA: Ácido tricloroacético

IAL: Instituto Adolfo Lutz

mL: mililitro

NaCl: Cloreto de Sódio

Tris: Hidroximetil Aminometano

UFC: Unidades Formadoras de Colônia

CCT: Coleção de Culturas Tropicais

ATCC: American Type Culture Collection

CCS: Centro de Ciências da Saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 <i>Albelmoschus esculentus</i> (L) MOENCH.....	17
2.2 COMPOSIÇÃO DA DIETA HUMANA.....	20
2.3 FATORES ANTINUTRICIONAIS EM VEGETAIS.....	22
2.3.1 Tanino	23
2.3.1.1 <i>Atividade antinutricional dos taninos</i>	24
2.3.2 Saponina	24
2.3.2.1 <i>Atividade Antinutricional de Saponina</i>	25
2.3.4 Lectina	26
2.3.4.1 <i>Atividade antinutricional das lectinas</i>	27
2.4 COMPOSTOS COM AÇÃO ANTIOXIDANTE PRESENTE NOS VEGETAIS.....	28
3 OBJETIVOS	30
3.1 OBJETIVO GERAL.....	30
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
4 MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1 MATERIAL VEGETAL.....	31
4.2 CLASSIFICAÇÃO FILOGENÉTICA.....	31
4.3 HEMÁCIAS HUMANAS E DE COELHO.....	31
4.4 PREPARO DO MATERIAL VEGETAL E VALOR ENERGÉTICO.....	31
4.5 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E VALOR ENERGÉTICO.....	32
4.5.1 Umidade	32
4.5.2 Cinzas	32
4.5.3 Determinação de proteínas	32
4.5.4 Determinação de lipídeos	33
4.5.5 Carboidratos totais	33
4.5.6 Determinação de fibras totais	33
4.5.7 Determinação do valor energético	33
4.6 DETERMINAÇÃO DE MINERAIS.....	34

4.7 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE.....	34
4.7.1 Determinação da atividade hemaglutinante.....	34
4.7.2 Especificidade por açúcares.....	34
4.8 DOSAGEM DE PROTEÍNAS.....	35
4.9 FRACIONAMENTO POR SULFATO DE AMÔNIO.....	35
4.10 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.....	35
4.10.1 Efeito do pH sobre a atividade hemaglutinante	35
4.10.2 Teste de termoestabilidade.....	36
4.10.3 Efeito de enzimas proteolíticas.....	36
4.10.4 Estabilidade a agentes redutores e desnaturantes.....	36
4.11 DETERMINAÇÃO DO TEOR TOTAL DE TANINOS.....	37
4.12 DETECÇÃO DE SAPONINAS POR HEMÓLISE.....	37
4.13 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS.....	37
4.13.1 Determinação de fenólicos totais.....	37
4.14 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA FRAÇÃO PROTEICA.....	38
4.14.1 Atividade antibacteriana.....	38
4.14.2 Determinação da atividade antifúngica pelo Método de Difusão em	
Disco.....	39
5 REFERÊNCIAS.....	40
6 APÊNDICES.....	54
APÊNDICE A (ARTIGO)- Composição Nutricional e antinutricional de folhas de	
quiabo (<i>Abelmoschus esculentus</i>) submetidas a diferentes tratamentos térmicos	55
7 ANEXOS	71
OUTROS RESULTADOS.....	71

1 INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa posição desconfortável no ranking mundial de países com baixo desempenho na área social não apenas nos setores de educação e habitação, mas também como um dos países que alimenta mal os seus cidadãos. Por outro lado, vivemos em uma fase de transição nos padrões alimentares, com dietas ricas em gorduras e açúcares e deficientes em carboidratos complexos e fibras, presentes principalmente em hortaliças e frutas (DIAS et al., 2005).

Os vegetais fornecem nutrientes essenciais para o corpo e podem ser uma fonte de nutrientes para as pessoas de todas as classes sociais, devido o seu baixo custo e excelente disponibilidade, sendo cultivados sem a necessidade de grandes investimentos financeiros (LEITE, 2010) além de conterem substâncias com ação antioxidante, as quais exercem ação protetora contra a evolução de processos degenerativos que conduzem às doenças e ao envelhecimento precoce (BARCIA, 2009), dentre estes antioxidantes se destacam os compostos fenólicos.

Para estimular o consumo de hortaliças e frutas, revertendo este quadro, podem ser utilizados alimentos não convencionais ou que estejam disponíveis na região, como proposta para o combate a fome e a insegurança alimentar e promover a dieta o consumo de alimentos ricos em fibras, vitaminas e minerais, muitas vezes deficientes na alimentação (DIAS et al., 2005).

Dentre os vegetais utilizados na nossa alimentação, menciona-se o quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) originário da Etiópia-África, pertencente à família Malvaceae, hortaliça bastante difundida na região Nordeste do Brasil, porém pouco utilizada no restante do país (SOARES, 2010). As vagens do quiabo são usadas tanto como legumes quanto como medicamento tradicional (SENGKHAMPARN et al., 2009), sendo um alimento popular de alto valor nutricional (PAES; ESTEVES; SOUSA, 2012). As folhas jovens são comumente consumidas como legumes pelos povos da África Ocidental e Central e pelos seus imigrantes que vivem na Europa Ocidental (TSUMBU et al., 2012), porém esta prática ainda não é bem difundida no Brasil, devido a questões culturais e a escassez pesquisa científica sobre as propriedades nutricionais da folha.

No entanto, a biodisponibilidade de seus nutrientes pode ser comprometida pela presença de fatores antinutricionais, termo usado para descrever compostos químicos que

podem provocar efeitos fisiológicos adversos e interferir na biodisponibilidade, digestibilidade e absorção de nutrientes ou serem tóxicos, dependendo da quantidade em que são consumidos (NAVES et al, 2010). Dentre eles, se destacam as lectinas, saponinas e os taninos.

O uso de vegetais como fonte para a produção de medicamentos tem se difundido largamente nos últimos anos e vem sendo empregado no tratamento de muitas doenças (MELLO, 2005). Por esta razão, existe um interesse crescente no estudo da composição desses vegetais, tanto para seus constituintes orgânicos como para inorgânicos, com isso a pesquisa de princípios ativos e antioxidantes de plantas na busca de novos fármacos vêm se tornado promissora (LOPES et al., 2005; GOMEZ, 2004; DUNDER, 2009). Lectinas são um grupo heterogêneo de proteínas e glicoproteínas de origem não imune com a capacidade de ligação a carboidratos de forma não catalítica (PEUMANS; VANDAMME, 1995). Esta propriedade tanto lhe confere caráter antinutricional como promissor, como uma biomolécula com potentes atividades biológicas. Lectinas vegetais vêm sendo amplamente estudadas, quanto atividade antifúngica (YAN et al., 2005; CHEN, et al., 2009), bactericida (SANTI-GADELHA et al., 2006; NUNES et al., 2011), anti-viral, como relatado por Nobuyuki, Husk e Barnett (2010), ação anti-inflamatória (NUNES et al, 2009) e pró-inflamatória (RANGEL, 2012), efeito antinociceptivo (NEGRE et al.,1992; BARRAL-NETTO et al., 1992; PAIM 2006).

A tendência pelo consumo de novos produtos e a busca por moléculas que sirvam como base para novas drogas de combate ou prevenção as moléstias humanas tem originado grande demanda (LIMA, 2008). O isolamento e a caracterização físico-química de novas moléculas presentes em alimentos de origem vegetal, com vistas à sua ação fisiológica no organismo humano, é uma tecnologia inovadora utilizada como fonte potencial para o desenvolvimento de medicamentos mais efetivos (NASCIMENTO; LOCATELLI; FREITAS, 2000).

No entanto, pesquisas relativas à purificação e ao isolamento de lectina da família Malvaceae ainda são escassas. Recentemente uma lectina presente nas sementes do quiabo foi isolada e estudada, o que faz do trabalho um marco no desenvolvimento de tecnologia e agregação de valor nutricional aos produtos dessa família (SOARES, 2010).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Abelmoschus esculentus* (L.) MOENCH

O quiabo, *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, conhecido como lady's finger, okra, gumbo e bhindi dependendo da região no qual é cultivado, pertence à família Malvaceae, que se situa entre as hortícolas de alto valor alimentício (DAS; MUKHERJEE; DAS, 2012); tem origem africana, precisamente da Etiópia, sendo hoje em dia amplamente difundido na África Ocidental, Índia, Sul da Europa, parte da Ásia, Filipinas e nas Américas, ocupando a quinta posição, junto com o tomate, em cultivo na Índia, constituindo uma hortaliça bastante consumida nesse país (PENDRE et al., 2011).

O cultivo do quiabo é propício em clima temperado, nas regiões subtropicais do mundo, sendo utilizado tanto para consumo humano quanto para fins industriais (VENKATARAVANAPPA et al., 2011). O Brasil caracteriza-se como um país adequado para o cultivo do quiabeiro devido a ser uma planta rústica, tolerante ao calor, ter alta resistência a pragas, não exige tecnologia avançada para seu cultivo e possui custo de produção economicamente viável, sendo mais explorado nas regiões Nordeste e Sudeste (OLIVEIRA; ALVES; DORNELAS, 2003).

A espécie *Abelmoschus esculentus* (Figura 1) é anual, arbustiva, de porte ereto e caule semi-lenhoso que pode atingir até 3 metros de altura; possui um ciclo vegetativo rápido, de fácil cultivo e de alta rentabilidade (FIGUEIRA, 2000). A folha de quiabo é conhecida por suas folhas estreitas e geralmente tem uma profundidade de corte da borda da folha (ZHU; LIU; WANG, 2008) (Figura 2).

A vargem atualmente é utilizada como olerícola, por ser palatável, e ainda para fornecimento de fibras e óleos essenciais. As vagens do quiabo constituem um alimento popular de alto valor nutricional, com grande aceitação no mercado, sendo os pequenos produtores os maiores responsáveis por toda sua produção (PAES; ESTEVES; SOUSA, 2012), sendo usadas principalmente como legumes (SENGKHAMPARN et al., 2009). Panero e colaboradores (2009) relataram que o fruto possui alto valor nutritivo, medicinal e comercial, além de ser usado na alimentação como um ingrediente importante em diversos pratos da cozinha brasileira, também é utilizado na medicina popular, onde é empregado como laxante, nos casos de pneumonia, bronquites e tuberculose pulmonar.



Figura 1.: *Abelmoschus esculentus*.

Fonte: <http://www.filipinoherbshealingwonders.filipinovegetarianrecipe.com/okra.htm>



Figura 2.: Folha de *Abelmoschus esculentus*.

