



REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA - RENORBIO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO - UFMA

DANIELE GOMES CASSIAS RODRIGUES

**GALACTOMANANA DE *Adenanthera pavonina* Linn. : CARACTERIZAÇÃO
ESTRUTURAL E ATIVIDADE BIOLÓGICA NA DISLIPIDEMIA INDUZIDA POR
DIETA HIPERCALÓRICA EM RATOS**

SÃO LUÍS
2017

DANIELE GOMES CASSIAS RODRIGUES

**GALACTOMANANA DE *Adenanthera pavonina* Linn. : CARACTERIZAÇÃO
ESTRUTURAL E ATIVIDADE BIOLÓGICA NA DISLIPIDEMIA INDUZIDA POR
DIETA HIPERCALÓRICA EM RATOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia,
Ponto Focal Universidade Federal do Maranhão, como
requisito parcial para obtenção do Título de Doutora
em Biotecnologia

Orientadora: Profa. Dra. Marilene Oliveira da Rocha
Borges

Coorientadora: Profa. Dra. Ivone Garros Rosa

Coorientadora: Iracelle Carvalho Abreu

**SÃO LUÍS
2017**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos Termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 - São Luís - Maranhão

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA



Coordenação Geral - Universidade Federal Rural de Pernambuco

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n – Dois Irmãos – CEP: 52171-900 Recife-PE

Telefone (81) 3320-6050, 3320-6051 E-mail: renorbio@prppg.ufpe.br

Homepage: <http://www.renorbio.org.br>

FOLHA APROVAÇÃO DEFESA DE TESE

ALUNO: Daniele Gomes Cassias Rodrigues

TÍTULO DO PROJETO: “GALACTOMANANA DE *Adenanthera pavonina* Linn.: CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E ATIVIDADE BIOLÓGICA NA DISLIPIDEMIA INDUZIDA POR DIETA HIPERCALÓRICA EM RATOS”.

PROFESSORA ORIENTADORA: Marilene Oliveira da Rocha Borges

BANCA EXAMINADORA:

CONCEITO

ASSINATURA

Prof^ª. Dr^ª. Marilene Oliveira da Rocha Borges– UFMA
(Presidente)

Prof^ª. Dr^ª. Rachel Melo Ribeiro– UFMA
(Titular)

Prof. Dr. Arlan Silva Freitas– IFMA
(Titular)

Prof^ª. Dr^ª. Helma Jane Ferreira Veloso- UFMA
(Titular)

Prof^ª. Dr^ª. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes– UFMA
(Titular)

DATA DA APROVAÇÃO: 20 de junho de 2017

HORÁRIO: Às 08:00h.

LOCAL: Prédio do CCBS-UFMA.

Para:

Meu filho e amor maior Vinícius Cassias de Almeida;

Minha amada mãe Maria de Fátima Cassias;

Minha querida e saudosa avó Alice Cassias (in memorian);

Minhas queridas tias Aldenora e Airtes Cassias;

Minha grande e saudosa amiga Laydiane Pereira de Lima (in memorian).

AGRADECIMENTOS

A DEUS, fonte de infinita bondade e misericórdia, por nunca ter me abandonado um instante sequer na jornada diária. Obrigada por guiar meus passos e me manter de pé mesmo quando eu achava que não era mais possível. Só vós senhor sabeis a dimensão dos obstáculos que tenho vencido com o teu auxílio durante toda a minha vida.

À você meu pequeno príncipe, presente de DEUS, razão da minha existência, amor eterno, por ti me fortaleço, vivo e sobrevivo.

À minha mãe, irmã, pai e avó dedicada ao meu filho, Maria de Fátima, obrigada por tudo que tens me dado. Obrigada por está sempre ao meu lado. Meu amor por ti é imensurável.

À minha amada e saudosa avó Alice Cassias. Sei que estais sempre ao meu lado. Obrigada por ter participado da minha criação. Agradeço ao Senhor Deus por ter me dado a honra de ter sido sua neta.

Às minhas queridas tias Aldenora e Airtes Cassias, exemplos de bondade e doação a toda a família.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Marilene Oliveira da Rocha Borges, exemplo de orientadora e ser humano, em ti me espelho. Obrigada pelos ensinamentos, por ter aceitado em participar dessa missão ao meu lado.

À minha coorientadora Prof^a. Dr^a. Ivone Garros, meu muito obrigado pelos ensinamentos e contribuições.