Fonte: <http://obotanicoaprendiznaterrosespantos.blogspot.com/2010/07/quiabo-abelmoschus-esculentus.tml>

O quiabo é uma importante hortaliça do ponto de vista econômico, devido a sua excelente disponibilidade, baixo custo e alto valor alimentício e nutricional. A vagem fornece ao ser humano vitaminas, tais como C, A, vitaminas do complexo B, como também ferro (Fe), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), proteínas, sendo uma excelente fonte de carboidratos e fibras (BENJAWAN; CHUTICHUDET; CHANABOON, 2007).

Hussain et al., (2009) encontraram valores de 14,45%, 62,05% e 6,23% para proteínas, carboidratos e lipídeos, respectivamente, para as vagens de quiabo. O quiabo é rico em um composto mucilaginoso natural constituído por D-galactose, L-ramnose e L-ácido galacturônico, muito utilizada na indústria alimentícia com um bom agente emulsificante e estabilizante (AGARWAL; RAJANI; MISHRA, 2001). Soares (2010) determinou a composição nutricional de sementes do quiabo, apresentando uma predominância de carboidratos totais representados pelas fibras (30,81%) e carboidratos solúveis (6,69%), proteínas (22,14%) e lipídeos (14,01%) como também relatou a purificação e atividade anti-inflamatória da lectina.

Carvalho et al., (2011), testando extratos aquosos de vagens de quiabo liofilizadas e frescas frente aos microrganismos patógenos e *Rhodococcus opacus*, *Mycobacterium sp* e *M. aurum*, *Staphylococcus aureus* demonstraram inibição do crescimento bacteriano, devido a adesão destas a fração lipídica. Sabitha et al., (2011) comprovou a eficácia do potencial antidiabético e antihiperlipêmico da casca e do pó das sementes de quiabo em ratos diabéticos. O quiabo pode ser ainda usado como agente diurético, no tratamento de doenças dentais e prevenção de gastrites (SENGKHAMPARN et al., 2010), além disso suas sementes possuem antioxidante natural (ADELAKUN et al., 2009).

As folhas de quiabo são comumente consumidas como legumes pelos povos da África Ocidental e Central e pelos seus imigrantes que vivem na Europa Ocidental, sendo também utilizadas na alimentação animal (TSUMBU et al., 2012). São boas fontes de energia, proteína, vitaminas e minerais, em especial fósforo, cálcio e magnésio (EFFIONG et al., 2009).

Na medicina popular, as folhas de quiabeiro são usadas como atenuante da dor de cabeça, febre, reumatismo, hemorroidas, no tratamento de micoses, tumores, conjuntivite, feridas e abscessos (MILADIYAH; DAYI; DERSINI 2011; WRIGHT et al., 2007; FAROMBI, 2003).

Pesquisas quanto à indicação do consumo de folhas de quiabo são insipientes, principalmente no Brasil, o que justifica por meio da realização de pesquisas a determinação de sua composição química, presença de fatores tóxicos e antinutricionais, bem como a

realização de atividades biológicas, antes de ser estimulada com segurança para sua utilização humana.

2.2 COMPOSIÇÃO DA DIETA HUMANA

Nas últimas décadas, a população mundial vem aumentando de maneira acentuada e, para que essa população possa manter um nível de alimentação com alto valor nutritivo exige-se um melhor aproveitamento dos recursos alimentícios disponíveis (PEREIRA et al., 2003). A qualidade nutricional pode ser definida como a capacidade de um alimento em atender um indivíduo com os nutrientes necessários para sua manutenção, desenvolvimento e funcionamento orgânico normal (BORJES; CAVALLI; PROENÇA, 2010). Dessa forma nutrientes e outros componentes presentes em alimentos, seja *in natura* ou processados são necessários em inúmeros campos de atividades, tais como nutrição, saúde, agricultura, comércio e marketing (GIUNTINI; LAJOLO; MENEZES, 2006). Para que uma alimentação seja de boa qualidade deve ser constituída de macronutrientes como proteínas, lipídeos e carboidratos, bem como vitaminas, minerais e fibras em quantidades adequadas para suprir a necessidade requerida pelo ser humano (DENADAI, 2006).

Proteínas são moléculas orgânicas formadas por aminoácidos, resultando em moléculas com ampla diversidade funcional (CURCHO, 2009). No entanto, são muitas vezes deficientes nas dietas de pessoas de países em desenvolvimento (ADEYEYE; MOLAYO, 2011). As proteínas exercem diversas funções: biocatalisadoras, hormonais, estruturais de regulação gênica, de defesa e transporte nos fluidos biológicos (BORSOI, 2001) Deve-se levar em conta também o aspecto qualitativo, ou seja, seu valor nutricional (DENADAI, 2006) que dependerá de sua composição, digestibilidade, biodisponibilidade de aminoácidos essenciais e principalmente não ser citotóxica e/ou antinutriente (FAO/WHO, 1991).

Os carboidratos, também conhecidos como hidratos de carbono, são compostos orgânicos de suma importância na alimentação humana. Constituem a fonte de energia mais importante, pois sua metabolização resulta em glicose e/ou outros monossacarídeos, combustível indispensável para o funcionamento do cérebro, órgãos e músculos (BARROS; CARVALHO; FERREIRA, 2010). Os carboidratos vegetais variam muito no grau de doçura, textura, velocidade de digestão e grau no qual são absorvidos após passagem pelo trato gastrointestinal humano. A diversidade, as propriedades fisiológicas e os benefícios potenciais à saúde das fontes de carboidratos no suprimento alimentar podem ser apreciados

examinando-se as propriedades químicas de cada tipo principal de carboidratos (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2005).

Dentre estes macronutrientes, também se destaca os lipídeos, caracterizados pela sua alta solubilidade em compostos orgânicos e baixa solubilidade em água. São de importantes reservas de energia em animais e sementes oleaginosas, podendo funcionar como combustível alternativo à glicose; formam uma camada adiposa na pele, atuando como protetor de órgãos, isolante térmico; dão origem a hormônios, entre outras funções (BORSOI, 2001).

Os minerais são micronutrientes essenciais para a manutenção da nutrição e o estado de saúde do corpo. Eles não podem ser sintetizados no corpo humano e, portanto, devem ser obtidos através da dieta. Vegetais de folhas verdes, em geral, são alimentos de baixo custo e fontes de minerais (MENSAH; OKOLI; OHAJU-OBODO, 2008).

Em 2003, com a realização da Pesquisa Mundial de Saúde, constatou-se que menos da metade dos brasileiros adultos (41%) relataram consumir diariamente legumes e hortaliças (JAIME; MONTEIRO, 2005). Evidências disponíveis demonstram que dietas ricas em vegetais previnem doenças cardiovasculares e diversos tipos de câncer (LIU et al., 2000; TERRY et al., 2001; WCRF, 2007), devido ao conteúdo de compostos fenólicos e certas vitaminas com ação antioxidante. Dentre os vegetais utilizados pelos brasileiros na alimentação destaca-se o fruto do quiabo, este constitui uma boa fonte de nutrientes essenciais, tais como proteínas, carboidratos, fibras e minerais, assim como toda hortaliça.

Os conteúdos de nutrientes dos vegetais podem variar amplamente dependendo de diversos fatores, tais como a variedade, grau de maturação, tipo de solo, uso de fertilizantes, intensidade e duração da luz solar, temperatura e chuvas. Isto torna diferente a composição de uma mesma variedade cultivada em regiões diferentes, sendo difícil estimar o real valor nutritivo (COSTA et al., 2003).

Atualmente é crescente exploração de fontes vegetais com substâncias que fornecem ao organismo vantagens nutricionais e farmacêuticas (VARAKUMAR et al., 2007); dentre estas fontes se destacam os vegetais folhosos de coloração verde-escuro, como boas fontes de minerais e vitaminas (RAJU et al., 2007). No entanto, muitas partes dos vegetais, tais como talos, sementes e folhas não são utilizadas como alimento devido à falta de conscientização da sua importância nutritiva como é o caso da folha do quiabo, sendo muitas vezes desprezada no processo da colheita. Nesta espécie, trabalhos sobre constituintes químicos das folhas ainda são escassos, sendo a maioria voltada para a composição química das partes geralmente consumidas, ou seja, as vagens e sementes.

2.3 FATORES ANTINUTRICIONAIS EM VEGETAIS

Os vegetais fornecem nutrientes essenciais para a manutenção e/ou recuperação da saúde, sendo acessível para pessoas de todas as classes sociais, devido o seu baixo custo, sendo cultivados sem a necessidade de grandes investimentos financeiros (LEITE, 2010). No entanto, a biodisponibilidade de seus nutrientes pode ser comprometida pela presença de fatores antinutricionais, tais como lectinas, taninos (LEITE et al, 2009), nitratos, oxalatos, saponinas (PINTO et al, 2001), fitatos e certos compostos fenólicos de maior peso molecular (GUSTAFSSON; SANDBERG, 1995).

O termo fator antinutricional tem sido usado para descrever compostos químicos que podem provocar efeitos fisiológicos adversos e interferir na biodisponibilidade, digestibilidade e absorção de nutrientes ou serem tóxicos, dependendo da quantidade em que são consumidos (NAVES et al., 2010). Estão presentes numa extensa variedade de alimentos vegetais, que quando consumidos, reduzem seu valor nutritivo, e se ingeridos em altas concentrações, podem acarretar efeitos danosos à saúde (SANTOS, 2006). Na nutrição humana tais fatores antinutricionais têm pequena consequência, pois são termolábeis e geralmente são destruídos nas condições normais de preparo, doméstico ou industrial dos alimentos (KHATTAB; ARNTFIELD, 2009).

Os fatores antinutricionais e/ou tóxicos foram identificados como o principal problema na exploração das folhas de fontes vegetais que, quando consumidos reduzem seu valor nutritivo. Fontes vegetais usualmente usadas na alimentação tais como, amarantus, espinafre e taioba possuem altas concentrações de nitrato, oxalatos e saponinas (PINTO et al., 2001); sementes de abóbora contêm teor razoável de polifenóis (NAVES et al., 2010).

Folhas de breço apresentam lectinas e taninos (Leite et al., 2009), neste caso as lectinas foram totalmente inativadas a 70°C, todavia os teores de taninos não foram significativamente reduzidos com a aplicação do calor. Diferentemente, Salazar et al., (2006) observaram redução nos teores de lectinas e inibidores da α -amilase em folhas de *Lycianthes synanthera* após tratamento térmico. Vários estudos (MECHI; CANIATTI-BRAZACA; ARTHUR, 2005; MOURA; CANIATTI-BRAZACA, 2006; RAMIREZ-CÁRDENASI; LEONEL; COSTA, 2008) avaliaram o teor de taninos em feijões e verificaram que o grão cozido apresentou diminuição no teor deste composto quando comparado ao cru, causada pela ação do processo de cocção. Barca, Vázquez-Moreno e Robles-Burgueño, (1991) analisaram o teor de lectina de soja in natura e processada. Os níveis de lectina mais altos foram encontrados em soja crua (3 600 $\mu\text{g/g}$) e os mais baixos (3,75 a 12,92 $\mu\text{g/g}$) em produtos de

proteína de soja texturizada, ou seja, após tratamento industrial. Como eram esperados, os níveis de atividade de lectina de soja dependeram do processamento térmico. Santos (2006) verificou a redução dos níveis de fatores antinutricionais em folhas de brócolis, couve e em couve-folha, após cocção em tempos crescentes, de 0 a 10 minutos.

Desta forma, a realização de estudos dos nutrientes e fatores antinutricionais dos vegetais de uso convencional e não convencional é essencial, a fim de se estabelecer a viabilidade de consumo sem causar prejuízo à saúde do ser humano (LIMA, 2009).

2.3.1 Tanino

A dieta do ser humano, de maneira geral, possui vários alimentos contendo consideráveis quantidades de taninos, tais como feijões secos, ervilhas, cereais, folhas, vegetais verdes, café, chá, cidra, algumas frutas e alguns tipos de vinhos (REDDY; SATHE; SALUNKHE, 1985). Liener (1994) define que os taninos são composto polifenólicos de estruturas químicas diversas, alto peso molecular, com capacidade de se ligar com as proteínas e outros polímeros, característica que os define como substâncias antinutricionais endógena.

Classicamente os taninos são divididos em dois grupos, em função da sua estruturação química: hidrolisáveis e condensados (MAKKAR, 2003). Os taninos hidrolisáveis são polímeros de ácido gálico ou ácido hexahidroxidefênico, normalmente presentes em baixa concentração nas plantas e podem sofrer facilmente hidrólise por bases, ácidos e esterases. O metabolismo microbiano e a digestão gástrica convertem esses taninos em metabólitos de baixo peso molecular. Alguns desses metabólitos são tóxicos e estão associados a hemorragias gastro-entéricos, necrose do fígado e rins, principalmente em animais monogástricos. Já os taninos condensados (catequinas e leucoantocianinas) são polímeros ligados por ligações tipo carbono-carbono, que não são susceptíveis de quebra por hidrólise e como consequência, não são absorvidos pelo trato gastro-intestinal, quando ingeridos em baixa concentração tem ação protetora de proteínas, porém quando em alta concentração (acima de 5%) apresentam ação antinutricional na dieta (CANNAS, 2001), por sua capacidade de formar complexos insolúveis com as proteínas (JEAN-BAIN, 1998), podendo causar em animais efeito depressivo sobre o consumo voluntário e redução na eficiência do processo digestivo e produtividade (FRUTOS et al., 2002).

2.3.1.1 Atividade antinutricional dos taninos

Os efeitos de taninos em seres humanos são desconhecidos (PRICE; HAGERMAN; BUTLER, 1980; CHANG et al., 1994), embora, substâncias que formam complexos com compostos nitrogenados provavelmente devem influenciar a digestão e a absorção de nutrientes (CHANG et al., 1994); possuem efeitos inibidos sobre o ferro não heme, formando precipitados insolúveis, diminuindo sua absorção (FANTINNI et al., 2008). Os taninos têm capacidade de inibir as enzimas α -amilase e α -glucosidases, ligadas ao metabolismo de carboidratos; as enzimas lipase pancreática e gástrica, ligado à digestão de lipídeos e por fim, a enzima tripsina e demais proteases, responsáveis pelo metabolismo proteico. Sendo assim, podem também complexar as proteínas da alimentação, impedindo desta forma a ação das proteases (McDOUGALL et al., 2005).

Rodrigues e colaboradores (2009) relataram que os taninos causam efeitos indesejáveis na dieta, podendo formar complexos com as proteínas e diminuir a digestibilidade e a palatabilidade dos alimentos, resultando em menor ganho de peso aos animais; úlceras e danos na mucosa gastrointestinal, menor produção de leite ou lã, menor consumo da ração e menor digestibilidade (MUELLER-HARVEY, 2006). Os taninos possuem diversidades de efeitos, devido às diferenças nas capacidades fisiológicas dos animais e às diferentes reações químicas apresentadas pelos diversos grupos de taninos, fato que demonstra a correlação entre o nicho alimentar e a espécie animal (HAGERMAN et al., 1992).

São atribuídos aos taninos outros efeitos desagradáveis à dieta, como cor indesejável, devido às reações de escurecimento enzimático e diminuição da sua palatabilidade, devido à adstringência causada por sua complexação com proteínas salivares (SANTOS, 2006).

Pinto et al., (2001) caracterizando a presença de fatores antinutricionais na folha de *Xanthosoma sagittifolium* (taioba), mostraram taninos presentes em uma faixa aceitável para consumo humano, sendo a folha de taioba uma fonte não convencional mas com viabilidade para consumo.

2.3.2 Saponina

As saponinas são um grupo de glicosídeos anfífilicos que contêm uma ou mais cadeias de açúcar ligadas a um triterpeno não polar ou esqueleto esteroide aglicona (YU;CHEN;LI, 2012). São compostos naturais que possuem muitas bioatividades, tais como

antiespasmódico, anti-inflamatório, imuno estimulantes, atividade antifertilidade e atividade antitumoral (BARILE et al., 2005; CORREA et al., 2005; WANG, 1988; SPARG;LIGHT; STADEN, 2004). Estão presentes em pelo menos 400 espécies de plantas, sendo diversas utilizadas como fonte de alimentação. Possuem efeitos benéficos como promotores de crescimento, porém algumas plantas que as contém possuem efeitos tóxicos para ruminantes. Nas plantas são mecanismos naturais de defesas contra organismos como fungos e insetos. A atividade mais comum é a capacidade de produzir hemólise, essa atividade faz parte do sistema de proteção do vegetal contra ataques de predadores (insetos, vírus, fungos e bactérias) (BRUNETON, 1999) e está ligada a muitas das atividades antibacteriana, antifúngica e espermicida observada (LACAILLE-DUBOIS; WAGNER, 1996).

Na forma de glicosídeo integro, em contato com o sangue, as saponinas causam hemólise de eritrócitos, que é a propriedade negativa não merecida, pois quando é ingerida a saponina é hidrolisada em seus constituintes – açúcar e aglicona (sapogenina) e nenhum desses produtos levam a atividade hemolítica (ELDIN; DUNFORD, 2001).

2.3.2.1 *Atividade Antinutricional de Saponina*

Uma propriedade das saponinas é sua natureza anfipática; devido à solubilidade das sapogeninas em lipídeos e das cadeias de açúcar serem hidrossolúveis, há uma potente ação detergente e emulsificante (WANG;GU;LI, 2005; SARNTHEIN–GRAF;MESA, 2004). Devido a essa ação detergente, é dotada de efeito tóxico relacionado à sua propriedade de causar ruptura em eritrócitos liberando hemoglobina (ODA et al., 2000). Outros efeitos tóxicos ainda relacionados à característica de causar lise celular são ações inseticida, anti-helmíntica e ictiotóxica (SCHENKELL; GOSMANN; ATHAIDE, 2007).

As saponinas, de forma geral, são de baixo valor nutritivo e estão relacionadas com a diminuição da aceitabilidade das plantas forrageiras consumidas por animais, fato este que lhes confere a denominação de fatores antinutricionais ou antiqualitativos (NEPOMUCENO, 2009).

A má absorção intestinal destas biomoléculas é principalmente devido as suas características físico-químicas desfavoráveis, tais como massa molecular grande, capacidade elevada de ligação ao hidrogênio e flexibilidade molecular elevada (YU; CHEN;LI, 2012).

Em monogástricos, as saponinas podem agir positiva ou negativamente sobre o consumo, a absorção e a excreção de diversos nutrientes (ANTHONY et al, 1994; AREGHEORE, 2005; KAYA;ERDOGAN; ERDOGAN, 2003; PETIT et al., 1993; SHI et al.,

2004). No entanto, efeitos negativos sobre o crescimento e a eficiência alimentar também são apontados (POTTER et al.,1993) e diversas hipóteses são utilizadas para explicá-los: a diminuição no consumo pelo papel adstringente e irritante, redução na motilidade intestinal, produção de metabólitos ativos e redução na digestibilidade da proteína (FRANCIS et al., 2002).

Quanto a redução na digestibilidade das proteínas, Potter et al. (1993), explicaram que as interações entre as saponinas e proteínas formam complexos que diminuem a sua digestibilidade e que a presença de diversos alimentos contendo saponinas e proteínas tornam importante o conhecimento das interações entre elas.

2.3.4 Lectina

Lectinas são um grupo heterogêneo de proteínas e glicoproteínas de origem não imune com a capacidade de ligação a carboidratos de forma não catalítica (PEUMANS; VANDAMME, 1995). Ao se ligar a boa parte dos carboidratos presentes nas membranas celulares, as lectinas participam de uma gama de processos celulares sem, no entanto, alterar as propriedades dos carboidratos (NOBREGA et al., 2012).

O termo lectina, do latim *legere*, foi proposto em 1954, por Boyd e Sharpleigh, enfatizando a propriedade de algumas proteínas aglutinarem seletivamente distintos tipos celulares, uma vez que o termo significa escolher, selecionar (VAN DAMME et al.,1998; ZATTA; CUMMINGS, 1992).

Perto do final do século XIX, evidências começaram a surgir sobre a presença de proteínas na natureza que possuíam a capacidade de aglutinar eritrócitos. Estas proteínas foram definidas como hemaglutininas ou *phytoagglutinins*, por serem originalmente encontradas em extratos de plantas.

O interesse pelas lectinas tornou-se mais evidente na década de 60, período nos quais os estudos das atividades aglutinantes e ligantes dessas proteínas começaram a chamar atenção dos pesquisadores. Tais propriedades tornaram as lectinas compostos úteis para detecção, isolamento e caracterização parcial de glicoproteínas, bem como possibilitar o estudo das mudanças dos padrões glicídicos que podem ocorrer no glicocálice nas superfícies celulares durante o desenvolvimento, diferenciação e transformação neoplásica (SHARON, 1993).

Entre as lectinas de plantas mais estudadas, estão principalmente as da família *Leguminosae*. Outras partes da planta como folhas, caule, raízes e flores, contêm pouca

quantidade que não necessariamente são idênticas em estrutura ou especificidade a carboidratos com as lectinas de órgãos de armazenamento (RÜDIGER, 1998; VIRTUOSO, 2005). Apesar de serem abundantes em muitas plantas, apresentam diferenças mínimas na sua estrutura, especificidade de ligação, função fisiológica, especificamente definida e atividades, podendo assumir diferentes papéis biológicos (VIRTUOSO 2005; TRINDADE, 2005). Entre algumas funções das lectinas de plantas destacam-se: comunicação celular, defesa contra hospedeiros (SHARON; LIS, 2007), armazenamento ou transporte de carboidratos em sementes, inibição de crescimento em fungo (SHARON; LIZ 2003; SOARES 2010), atividade inseticida (TRIGUEIROS et al., 2003) e atividade antiinflamatória (SOARES, 2010).