Às minhas queridas alunas, colegas Nutricionistas e amigas Ana Patrícia Fontes, Érika Martins, Thanara da Conceição e Pollyana Luíza. Obrigada pelo apoio e dedicação a este trabalho, sem vocês esta pesquisa não seria possível

Aos meus amigos e companheiros de equipe Kátia Danielle Araújo Lourenço Viana, Eurípedes Oliveira e Thiago Palhares, e alunos do grupo de pesquisa Biogomas, meu muito obrigado por todas as contribuições.

À todos os meus colegas do Departamento de Ciências Fisiológicas e Curso de Nutrição. Obrigada por fazer parte deste nobre grupo.

À Universidade Federal do Maranhão, da qual orgulhosamente faço parte como integrante do corpo docente, pela infra-estrutura disponível através da qual foi possível a realização desta pesquisa.

Aos Laboratórios de Pesquisa e Pós-graduação em Farmacologia (LPPF) e Bromatologia.

À todos os integrantes do LPPF, em especial a Professora Germana Freire e a técnica Elaine Mendes, sem as quais a realização desta obra não seria possível.

À todos que contribuíram direta ou indiretamente na conclusão deste estudo, meu muito obrigada.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar, mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”
Madre Tereza de Calcutá

RESUMO

O presente estudo teve como objetivos realizar a caracterização estrutural e das propriedades funcionais da galactomanana da semente de *A. pavonina*, e avaliar o seu efeito na dislipidemia induzida por dieta hipercalórica em ratas. Para tanto, a galactomanana foi extraída das sementes de *A. pavonina*, teve sua composição monossacarídica determinada por Cromatografia Líquida Gasosa, peso molecular e homogeneidade determinados por Cromatografia de Exclusão Estérica de Alta Pressão acoplada a multidetectores, grupos funcionais analisados por espectroscopia de FT-IR, comportamento reológico analisado em cisalhamento contínuo, micromorfologia analisada por Microscopia Eletrônica de Varredura, e avaliação das propriedades funcionais de capacidade de retenção de água (CRA) e óleo (CRO). Quanto à investigação do efeito da galactomanana de *A. pavonina* sobre a dislipidemia, ratas *Wistar* foram divididas aleatoriamente em quatro grupos: GP (grupo ração padrão) que recebeu Nuvilab®, GH (grupo ração hipercalórica), GHGA (grupo ração hipercalórica + gel de galactomanana de *A. pavonina*) e GHGG (grupo ração hipercalórica + gel de goma guar), que receberam dieta hipercalórica por 18 semanas para indução da dislipidemia. GHGA e GHGG também receberam, simultaneamente, tratamento com 500 µL de gel a 5% das respectivas galactomananas, por gavagem. Após esse período foram avaliados os efeitos sobre o ganho ponderal, adiposidade abdominal e perfil lipídico sérico e hepático. Adicionalmente, foi avaliado o efeito da galactomanana sobre a motilidade gastrointestinal utilizando modelos de esvaziamento gástrico e trânsito intestinal. Em todos os experimentos, a goma guar, galactomanana comercial, foi utilizada como padrão. O rendimento da galactomanana extraída foi de 19,62%, sua relação proporcional manose/galactose foi de 1,7:1, apresentou perfil de eluição homogêneo em tempo aproximado de 36 minutos, característico de polissacarídeos, alta massa molar ($8,8 \times 10^5$ g mol⁻¹), grupos funcionais típicos de galactomananas, comportamento de fluxo não-newtoniano e pseudoplástico, estrutura micromorfológica irregular, áspera e porosa, e altas taxas de CRA (63,35 g de H₂O/g de amostra) e CRO (3,04 g de óleo/g de amostra), comparáveis as do polímero padrão. Com relação aos efeitos sobre a dislipidemia, o grupo GHGA apresentou menor percentual de ganho ponderal em relação ao GH (33,7 % vs 50,7%), mas não evitou o acúmulo de gordura abdominal, de forma semelhante ao grupo GHGG. O grupo GHGA também mostrou menores taxas de triglicerídeos (TG) sérico (52 mg/dL) e hepático (32,5 mg/dL), e aumento do HDL-C (94,3 mg/dL) quando comparado ao GH (96 mg/dL; 61,8 mg/dL; 52,4 mg/dL, respectivamente), enquanto o GHGG mostrou efeito apenas na redução do TG sérico. Além disso, os animais tratados com a galactomanana de *A. pavonina* (57,7 %) e goma guar (62,5 %) mostraram menor percentual de trânsito intestinal em relação aos que receberam apenas água (82,6 %), sugerindo controle da saciedade associada à redução da motilidade intestinal. Os resultados indicam que a galactomanana de *A. pavonina* apresenta estrutura e propriedades funcionais semelhantes às da goma guar, além de mostrar-se eficaz no controle da dislipidemia, sugerindo ser a galactomanana de *A. pavonina* uma fonte alternativa de fibra solúvel, com potencial biotecnológico semelhante ao de galactomananas tradicionalmente utilizadas na indústria alimentícia, farmacêutica e área médica.