A busca de novas drogas antibacterianas é realizada por vários grupos de pesquisadores em todo o mundo, não só para combater as infecções por bactérias superesistentes e em uso clínico, mas também para utilização em diversas atividades, como na indústria e no comércio (BATISTA, 2008).

Assim, as lectinas de *Hypoxis hemerocallidea*, *Eucomis autumnalis* e *Combretum mkhuzense* são capazes de impedir o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* (GAIDAMASHVILI; STANDEN, 2002). *Archidendron jiringa* possui uma lectina capaz de impedir o crescimento de *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* (CHARUNGCHITRAK et al., 2011). O crescimento de *B. subtilis* também foi impedido pelas lectinas de *Phthirusa pyrifolia* (COSTA et al., 2010) e *Bothrops leucurus* (NUNES et al., 2011). A lectina de *Aplysina lacunosa* é capaz de bloquear o crescimento de *E. coli* (KAZANJIAN; FARIÑAS, 2006).

2.3.4.1 Atividade antinutricional das lectinas

As lectinas são proteínas promissoras para o desenvolvimento de novos fármacos, por outro, podem ser consideradas tóxicas ao consumo. Devido ao fato de se ligarem a carboidratos, as lectinas reconhecem e se ligam a receptores glicosilados presentes nas células intestinais interfere nos processos de digestão, absorção e utilização de nutrientes, devido à diminuição do transporte de nutrientes, além de possuírem a capacidade de inibir várias enzimas intestinais, devido a esta especificidade (VASCONCELOS; OLIVEIRA, 2004).

Quando ingeridas, as lectinas não são degradadas durante sua passagem pelo trato digestivo, favorecendo a sua ligação aos carboidratos presentes nas microvilosidades, que por sua vez, provocará interferência na absorção e utilização de nutrientes, levando a uma rápida

perda de peso e inibição no crescimento de animais experimentais. No tocante a absorção, a endocitose e posterior exocitose das lectinas na mucosa intestinal, a mesma sendo liberada na corrente sanguínea, acarreta efeitos deletérios e sistêmicos acometendo vários órgãos e tecidos. Entretanto, o exato mecanismo de ação das lectinas ainda não está totalmente esclarecido (VASCONCELOS; OLIVEIRA, 2004).

As alterações da função fisiológica causada por lectinas no intestino sugerem ser causadas por instabilidade aos processos digestivos e a especificidade pelas células da mucosa intestinal em diferentes regiões. Contudo, em alimentos processados não há evidências de que as lectinas presentes sejam tóxicas ao homem devido a esta proteína ser termolábil (DESHPANDE, 1992, SILVA; SILVA 2000),

Os possíveis efeitos adversos de lectinas em humanos não estão esclarecidos por completo, no entanto, podem ser constatados em experimentos *in vitro*. Sob este aspecto, as alterações observadas no intestino e em outros órgãos de camundongos, ratos e porcos demonstram que as lectinas são capazes de provocar reações específicas importantes sob o aspecto de segurança alimentar (PEUMANS; VAN DAMME, 1995).

2.4 COMPOSTOS COM AÇÃO ANTIOXIDANTE PRESENTE NOS VEGETAIS

Frutas e hortaliças são recomendadas na alimentação humana devido à riqueza em compostos nutricionais e em substâncias com ação antioxidante, as quais exercem ação protetora contra a evolução de processos degenerativos que conduzem às doenças e ao envelhecimento precoce (BARCIA, 2009).

Pesquisas sobre as relações entre antioxidantes e prevenção de doenças não transmissíveis, como as doenças cardiovasculares, câncer, diabetes tem aumentado acentuadamente nos últimos anos devido aos efeitos de radicais livres no organismo (KUBOLA;SIRIAMORNPNUN, 2008). Os radicais livres são moléculas orgânicas ou inorgânicas e átomos, que contêm um ou mais elétrons não pareados, instáveis e muito reativos, que causam danos às células e patologias relacionadas como artrite, catarata, câncer, diabete, disfunção cerebral, aterosclerose, doenças cardíacas e neurodegenerativas, dentre outras (AYRES et al., 2009)

Os vegetais produzem vários compostos antioxidantes a fim de neutralizar as espécies reativas de oxigênio, quem incluem os radicais livres, como radicais ânion superóxidos, radicais hidroxilas e espécies não radicais-livres (LU;FOO, 1995; HUDA-FAUJAN et al., 2007). Entre os antioxidantes naturais encontram-se tocoferóis, ácidos fenólicos

(RAMALHO;JORGE, 2006), carotenoides (B-caroteno e vitamina A) (RAJU et al., 2007), vitamina C, clorofilas e flavonoides (COUTO;CANNIATTI-BRAZACA, 2010).

Os compostos fenólicos são compostos cuja estrutura contém pelo menos um anel aromático ligado a um ou mais grupamentos hidroxila (SOARES, 2002). São comumente encontrados em partes comestíveis originados pelo metabolismo secundário destas e já foram relatado possuírem efeitos biológicos, incluindo atividade antioxidante (HUDA-FAUJAN et al., 2009)

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos é principalmente devido as suas propriedades de óxido-redução, as quais podem desempenhar um importante papel na absorção e neutralização de radicais livres, quelando o oxigênio ou decompondo os peróxidos (ANTUNES; CANHOS, 1984; BRENNAN; PAGLIARINI, 2001; ZHENG;WANG, 2001).

Estes compostos são cada vez mais interessantes para a indústria alimentícia, por retardar a degradação oxidativa lipídica, melhorando assim a qualidade e valor nutricional do alimento (HUDA-FAUJAN et al., 2009). Estudos epidemiológicos já mostraram que o consumo regular de alimentos ricos em compostos fenólicos está associado à redução de doenças cardiovasculares, neuro-degenerativas, e certos tipos de câncer (HASLAM, 1996; HAVSTEEN, 2002; ROMANI et al., 2005).

Apesar dessa importância, são limitados os dados sobre compostos fenólicos presentes no fruto do quiabo. Arapitsas (2008) analisando o fruto e suas sementes demonstrou que estes são ricos em compostos fenólicos, com abundante presença de derivados de quercetinas e catequinas nas sementes, pele do fruto, presença de derivados de quercetina e ácido hidroxicinâmico. No entanto, são escassas as pesquisas voltadas para a quantificação destes compostos em folhas de quiabo.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar nutricionalmente e antinutricionalmente as folhas de *Abelmoschus esculentus* submetidas a tratamentos térmicos, caracterizar a lectina presente em folhas de *Abelmoschus esculentus*, bem como realizar atividade microbiológica da fração proteica que contém a lectina.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição nutricional e antinutricional em folhas frescas, branqueadas, cozidas e liofilizadas;
- Detectar e caracterizar a lectina presente em extratos proteicos de folhas de *Abelmoschus esculentus*;
- Determinar o açúcar específico da lectina presente nos extratos das folhas, através de teste de inibição da atividade hemaglutinante utilizando diferentes açúcares e glicoproteínas;
- Verificar a presença de saponina através de testes da atividade hemolítica;
- Quantificar o teor de taninos;
- Verificar o efeito do calor e do pH sobre a inativação da lectina presente nos extratos proteicos de folhas de *Abelmoschus esculentus*;
- Verificar a inativação dos fatores antinutricionais após o branqueamento e cocção, bem como a alteração de pH;
- Quantificar os compostos fenólicos presentes;
- Realizar atividades biológicas com a fração proteica do extrato da folha de *Abelmoschus esculentus*.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAL VEGETAL

Folhas de *Abelmoschus esculentus*, popularmente conhecido como quiabo, provenientes da propriedade Assentamento Padre Gino no município de Sapé, Paraíba, Brasil, foram adquiridas junto a feira agro-ecológica da Universidade Federal da Paraíba e empregadas na parte experimental do presente trabalho científico.

4.2 CLASSIFICAÇÃO FILOGENÉTICA

O quiabeiro possui a seguinte classificação filogenética: Reino: Plantae; Divisão: Magnoliophyta; Classe: Magnoliopsidia; Ordem: Malvales; Família: Malvaceae; Gênero: *Abelmoschus*; Espécie: *Abelmoschus esculentus*

4.3 HEMÁCIAS HUMANAS E DE COELHOS

Foram utilizados hemácias humanas do sistema A, B e O fornecidas pelo Hemocentro da Paraíba e hemácias de coelhos, obtidos do Departamento de Biologia Molecular (DBM), Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

4.4 PREPARO DO MATERIAL VEGETAL

As folhas obtidas conforme item 4.1 foram selecionadas, lavadas abundantemente em água corrente e destilada, congeladas, liofilizadas e moídas em moinho elétrico tipo Willey, obtendo-se uma farinha fina. Esta foi sucessivamente lavada com hexano para delipidação, seca ao ar livre e armazenada hermeticamente em frascos.

Os tratamentos utilizados para as análises de composição centesimal e de minerais foram: frescas (*in natura*); branqueamento por 2 minutos em água destilada fervente; cocção por 20 minutos em água destilada, assim como liofilização à -36°C. Posteriormente, as folhas frescas, branqueadas e cozidas foram secas à temperatura 25°C e armazenadas hermeticamente em frascos.

4.5 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E VALOR ENERGÉTICO

A composição centesimal (umidade, cinzas, proteínas, lipídeos) das folhas frescas, branqueadas, cozidas e liofilizadas de *Abelmoschus esculentus* foi determinada de acordo com os métodos da Associação Oficial de Químicos Analistas (AOAC, 2002). Os teores de carboidratos foram determinados por diferença entre os percentuais dos demais componentes, conforme Tramonte et al. (2011). A determinação de fibras totais foi segundo metodologia de Van de Kamer; Van Ginkel (1952).

4.5.1 Umidade

A umidade foi estimada pelo método de secagem em estufa 105°C por 24 horas (AOAC, 2002), de uma amostra representativa de 1 g para folhas frescas, branqueadas e cozidas e liofilizadas em cápsulas de alumínio.

4.5.2 Cinzas

O teor de resíduo mineral fixo foi determinado pelo método de cinza seca (AOAC, 2002). Para tanto, foi tomada para carbonização em cadinhos de porcelana 2 g de folhas frescas, branqueadas e cozidas e 1,5 g de folha liofilizada e posterior incineração em forno mufla 550°C por 5 horas, sendo em seguida guardados em estufa 105°C por uma hora e posteriormente 30 minutos em dessecador.

4.5.3 Determinação de Proteínas

O teor de nitrogênio total foi determinado de acordo com a metodologia de Kjeldahl utilizando-se 1 g das amostras frescas, branqueadas e cozidas e 0,5 g da amostra liofilizada. A conversão para o conteúdo proteico foi através do fator 6,25. Esse método foi realizado em três etapas: Digestão das amostras em 5 mL de H₂SO₄ (ácido sulfúrico) concentrado em presença de 1,5 g do catalisador, que resulta em conversão do nitrogênio em (NH₄)₂SO₄ (sulfato de amônio); Destilação, onde o sulfato de amônio é tratado com NaOH (Hidróxido de Sódio), liberando a amônia em uma solução receptora (ácido bórico a 2%) e por fim a titulação com solução padrão de ácido clorídrico (HCL) 0,02N com fator conhecido (0,9976).

4.5.4 Determinação de Lipídeos

A concentração total de lipídeos nas amostras foi determinada pelo método Bligh-Dyer. Trata-se de um método de extração com solvente a frio, no qual se utiliza a mistura de três solventes, clorofórmio-metanol-água. Foram pesados 10 g de cada amostra. Em um erlenmeyer de 250 mL, foram adicionados 50 mL de metanol, 25 mL de clorofórmio e 10 mL de água destilada sobre as amostras de folha de quiabo. Homogenizou-se por 4 minutos em agitador magnético. Após completa homogeneização, uma única fase foi obtida e procedeu-se à adição de mais 10 mL de clorofórmio e 10 mL de sulfato de sódio 1,5%, seguida de agitação por 2 minutos. Em seguida, para separação das fases, centrifugou-se a 1000 rpm por 2 minutos e a camada superior foi descartada, retirou-se alíquotas de 15 mL filtrando-as em papel de filtro Watmann nº1 com 1 g de Na₂SO₄ (sulfato de sódio) anidro até a obtenção de uma solução límpida. Pipetou-se 5 mL do filtrado e colocou-se em tubos de ensaio, em triplicata. A solução foi incubada em estufa com circulação de ar 105°C até peso constante.

4.5.5 Carboidratos Totais

O teor de carboidratos foi obtido pela diferença entre 100g da amostra e o somatório dos outros componentes (proteínas, lipídeos, fibras, umidade e cinzas), conforme metodologia descrita por Tramonte et al. (2011).

4.5.6 Determinação de Fibras Totais

A determinação de fibras cruas foi feita pelo método conforme descrito por Van de Kamer; Van Ginkel (1952). Dessa forma, a 2 g da amostra seca e desengordurada, adicionou-se 2 mL de TCA (ácido tricloroacético), 5 mL de ácido nítrico e 70 mL de ácido acético a 70%. A mistura foi digerida sob refluxo por 30 minutos, filtrada em cadinho de vidro com fundo sinterizado, lavado sucessivas vezes com água destilada quente e seco em estufa 105°C por 4 horas.

4.5.7 Determinação do valor energético

O valor energético foi calculado pela soma e multiplicação dos macronutrientes (proteína, carboidrato, lipídio) pela quantidade de energia fornecida por cada um (%proteína x

4 Kcal + %lipídios x 9 Kcal + % carboidratos totais x 4 Kcal) expresso em Kcal/100g (BRASIL, 2000).

4.6 DETERMINAÇÃO DE MINERAIS

As concentrações de magnésio (Mg), cálcio (Ca) e potássio (K) obtidas da solução de cinzas foram mensuradas por meio da técnica de espectrometria de absorção atômica, conforme preconizado pelo IAL (2008).

4.7 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE

4.7.1 Determinação da Atividade Hemaglutinante

Os ensaios de atividade hemaglutinante (AH) dos extratos proteicos de folhas de *Abelmoschus esculentus* foram feitos segundo a metodologia descrita por Correia e Coelho (1995). Para tanto, a AH dos diferentes extratos proteicos, diluídos em soluções tamponantes Tris-HCl 0,1 M à pH 7,4 com NaCl 0,15M, Glicina-HCl 0,1M com NaCl 0,15M, pH2,6, Glicina NaOH 0,1M com NaCl 0,15M pH9,0, e NaCl 0,5M foi determinada por meio de diluições duplo-seriadas. Nesta, aos tubos foram adicionados 100 µL de NaCl 0,15 M, e logo a seguir adicionou-se no primeiro tubo 100 µL do extrato da amostra e procedeu-se com diluições duplas seriadas. Após a diluição da amostra ao longo dos tubos, 100 µL de suspensão de hemácias de coelho e humanas do sistema ABO a 3% foi adicionado a cada um dos tubos. O experimento foi incubado em estufa a 37°C por 30 minutos e a presença da AH foi determinada macroscopicamente.

Os resultados foram expressos em número de unidades hemaglutinantes (UH) que é calculado como sendo o inverso do título da maior diluição, na base 2 que ainda apresentou aglutinação visível de hemácias em atividade específica da lectina obtida pelo cálculo de UH/mgP (KILPATRICK; YEOMAN, 1978).

4.7.2 Especificidade por açúcares

A especificidade da lectina por açúcares foi determinada de acordo com o método descrito por Moreira e Perrone (1977). Assim, uma alíquota de 100 µL de NaCl 0,15M foi distribuída nos tubos de ensaio, em seguida adicionou-se 100 µL de carboidratos 0,5 M ao

primeiro tubo e realizou-se diluições duplo-seriadas. Em seguida foram adicionados 100 µL da amostra com lectina, a mistura foi incubada a 37°C por 30 minutos. Após este tempo, foi adicionado 100 µL de uma suspensão de hemácias de coelhos a 3%. A mistura foi deixada em estufa 37°C por 30 minutos. A determinação da inibição por açúcar foi realizada macroscopicamente.

Foram utilizados os seguintes carboidratos: galactose, L-sorbose, D-fucose, fetuína, manose, glicose, fucoidana, carragenina, metil- α -D-glicopiranosídeo, mucina, arabinose, D-frutose e xilose.

4.8 DOSAGEM DE PROTEÍNAS

A determinação do teor de proteínas solúveis nos quatro tratamentos e da fração 30% foi feita pelo método descrito por Bradford (1976). A concentração de proteína foi avaliada utilizando a albumina sérica bovina como padrão. O método consiste em retirar 100µL do extrato bruto obtido anteriormente por extração de proteínas solúveis e adicionar 2,5 mL do reagente de Bradford. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 595 nm após 10 minutos do início da reação.

4.9 FRACIONAMENTO POR SULFATO DE AMÔNIO

A lectina presente na folha foi extraída com o tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 7,4 com NaCl 0,15M, na relação 1:20, por 3 horas em agitação constante a 100 rpm. A mistura foi centrifugada a 5000 rpm por 20 minutos a 4°C. Ao extrato proteico adicionou-se sulfato de amônio (16,4g/100mL) para a faixa de concentrações de 30%, segundo metodologia descrita por Scopes (1994). As amostras com sulfato de amônio foram deixadas em repouso por 24 horas, posteriormente centrifugadas a 4°C, a 5000 rpm por 20 minutos e o precipitado exaustivamente dialisado contra água destilada e liofilizado.

4.10 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

4.10.1 Efeito do pH sobre a atividade hemaglutinante

Alíquotas de 1 mg da fração 30% contendo a lectina, foram diluídas em tampão Tris 0,1M com os pH variando de 2,0 a 13,0. Em seguida as misturas foram incubadas em estufa

37°C por 30 minutos e a atividade hemaglutinante foi realizada com hemácias de coelhos a 3%.

4.10.2 Teste de Termoestabilidade

O efeito da temperatura sobre a lectina das folhas de *Abelmoschus esculentus* foi realizado com a fração 30% a qual foi diluída com Tris-HCl 0,1 M à pH 7,4 com NaCl 0,15M na concentração 2:1, posteriormente foi aquecida em termociclador com temperaturas que variaram de 40 à 100 °C. A cada 10 minutos que correspondeu à variação de 10 °C foi retirada uma alíquota de 100µL e realizado atividade hemaglutinante como descrito anteriormente (item 4.7.1). A atividade hemaglutinante foi testada com hemácias de coelho a 3% em duplicata e em diluição seriada.

4.10.3 Efeito de Enzimas Proteolíticas

A resistência a hidrólise da lectina presente em extratos proteicos de folha do *Abelmoschus esculentus* foi testada frente à enzima proteolítica tripsina. Dessa forma, um mg da fração 30% foi diluída em 900µL de NaCl 0,15M e em seguida adicionado 100 µL da enzima tripsina (1mg/mL). A mistura foi incubada por 30 minutos em estufa 37°C. Após esse tempo realizou-se ensaio de atividade hemaglutinante com hemácias de coelhos a 3%.

4.10.4 Estabilidade a Agentes Redutores e Desnaturantes

O efeito do agente redutor β-mercaptoetanol sobre a atividade hemaglutinante e do agente desnaturante uréia foi determinado pelo método de Coelho (2002) com modificações. A fração 30% foi diluída (2mg/mL) do β-mercaptoetanol 10 mM (Tris- HCl pH 7,4 com NaCl 0,15M) e incubados por 30 minutos em estufa 37°C. Após esse tempo, realizou-se atividade hemaglutinante com eritrócitos de coelhos a 3% nos extratos proteicos previamente tratados.

Para testar o efeito do agente desnaturante sobre a lectina presente nos extratos proteicos das folhas, utilizou-se uma alíquota de 2 mg da fração 30% diluída em uréia 8 M (em Tris 0,1M 7,4 com NaCl 0,15M) e incubada em estufa 37°C por 30 minutos. Os ensaios de hemaglutinação foram feitos conforme protocolo mencionado anteriormente.

Foram feitos os controles da hemaglutinação (fração sem agente desnaturante, salina e eritrócitos a 3%), da uréia (100µL da solução uréia 8M, 100µL de NaCl 0,15 M e 100µL de

eritrócitos de coelhos a 3%) e do sangue (100 μ L de NaCl 0,15 M e 100 μ L de eritrócitos de coelhos a 3%).

4.11 DETERMINAÇÃO DO TEOR TOTAL DE TANINOS

Os taninos totais presentes nas folhas frescas, branqueadas, cozidas e liofilizadas foram determinados pelo método de Ranganna (1977), utilizando o reagente Folin-Dennis.

4.12 DETECÇÃO DE SAPONINAS POR HEMÓLISE

Pesou-se 6 g de ágar e dissolveu-se em 200 mL de solução tamponada com fosfato bibásico 25 mM pH 7, a 60°C . Retirou-se 5 mL da solução de ágar homogeneizou com 0,5 mL de hemácias de coelhos a 3%. O conteúdo foi homogeneizado e colocado na placa de petri em temperatura ambiente para solidificar. Após solidificação, adicionou-se 20 e 40 μ L das amostras nos poços. O resultado foi verificado pela presença de um halo hemolítico após 30 minutos e overnight. Como controle foi utilizado à fração de sementes de *Luffa operculata* que apresentou o halo hemolítico.