Palavras-chave: polissacarídeos, galactomanana, gomas, *Adenanthera pavonina* L., goma guar, dislipidemia, propriedades físico-químicas, fibra alimentar.

ABSTRACT

The objective of the present study was to characterize the structural and functional properties of *A. pavonina* galactomannan seed and to evaluate its effect on hypercaloric diet induced dyslipidemia in rats. For this, the galactomannan was extracted from the seeds of *A. pavonina*, had its monosaccharide composition determined by Liquid Gas Chromatography, molecular weight and homogeneity determined by High Pressure Steric Exclusion Chromatography coupled to multidetectors, functional groups analyzed by FT-IR spectroscopy, rheological behavior analyzed in continuous shear, micromorphology analyzed by Scanning Electron Microscopy, and evaluation of the functional properties of water holding capacity (WHC) and oil (OHC). As regards the investigation of the effect of *A. pavonina* galactomannan on dyslipidemia, *Wistar* rats were randomly divided into four groups: GP (standard ration group) receiving Nuvilab®, GH (hypercaloric ration group), GHGA (group hypercaloric ration + galactomannan gel of *A. pavonina*) and GHGG (group hypercaloric ration + guar gum gel), which received a hypercaloric diet for 18 weeks to induce dyslipidemia. GHGA and GHGG were also simultaneously treated with 500 μ L of gel at 5% of the respective galactomannan by gavage. After this period, the effects on weight gain, abdominal adiposity and serum and hepatic lipid profile were evaluated. Additionally, the effect of galactomannan on gastrointestinal motility was evaluated using models of gastric emptying and intestinal transit. In all experiments, guar gum, commercial galactomannan, was used as standard. The yield of the galactomannan extract was 19.62%, its mannose/galactose ratio was 1.7: 1, presented a homogeneous elution profile in approximately 36 minutes, characteristic of polysaccharides, high molar mass (8.8×10^5 g mol⁻¹), functional groups typical of galactomannans, non-Newtonian and pseudoplastic flow behavior, irregular, rough and porous micromorphological structure, and high rates of WHC (63.35 g H₂O/g sample) and OHC (3.04 g of oil/g of sample), comparable to those of the standard polymer. Regarding the effects on dyslipidemia, the GHGA group presented a lower percentage of weight gain in relation to GH (33.7 % vs 50.7 %), but did not avoid the accumulation of abdominal fat, similar to the GHGG group. The GHGA group also showed lower rates of serum triglycerides (52 mg/dL) and hepatic (32.5 mg/dL) and an increase in HDL-C (94.3 mg/dL) when compared to GH (96 mg/dL, 61.8 mg/dL, 52.4 mg/dL, respectively), while GHGG showed only effect on serum TG reduction. In addition, animals treated with *A. pavonina* galactomannan (57.7 %) and guar gum (62.5 %) showed a lower percentage of intestinal transit than those receiving only water (82.6 %), suggesting control satiety associated with reduced intestinal motility. The results indicate that *A. pavonina* galactomannan has a structure and functional properties similar to those of guar gum, and it is effective in the control of dyslipidemia, suggesting that *A. pavonina* galactomannan is an alternative source of soluble fiber with biotechnological potential similar to galactomannans traditionally used in the food, pharmaceutical industries and medical area.

Key words: polysaccharides, galactomannan, gums, *Adenanthera pavonina* L., guar gum, dyslipidemia, physicochemical properties, food fiber.