4.13 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS

4.13.1 Determinação de Fenólicos Totais

Para a determinação de fenóis totais foram pesadas amostras de 5 mg, 12 mg e 25 mg de farinha de folha de quiabo liofilizada, com objetivo de preparação de um extrato aquoso. Adicionou-se 3 mL de etanol 50%, solubilizou-se, filtrou-se em filtro de papel e completou-se para volume final de 5 mL, para obtenção das concentrações de 1:1, 2,5:1 e 5:1.

Os fenóis totais foram determinados segundo metodologia de Rufino et al., (2007), utilizando como reagente o Folin-Ciocalteu, usando ácido gálico como solução estoque, que quando na presença de compostos fenólicos muda sua coloração de amarela para azul, e a intensidade da coloração azul é maior quanto mais compostos fenólicos houverem na solução. Adicionou-se 0,05 mL da solução da folha liofilizada a 3,95 mL de água e 0,25 mL do reagente Folin-Ciocalteu. Posteriormente foi acrescentado 0,75 mL de carbonato de sódio. A mistura foi incubada a 40° C por 30 minutos. A leitura foi feita em UV/VIS, com 765 nm.

4.14 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA FRAÇÃO PROTEICA

4.14.1 Atividade Antibacteriana

A atividade antibacteriana da fração 30% da folha de quiabo foi realizada utilizando-se o método de difusão em disco realizado segundo o método M2-A8 preconizado pelo NCCLS (2003). Três a cinco colônias bacterianas listadas na Tabela 1, com igual perfil morfológico, foram selecionadas com auxílio de uma alça metálica. As colônias foram adicionadas ao NaCl 0,15 M um tubo de ensaio estéril. A turbidez do inóculo foi ajustada visualmente com o tubo 0,5 da escala de McFarland ($1-2 \times 10^8$ UFC/mL). Para o referido experimento utilizou-se o meio de cultura LB (Luria Bertani). Um *swab* estéril foi mergulhado no inóculo e posteriormente realizou-se o esfregaço sob toda a placa. Após secagem da superfície do ágar, discos de papel estéreis foram colocados sobre a placa. A fração proteica (30%) foi diluída em fosfato 0,1 M com NaCl 0,15 M pH 7,4 tendo sido preparadas (20 mg/mL) que foram filtradas em filtro millipore (0,22 μ). A partir desta, foram preparadas outras duas concentrações de CFL (10 mg/mL e 5 mg/mL). Adicionou-se 10 μ L de cada diluição sobre um disco de papel (Concentrações de 0,2 mg – 0,1 mg – 0,05 mg de lectina/disco). O tampão de diluição Tris-HCl 0,1 M com NaCl 0,5 M pH 7,4 foi usado como controle. As placas foram incubadas em estufa 37°C por aproximadamente 15 horas. A inibição do crescimento foi determinada macroscopicamente através da presença de halos de inibição.

Tabela 1 - Linhagens bacterianas oriundas da CCT – Coleção de Culturas Tropicais e ATCC – American Type Culture Collection

Bactérias	Número do registro
<i>Bacillus subtilis</i>	CCT 0516
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 2536
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 25619
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213

4.14.2 Determinação da Atividade Antifúngica pelo Método de Difusão em Disco

O teste de atividade antifúngica foi realizado segundo Bauer et al. (1966) citados por Silva (2004). As linhagens (TABELA 2) de fungos foram cedidos pelo Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmaceuticas do CCS/UFPB. Foram preparadas suspensões de $1-5 \times 10^4$ de esporos (tubo 0,5 da escala de Mac Farland) preparada em solução salina a 0,9% e contados em câmara de Neubauer com o uso de microscópio. Posteriormente, foram inoculados com *swab* em placas de Petri contendo SAB. Após o desenvolvimento do fungo, cada placa recebeu 5 discos de papel de filtro ($\varnothing=4\text{mm}$) esterilizados (121°C , por 20min), distribuídos a 2,5 cm do centro da placa de maneira equidistante e umedecido (10 μL /disco de papel) com a fração proteica 30% na concentração de 20 e 10 mg/mL.

O desenvolvimento do parasita foi acompanhado e fotografado periodicamente. As placas foram incubadas a uma temperatura de 35°C . Os resultados foram avaliados de acordo com a formação de halos de inibição do crescimento microbiano em milímetros em torno dos discos após 7 dias. Todo o procedimento de preparo do ensaio foi realizado em condições estéreis em capela de fluxo laminar. Os experimentos foram realizados em duplicata e os resultados expressos em média aritmética.

Tabela 2 - Linhagens de fungos dermatófitos

Fungos	Número do registro
<i>Microsporum canis</i>	LM 62
<i>Microsporum gypseum</i>	LM 100
<i>Trichopyton mentagrophytes</i>	LM 08
<i>Trichopyton rubrum</i>	ATCC 1683

REFERÊNCIAS

- ADELAKUN, O. E.; et al. Chemical composition and the antioxidative properties of Nigerian Okra Seed (*Abelmoschus esculentus* Moench) Flour. **Food and Chemical Toxicology**, Nigeria, v.47, n.6, p.1123–1126, 2009.
- ADEYEYE, E.I.; OMOLAYO, F.O. Chemical composition and functional properties of leaf protein concentrates of *Amaranthus hybridus* and *Telfairia occidentalis*. **Agriculture and Biology Journal of North America**, Nigeria, v. 2, n.3, 2011.
- AGARWAL,M.; RAJANI, S.; MISHRA, A. Utilization of okra gum for treatment of tannery effluent. **International Journal of Polymeric Materials**, India, v.52, p.1049–1057, 2003.
- ANTHONY, N.B; et al. Effects of urease inhibitor and ceiling fans on ascites in broilers. 1. Environmental variability and incidence of ascites. **Poultry Science**, Arkansas, v.73, n.6, p.801- 809, 1994.
- ANTUNES, A. J.; CANHOS, V. P. **Aditivos em alimentos**. São Paulo: FTPT, 1984.
- AOAC. Association of Official Agricultural Chemists. **Official Methods of Analysis**. Whashington, 1995.
- ARAPITSAS, P. Identification and quantification of polyphenolic compounds from okra seeds and skins. **Food Chemistry**, v.110, n.4, p.1041-1045, 2008.
- AREGHEORE, E.M. Effect of *Yucca schidigera* saponin on the nutritive value of urea-ammoniated maize stover and its feeding value when supplemented with forage legume (*Calliandra calothyrsus*) for goats. **Small Ruminant Research**, v.56, p.95-102, 2005.
- ARRUDA, P.V.; et al. Glicerol: um sob-produto com grande capacidade industrial e metabólica. **Revista Analytica**, n.26, 2007.
- APABLAZA, G.; et al. Control de oidio de las cucurbitaceas con saponinas presentes en extractos de quillay (*quillaja saponaria*). **Ciencia e Investigacion Agraria**, Chile, v.29, n.2, p.83-90, 2002.
- ASANO et al. Characterization of haze-forming proteins of beer and their roles in chill haze formation. **American Society of Brewing Chemists Journal**, v.40, n.4, 1982.

AYRES, M.C.C.; et al. Chemical constituents and antioxidant activity from leaves extracts of *Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc. **Quimica Nova**, São Paulo, v.32, n.6, 2009.

BARCA, A.M.C.; VÁZQUEZ-MORENO, L.. ROBLES-BURGUEÑO, M.R. Active soybean lectin in foods: isolation and quantification. **Food Chemistry**, Barking, v.39, n.3, p.321-327, 1991.

BARCIA, M.T. **Composição Centesimal e de Fitoquímicos em Jambolão (*Syzygium cumini*)**. Pelotas, RS, 2009, originalmente apresentado como dissertação de mestrado, Universidade Federal de Pelotas, 2009.

BARILE, E.; et al. Structure– activity relationships for saponins from *Allium hirtifolium* and *Allium elburzense* and their antispasmodic activity. **Planta Medica**, v.71, n.11, 2005.

BARRADA-NETTO, M.; et al. In vivo protective effect of the lectin from *Canavalia brasiliensis* on BALB/c mice infected by *Leishmania amazonensis*. **Acta tropica**, v.60, n.4, p.237-250, 1996.

BATISTA, H.L. **Atividade microbiana de extratos vegetais de plantas do estado do Tocantins**. Fortaleza, CE, 2008, originalmente apresentado como dissertação de mestrado, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

BENJAWAN, C.; CHUTICHUDET, P.; CHANABOON, T. Effect of chemical paclobutazol on growth, yield and quality of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) harlium cultivar in Nothearts Thailand Pak. **Journal Biology Science**, v.10, p.1028-1035, 2007.

BORJES, L.C.; CAVALLI, S.B.; PROENÇA, R.P.C. Proposal of vegetable classification considering nutritional and sensory characteristics and preparation techniques. **Revista de Nutrição**. v.23, n.4, p.645-654, 2010.

BORSOI, M.A. **Nutrição e dietética: noções básicas**, São Paulo: SENAC, 2001.

BRADFORD, M.M.A. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, n.1, p.248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC n. 94 de 01 de novembro de 2000. Regulamento Técnico para Rotulagem Nutricional Obrigatória de Alimentos e Bebidas Embalados. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 03 nov. 2000

BRENNAN, O.V.; PAGLIARINI, E. Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.49, n.10, p.4841-4844, 2001.

BRUNETON, J. Triterpenes and Steroids. **Journal of Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants**, v.2, p.661-719, 1999.

CANNAS, A. **Taninn, 2012**. Disponível em :
em:<<http://www.sheepgoatmarketing.org/plants/toxicagents/tannin>>. Acesso em: 15 de março de 2012.

CARVALHO, C.C.C.R.; CRUZ, P.A.; FONSECA, M.M.R.; XAVIER-FILHO, L. Antibacterial properties of the Extract of *Abelmoschus esculentus*. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**. v.16, p.971-977, 2001.

CASTRO, M.M.; GODOY, A.R.; CARDOS, A.I.I. Qualidade de sementes de quiabeiro em função da idade e do repouso pós-colheita dos frutos. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.5, p.1491-1495, 2008.

CAVADA, B. S.; et al. Revisiting *proteus*: Do minor changes in lectin structure matter in biological activity? Lessons from and potential biotechnological uses of the Diocleinae subtribe lectins. **Current Protein and Peptide Science**, v.2, n.2, p.123-135, Jun. 2001.

CHARUNGCHITRAK, N. S.; PETSOM, A.; SANGVANICH, P.; KARNCHANATAT, A. Antifungal and antibacterial activities of lectin from the seeds of *Archidendron jiringa*. **Food Chemistry**, v.126, n.3, p.1025-1032, 2011.

CHANG, M.J.; et al Cowpeas tannins related to cultivar, maturity, dehulling and heating. **Journal of Food Science**, v.59, n.5, p.1034-1036, 1994.

CHEN, J. et al. A novel sialic acid-specific lectin from *Phaseolus coccineus* seeds with potent antineoplastic and antifungal activities. **Phytochemistry**, v.16, n.4, 2009.

COELHO, M. B. **Isolamento e caracterização de uma lectina de sementes de *Annona coriacea* e seu efeito sobre os insetos *Callosobruchus maculatus* e *Anagasta kuehniella*.**

Campinas, SP, 2002. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, 2002.

CORREA, G.; et al. Antispasmodic saponins from bulbs of red onion, *Allium cepa* L Var. Tropea. **J Agric Food Chem**, v.53, 2005

CORREA, M.T.S.; COELHO, L.C.B.B. Purification of a glucose/mannose specific lectin, isoform 1, from seeds *Cratylia mollis* Mart. (Camaratu bean). **Applied Biochemistry and Biotchnology**, v.55, n.3, 1995.

COSTA, S.M et al. Comparación del contenido de nutrientes en hoja y tallo. Evaluación de los carotenoides presentes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.1, 2003.

COSTA, R. M. P. B. VAZ, A. F. M. OLIVA, M. L. V. COELHO, L. C. B. B. CORREIA, M. T. S. CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. A new mistletoe *Phthirusa pyrifolia* leaf lectin with antimicrobial properties. **Process Biochemistry**, n.45, p.526–533, 2010.

COUTO, M.A.L.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Quantification of vitamin C and antioxidant capacity of citrus varieties. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, 2010.

CURCHO, M.R.S.M. **Avaliação de micro e macroelementos**. São Paulo, SP, 2009. Originalmente apresentado como dissertação de mestrado, Autarquia associada à Universidade de São Paulo, 2009.

DAMME, E.J.M.V.; PEUMANS, W.J., BARRE, A. Plant Lectin: A composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.17, n°6, p. 575-692,1998.

DAS, A.K.; MUKHERJEE,I.; DAS, S>K. Dissipation of Flubendiamide in/Okra [*Abelmoschus esculenta* (L.) Moench] Fruits. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 88, n.3, 2012.

DENADAI, S.M.S. **Estudo nutricional *in vivo* e *in vitro*, com ênfase em proteínas antinutricionais e tóxicas de amêndoas de sapucaia (*Lecythis pisonis* Camb.)**. Campo Grande, MGS, 2006. Originalmente apresentada como tese de doutorado, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2006.

DESHPANDE, S.S. Food legumes in Human nutrition: a personal perspective, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. Boca Raton, v.32, n.4, p.333-363, 1992.

DIAS, A.C.P.; et al, Avaliação do consumo de hortaliças não convencionais pelos usuários das Unidades do Programa Saúde da Família (PSF) de Diamantina –MG. **Alimentação e Nutrição**, v.16, n.3, 2005.

DUBOIS, M.; et al. Colorimetric Method of determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, n.3, 1956.

DUNDER, R.J. **Avaliação das atividades analgésica e antiinflamatória da fração hexânica *Agave sisalânica***. Campinas, SP, 2009. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, 2009.

ELDIN, S.; DUNFORD, A. **Fitoterapia na atenção primária a saúde**, São Paulo, Ed. Manole, 2001, p.157.

EVERTS, I.; VILLMANN, C.; HOLLMANN, M. N-glycosylation is not a prerequisite for glutamate receptor function but is essential for lectin modulation. **Molecular Pharmacology**, v 52, p.861-873, 1997.

FANTINNI, A.P.; et al. Iron availability in food mixtures including foods with high vitamin C and cysteine contents. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.2, 2008.

FAO/WHO(Food and Agricultural Organization/ World Health Organization of the United Nations). **Protein quality evaluation**: report of a joint FAO/WHO expert conslaion held in Bethesda, MD, USA, 1991.

FAROMBI, E.O. African indigenous plants with chemotherapeutic potentials and biotechnological approach to the production of bioactive prophylactic agents. **African Journal Biotechnology**, v.2, n.12, p.662-671, 2003.

FIGUEIRA, F.A.R. **Novo Manual de Olericultura**: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças,São Paulo: UFV, 2000, p.377-382.

FRANCIS, G; et al. The biological action of saponins in animal systems: a review. **British Journal of Nutrition**. v.88, n.6, p.587-605, 2002.

FRUTOS, P.; et al. Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value.**Animal Feed Science and Technology**. v.92, 2002.

GAIDAMASHVILI, M. STADEN, J. V. Interaction of lectin-like proteins of South African medicinal plants with *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.80, p.131-135, 2002.

GIUNTINI, E.B.; LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W. Composição de alimentos: um pouco de história. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**.v.26, n.3,2006.

GOMEZ, M. R. Metal content monitoring in *Hypericum perforatum* pharmaceutical derivatives by atomic absorption and emission spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.34, n.3, p.569-576, 2004.

GRIFFITHS, D. W.; BIRCH, A. N. E.; HILLMAN, J. R. Antinutritional compounds in the *Brassicaceae*: analysis, biosynthesis, chemistry and dietary effects. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Invergowrie, v. 73, n. 1, p. 1-18, 1998.

GUSTAFSSON, E.L.; SANDBERG, A.S. Phytate reduction in brown beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Food Science**, v. 60, n.4, p. 149-152. 1995.

HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology and Therapeutics**, v.96, n.2-3, 2002.

HEUGTEN, E. Van. **Micotoxins and other antinutritional factors in swine feeds**. In: LEWIS, A. J.; SOUTHERN, L. L. (Ed.). *Swine Nutrition*. Boca Raton: CRC Press LLC, 2001. p. 563-584

HUDA-FURJAN, N.; NORIHAN, A.; NORRAKIAH, A.S.; BABJI, A.S. Antioxidant activity of plants methanolic extracts containing phenolic compounds. **Full Length Research Paper**, v.8, n.3, p.484-489, 2007.

HAGERMAN, A.E.; et al. Tannin chemistry in relation to digestion. **J. Range Manag.**, v.45, p.57-62, 1992.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: Possible modes of action. **Journal of Natural Products**, v.59, n.2, p.205-215, 1996.

HUDA-FAUJAN, N.; NORIHAN, A.; NORRAKIAH, A.S.; BABJI, A.S. Antioxidant activity of plants methanolic extracts containing phenolic compounds. **African Journal of Biotchnology**, v.8, n.3, 2009.

HUSSAIN, J.; et al. Proximate and essential nutrients evaluation of selected vegetables species from Kohat region, Pakistan. **Pakistan Journal of Botany**, v.42, n.4, 2012.

JAIME, P.C.; MONTEIRO, C.A. Fruit and vegetable intake bu Brazilian adults. **Cadernos de Saúde Pública**, v.21, 2005.

JEAN-BAIN, C. Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins. **Revue Méd. Vet.**,v. 149, n. 10, 1998.

KARAKOLTSIDIS, P. A., & CONSTANTINIDES, S. M. Okra seeds: A new protein source. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.23(6), p.1204–1207, 1975

KHATTAB, R.Y.; ARNTFIELD, S.D. Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments Antinutritional factors. **Food Science and Technology**, v. 42, n.6, 2009.

KAYA, S; ERDOGAN, Z; ERDOGAN, S. Effect of different dietary levels of Yucca schidigera powder on the performance, blood parameters and egg yolk cholesterol of laying quails. **Journal of Veterinary Medicine**, v.50, p.14-17, 2003.

KAZANJIAN, A. FARIÑAS, M. Actividades biológicas del extracto acuoso de la esponja *Aplysina lacunosa* (Porifera: Aplysinidae). **Revista de Biología Tropical**. v.54, p.189-200, 2006.

KILPATRICK, D.C. Animal lectins: a historical introduction and overwieu. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1572, p.187-197, 2002.

KUBOLA, J.; SIRIAMORNUN, S. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. **Food Chemistry**, v.110, 2008.

LACAILLE-DUBOIS, M. A.; WAGNER, H. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. **Phytotherapy**, v.2, p.363-386, 1996.

LEITE, J.F.M.; et al. Nutritional value and antinutritional factors of foliaceous vegetable *Talinum fruticosum*. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v.68, n.3,2009.

LEITE, M.C.A. **Caracterização nutricional e atividade biológica de folhas orgânicas de cenoura (*Daucus carota* L.)**. João Pessoa, PB, 2010. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Federal da Paraíba, 2010.

LIENER, I.E. Phytohemagglutinins: their nutritional significance, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington DC, v.22, n.1, p.17-22, 1974.

LIENER, I.E. Implications of antinutritional components in soybean foods, **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. Boca Raton, v.34, n.1, p.31-67, 1994.

LIMA, L.F.O. **Caracterização parcial e avaliação da atividade biológica de exopolissacarídeos produzidos por *Agaricus brasiliensis* e bactéria láctica em fermentação submersa de gêneros isolados e em co-cultivo**. Curitiba, PR, 2008. setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, 2008.

LIMA, T.A. **Caracterização de compostos nutricionais e antinutricionais em Taiobas (*Xanthosoma schott*)**. Brasília, DF, 2009. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado Universidade de Brasília, 2009.

LIU, S.; et al. Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Study, **American Journal of Clinical Nutrition**, v.72, n.4, 2000.

LOPES, W. B.; MORONI, F. T.; BRANDEBURGO, M.H.; HAMAGUCHI, A. **Desenvolvimento de um método alternativo ao uso de animais de laboratório para avaliação da toxicidade de extratos vegetais**. Disponível em: <www.propp.ufu.br/revistaeletronica>. Acesso em: 3 jul. 2005.

LU, F.; FOO, L.Y. **Toxicological aspects of food antioxidants**. In: Madhavi DL, Deshpande SS, Salunkhe DK, editors. Food Antioxidants. New York: Marcel Dekker, 1995.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause-Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. Ed. Roca, 11ª edição, 2005.

MAKKAR, H.P.S. Effect and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**, v.49, 2003.

MECHI, R.; CANIATTI-BRAZACA, S.G.; ARTHUR, V. Avaliação química, nutricional e fatores antinutricionais do feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiado. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.25, p.109-114, 2005.

MELLO, J. C. P. Estudo mineral das espécies vegetais *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze e *Bouchea fluminensis* (vell) Mold. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v.15, n.2, 2005.

MENSAH, J.K.; OKOLI, R.I.; OHAJU-OBODO, J.O.; Eifediyi, K. Phytochemical, nutritional and medical properties of some leafy vegetables consumed by Edo people of Nigeria. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n.14, 2008.

MILADIYAH, I.; DAYI, F.; DESRINI, S. Analgesic activity of ethanolic extract of *Manihot esculenta* Crantz leaves in mice. **Universa Medicina**, v.30, n.1, 2011.

MOREIRA, R.A; PERRONE, J.C. Purification and partial characterization of a lectin from *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiology**, v.59, n.5, 1977.

MOURA, N.; CANIATTI-BRAZACA, S. Avaliação da disponibilidade de ferro de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em comparação com a carne bovina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, 2006.