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1 -	Representação da estrutura parcial de galactomananas.....	36
Figura 2 -	(A) Imagens representativas de semente endospermica de leguminosa (B) Imagem representativa do corte longitudinal de semente endospermica de leguminosa.....	37
Figura 3 -	Representação esquemática da relação proporcional Manose/Galactose de galactomananas comerciais.....	38
Figura 4 -	Imagens representativas das partes aéreas da <i>Adenanthera pavonina</i> L.....	41

CAPITULO I

Figure 1 -	Elution profile of HPSEC/MALLS/RI. (A) AP: <i>Adenanthera pavonina</i> L. galactomannan (B) GG: galactomannan guar gum.....	54
Figure 2 -	Flow curve executed in CR 0,01 – 100 s ⁻¹ , at 25 °C. AP: <i>Adenanthera pavonina</i> L. galactomannan; GG: galactomannan guar gum.....	55
Figure 3 -	Viscosity curve obtained from the flow curve. AP: <i>Adenanthera pavonina</i> L. galactomannan; GG: galactomannan guar gum.....	56
Figure 4 -	FT-IR spectrum of <i>Adenanthera pavonina</i> L. (AP) galactomannans and guar gum (GG).....	57
Figure 5 -	Scanning electron microscopy images of galactomannans from (A) <i>Adenanthera pavonina</i> L. and (B) guar gum in resolutions of 100 µm, 10 µm and 8 µm.....	58

CAPÍTULO II

Figura 1 -	Efeito da galactomanana de <i>Adenanthera pavonina</i> L. sobre o ganho ponderal.....	75
Figura 2 -	Efeito da galactomanana de <i>Adenanthera pavonina</i> L. no esvaziamento gástrico (A) e trânsito intestinal (B).....	78

LISTA DE QUADROS E TABELAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Quadro 1 -	Características e funções das principais lipoproteínas plasmáticas.....	20
Quadro 2 -	Valores de referência do perfil lipídico para adultos.....	22
Quadro 3 -	Estratégias de intervenção em função da estratificação de risco cardiovascular e taxas de LDL-C.....	28
Quadro 4 -	Metas lipídicas de acordo com o risco cardiovascular.....	28
Quadro 5 -	Principais classes de fármacos utilizados no tratamento das dislipidemias.....	30
Quadro 6 -	Tipos de fibra alimentar, componentes e principais fontes.....	34

CAPÍTULO I

Table 1 -	Morphological characterization of <i>Adenanthera pavonina</i> L. seed, and yields of the endosperm and galactomannan.....	51
Table 2 -	Macromolecular parameters of the galactomannans of <i>Adenanthera pavonina</i> L., and guar gum.....	53
Table 3 -	Water (WHC) and oil (OHC) holding capacity in <i>Adenanthera pavonina</i> L., and guar gum	60

CAPÍTULO II

Tabela 1 -	Composição das dietas hipercalóricas.....	72
Tabela 2 -	Efeito da galactomanana de <i>Adenanthera pavonina</i> L. sobre o índice de adiposidade visceral e peso dos compartimentos de gordura retroperitoneal, gonadal e visceral.....	75
Tabela 3 -	Efeito da galactomanana de <i>Adenanthera pavonina</i> L. sobre o perfil lipídico sérico e hepático, e indicadores de doenças cardiovasculares.....	77

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
<i>A. pavonina</i> L	<i>Adenanthera pavonina</i> Linn.
AP	Galactomanana de <i>Adenanthera pavonina</i>
Apo (a)	Apoliproteína (a)
Apo B	Apolipoproteína B
Apo B 100	Apolipoproteína B 100
Apos	Apolipoproteínas
Ara	Arabinose
ATROP	Atropina ou grupo atropina
AVE	Acidente Vascular Encefálico
C	Grupo controle
CCK	Colecistoquinina
CETP	Proteína de transferência de éster de colesterol
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CG-MS	Cromatografia Gasosa Acoplada ao Espectro de Massa
<i>C. grandis</i>	<i>Cássia grandis</i>
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLG	Cromatografia Líquida Gasosa
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação animal
CRA/WHC	Capacidade de Retenção de Água/Water Holding Capacity
CRO/OHC	Capacidade de Retenção de Óleo/Oil Holding Capacity
<i>C. siliqua</i>	<i>Ceratonia siliqua</i>
CT	Colesterol total
CV	Cardiovascular
DAC	Doença arterial coronariana
DASH	Dietary Approaches to Stop Hypertension
DCbV	Doença cerebrovascular
DCV	Doença Cardiovascular
<i>D. gardneriana</i> Tul.	<i>Dimorphandra gardneriana</i> Tul.
DIC	Doença isquêmica do coração
DM	Diabetes <i>mellitus</i>