MUELLER-HARVEY, I. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 86, n.13, p. 2010-2037, 2006.

NASCIMENTO, G. F. G.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C.; et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, n.2, 2000.

NAWAR, W.W. **Lipids**. In: FENNEMA: New York, Ed: Food Chemistry. 2.ed.: p.139-244, 1985.

NAVES, L.P.; et al. Antinutritional components and protein digestibility in pumpkin seeds (*Cucurbita maxima*) submitted to different processing methods. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.30, 2010.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Editora Artmed, 5ª edição, 2011.

NEPOMUCENO, D.D. **Fatores antinutricionais em três espécies de Leguminosas forrageiras**. Rio De Janeiro, RJ, 2009. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2009.

NOBREGA, R.B.; et al., Structure of *Dioclea virgata* lectin: Relations between carbohydrate binding site and nitric oxide production. **Biochimie**, v.94, n.3, 2012.

ODA, K.; et al. M. Adjuvant and haemolytic activities of 47 saponins derived from medicinal and food plants. **Biological Chemistry** v.381, n.1, p.67–74, 2000.

OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; SPOTO, M.H.F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Editora Manole, 2006, p.196-197

OLIVEIRA, A. P.; ALVES, A. U.; DORNELAS, C. S. M.; et al. Rendimento de quiabo em função de doses de nitrogênio. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.25, n.2, p.265-268, 2003.

PAES, H.M.F.; ESTEVES, B.S.; SOUSA, E.F. Determination of water requirement of Okra in Campos do Goytacazes. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, v.43, n.2, 2012.

PAIM, L.B. **Ação antiinflamatória da lectina de semente de *Dioclea violácea* na artrite induzida por zymosan**. Fortaleza, CE, 2006. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Federal do Ceará, 2006.

PANERO, F.S.; et al. Aplicação da análise exploratória de dados na discriminação geográfica do quiabo do Rio Grande do Norte e Pernambuco. **Ecletica Química**, v.34, n.3, p.228-237, 2009.

PENDRE, N.K. et al. Effect of drying temperature and slice size on quality of dried okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). **Journal of Food Science and Technology**, v.49, n.3, p.378-371, 2011.

PEREIRA, G,I,M. Avaliação química da folha de cenoura visando ao seu aproveitamento na alimentação humana. **Ciência e Agrotecnologia**. v.27, n.4, 2003.

PETIT, P.R; et al. Effects of a fenugreek seed extract on feeding behaviour in the rat: metabolic endocrine correlates. **Pharmacology Biochemistry and Behaviour**, v. 45, p.369-374, 1993.

PEUMANS, W.J.; DAMME, E.J.M.V. Plant Lectins: Versatile proteins with important perspectives in biotechnology. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v.15, p.199-227, 1998.

PINTO, N.A.V.D.; et al. Avaliação de fatores antinutricionais das folhas da taioba (*xanthosoma sagittifolium* schoot), **Ciência e Agrotecnologia**, v.25, n.3, p.601-604, 2001.

POTTER, S.M;et al. Protein-Saponin interaction and its influence on blood lipids. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v.41, p.1287-1291, 1993.

RAJU, M.; et al. Carotenoid composition and vitamin A activity of medicinally important green leafy vegetables. **Food Chemistry**, v.101, n.4, p.1598-1605, 2007.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 2006.

RAMIREZ-CÁRDENASI, L.; LEONEL, A.J.; COSTA, N.M.B. Efeito do processamento doméstico sobre o teor de nutrientes e de fatores antinutricionais de diferentes cultivares de feijão comum. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.1, p.200-213, 2008.

RANGANNA, S. **Manual of Analysis of fruit and vegetables products**. New Delhi (India): Tata MacGraw-Hill Publishing Company Limited, 1977, 634p.

REDDY, N.R.; SATHE, S.K.; SALUNKHE, D.K. Phytates in legumes and cereals. **Advances in Food Research**, New York, v.28, p.1-92, 1985.

RODRIGUES, W.A.; et al. Electrophoretic patterns of grain storage proteins of sorghum with presence and absence of tannin. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.spe, 2009.

ROMANI, A.; MENICHETTI, S.; ARAPITSAS, P.; NATIVI, C. O-Methylglucogalloyl esters: Synthesis and evaluation of their antimycotic activity. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v.15, n.18, p.4000-3, 2005.

RÜDIGER, H. Plant lectins-More than just tools for glycoscientists: Occurrence, structure, and possible functions of plant lectins. **Acta Anatomica**, v.161, p.130-152, 1998.

SABITHA, V.; et al. Antidiabetic and antihyperlipidemic potentialof *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences**, n.3, v.3, 2011.

SALAZAR, J. et al. Chemical composition and antinutritional factors of *Lycianthes synanthera* leaves (chomte). **Food chemistry**, v.97, n.2, p.343-348, 2006.

SANTOS, M.A.T. Efeito do cozimento sobre alguns fatores antinutricionais em folhas de brócolis, couve-flor e couve. **Ciência e Agrotecologia**, v.30, n.2, p.294-301, 2006.

SARNTHEIN-GRAF, C.; MESA, C. Association of saponins in water and water-gelatine mixtures. **Thermochim Acta**, v.418, p. 79–84, 2004.

SCHENKELL, E.P, GOSMANN, G, ATHAIDE, M.L. Saponinas. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. v. 1, p.711- 740, 2007.

SCOPES, R.K. **Protein Purification**: principles and pratics. New York: Springer Verlag, 1994, 380p.

SHARON, N.; LIS, H. **Lectins**. Dordrecht: Springer, 2007.

SENGKHAMPARN, N.; et al. Okra pectin contains an unusual substitution of its rhamnosyl residues with acetyl and alpha-linked galactosyl groups. **Carbohydrate Research**, v.344, n.14, p.1842-1851, 2009.

SENGKHAMPARN, N.; et al. A.Physicochemical properties of pectins from okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). **Food Hydrocolloids**, n.24, p.35–41, 2010.

SHARON, N.; LIS, HALINA. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. **Glycobiology**, v. 14 n. 11 pp. 53–62, 2004.

SHI, J; et al. Saponins from edible legumes: Chemistry, processing, and health benefits. **Journal of Medical Food**, v.7, p.67-78, 2004.

SILVA, M.R.;SILVA, M.A.A.P. *Antinutritional factors: protease inhibitors and lectins*. Revista de Nutrição, v.13, n.1, p. 3-9, 2000.

SILVA, M.C. **Caracterização parcial da lectinas de folha de mandioca (*Manihot esculenta*)**. Lavras, 2008. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

SINGH, R.S.;BHARI, R.;KAUR, H.P.;VIG,M. Purification and Characterization of a Novel Thermostable Mycelial Lectin from *Aspergillus terricola*. **Appl Biochem Biotechnol**, v.162, n.5, p.1339-1349,2010.

SOARES, S.E. Phenolic acids as antioxidants. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1,2002.

SOARES, G.S.F. **Estudo da qualidade nutricional de sementes e da atividade antiinflamatória da lectina do *Abelmoschus esculentus* (L.) MOENCH (quiabo)**. João Pessoa, PB, 2012. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Federal da Paraíba, 2010.

SPARG, S.G.; LIGHT, M.E.; STADEN, J. Biological activities and distribution of plant saponins. **Journal Ethnopharmacology**, v.94, n.2-3, p.219-243, 2004.

TERRY, P.; et al. Fruit, vegetables, dietary fiber and risk of colorectal cancer. **Journal of the National Cancer Institute**, v.93, n.7, 2001.

TRAMONTE, K.C. et al. Juice from king palm (*Archontophoenix alexandrae*) leaf sheathes: chemical characterisation and use in soft drink formulation. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p.1871–1877, 2011.

TRIGUEIROS, V.; et al. *Xerocomus chrysenteron* lectin: identification of new pesticidal protein. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1621, n.3, p.292-298, Jun. 2003.

TSUMBU, C.N.; et al. Antioxidant and antiradical activities of *Manihot esculenta* Crantz (Euphorbiaceae) leaves and other selected tropical green vegetables investigated on lipoperoxidation and PMA activated monocytes. **Nutrients**, n.3, p.818-838, 2011.

VARAKUMAR, M.R.; et al. Carotenoid composition and vitamin A activity of medicinally important green leafy vegetables. **Food Chemistry**, v.101, p.1598–1605, 2007.

VAN DE KAMER, J.H.; VAN GINKEL, L. Rapid determination of crude fiber in cereals. **Cereal Chemistry**, v.29, n.4, p.239-251, 1952.

VAN DAMME, E.J.M.; et al. Plant lectins: A composite of several distinct families of Structurally and Evolutionary Related Proteins with Diverse Biological Roles. **Plant Science**, v.17, n.6, p. 575-692, 1998.

VASCONCELOS, I. M.; OLIVEIRA, J. T. A. Antinutritional properties of plant lectins. **Toxicon**, Oxford, v.44, n.4, p.385-403, 2004.

VENKATARAVANAPPA, V.; et al. Diversity and phylogeography of Begomovirus-associated beta satellites of Okra in India. **Virology Journal**, v.8, 2011.

VIRTUOSO, S. **Estudo fitoquímico e biológico das cascas de *erythrina velutina* willd. - fabaceae (leguminosae - papilionoideae)**, Curitiba, PA, 2005, Universidade Federal da Paraná.

WANG XIANKAI. **Natural medicine chemistry**. Beijing: People's medical publishing house; 1988.

WANG, Z.W.; GU, M.Y.; LI, G.Z. Surface properties of gleditsia saponin and synergisms of its binary system. **J. Disper. Sci. Technol.**, v.26, p.341– 347, 2005.

WENIGER B.; ROBINEAU L. **Elements pour une Pharmacopee Caraibe**—Se´minaire Tramil 3, p. 145, 1988.

WRIGHT, C.I.; et al. Herbal medicines as diuretics: a review of the scientific evidence. **Journal Ethnopharmacol.** v.114, p.1-31, 2007.

WORLD CANCER RESEARCH FUND, American Institute for Cancer research. Expert report, food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective, 2007.

YU, K.; CHEN, F.; LI, C. Absorption, Disposition, and Pharmacokinetics of Saponins from Chinese Medicinal Herbs: What Do We Know and What Do We Need to Know More?. **Current Drug Metabolism**, 2012.

ZHENG, W.; WANG, S.Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **J. Agric. Food Chemistry**. v.49, n.11, 2001.

ZATTA, P.F.; CUMMING, R. Lectins and their uses as biotechnological tools. **Biochemical education**, v.20, n.1, p.2-9, 1992.

ZHU, W.; LIU, K.; WANG, X. Heterosis in yield, fiber quality, and photosynthesis of okra leaf oriented hybrid cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Euphytica** v.164, 2008.

APÊNDICE