DM 2	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
2 M	2 molar
DRC	Doença Renal Crônica
ER	Escore de Risco
ER de Framingham	Escore de Risco de Framingham
ER de Reynolds	Escore de Risco de Reynolds
ER Global	Escore de Risco global
ER pelo Tempo de Vida	Escore de Risco pelo Tempo de Vida
ETOH	Etanol
FA	Fibra alimentar
FID	Detector de ionização de chama
FT-IR	Transformada de Fourier na região do infravermelho
GA	Galactomanana de <i>Adenanthera pavonina</i> ou Grupo galactomanana de <i>Adenanthera pavonina</i>
Gal	Galactose ou galactopirranose
GG	Galactomanana de goma guar ou Grupo galactomanana de goma guar
GH	Grupo ração hipercalórica
GHGA	Grupo ração hipercalórica + gel de galactomanana de <i>A. pavonina</i>
GHGG	Grupo ração hipercalórica + gel de goma guar
GLP-1	Peptídeo semelhante ao glucagon 1
GP	Grupo ração padrão
GPJ	Glicemia plasmática de jejum
GPP	Glicemia pós-prandial
<i>G. triacanthos</i>	<i>Gledtsia triacanthos</i>
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HC	Hidratos de carbono
HDL-C	Lipoproteína de alta densidade colesterol
Herbário Mar	Herbário Maranhão
HMG CoA	Hidroximetilglutaril coenzima A
HPSEC – MALLS/RI	Cromatografia de exclusão estérica de alta pressão acoplada à detecção por espalhamento de luz laser com

	multiângulos e índice de refração
H-1, H-2, H-3, H-4, H-5	Ração hipercalórica 1, 2, 3, 4 e 5.
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
IG	Índice glicêmico
IMC	Índice de massa corporal
IR	Infravermelho
Kbr	Brometo de potássio
KW	Kilowatts
LDL-C	Lipoproteína de baixa densidade colesterol
<i>L. leucocephala</i>	<i>Leucaena leucocephala</i>
Lp (a)	Lipoproteína (a)
LPPF	Laboratório de Pesquisa e Pós-graduação em Farmacologia
LS	Detector luz laser
Man	Manose ou manopiranose
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
Mn	Número de massa molar média
<i>M. scabrella</i>	<i>Mimosa scabrella</i>
MTP	Microsomal Transfer Protein
MUFAS	Ácidos graxos monoinsaturados
Mw	Peso molecular ou massa molar ponderal média
NaBH₄	Borohidreto de sódio
NaN₃	Azida de sódio
NaNO₂	Nitrito de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
NCEP ATP III	National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Proteína C reativa
PCSK9	Proprotein Convertase Subtilisin Kexin type 9
PUFAS	Ácidos graxos polinsaturados
PYY	Peptídeo Y
RI	Detector índice de refração

RMN	Ressonância Magnética Nuclear
rpm	Rotações por minuto
SCORE	Estimativa de risco coronário sistêmico
SM	Síndrome metabólica
TFA	Ácido trifluoracético
TG	Triglicerídeos
UFMA	Universidade Federal do Maranhão
1 N	1 normal
VET	Valor energético total
VLDL-C	Lipoproteína de muito baixa densidade colesterol
Xyl	Xilose

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	17
2.	REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.1	Dislipidemias.....	19
2.2	Fisiopatologia da aterogênese.....	23
2.3	Tratamento das dislipidemias.....	25
2.3.1	Terapia farmacológica.....	28
2.3.2	Terapia não – farmacológica.....	30
2.3.2.1	Fibra alimentar.....	33
2.3.2.1.1	Galactomananas.....	36
2.3.2.1.1.1	<i>Adenanthera pavonina</i> Linn.....	41
3.	JUSTIFICATIVA.....	42
4.	OBJETIVOS.....	43
5.	CAPÍTULO I.....	44
	Artigo submetido ao periódico <i>Carbohydrate Polymers</i>: “Caracterização estrutural e propriedades funcionais da galactomanana extraída das sementes de <i>Adenanthera pavonina</i> Linn.”.....	
6.	CAPÍTULO II.....	67
	Artigo a ser submetido ao periódico <i>Nutrition</i>: “Efeito da galactomanana de <i>Adenanthera pavonina</i> Linn. na dislipidemia induzida por dieta hipercalórica em ratos”.....	
7.	CAPÍTULO III.....	86
	Pedido de patente de produto: “Pães enriquecidos com galactomanana”.....	
8.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	88
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	89
	ANEXOS.....	102

1. INTRODUÇÃO

As dislipidemias são apontadas como um importante fator de risco para as doenças cardiovasculares (DCV), devido à aterosclerose da parede arterial e a trombose, condições estas diretamente associadas a anormalidades nos padrões lipídicos (ESC/EAS, 2016; ESC/EAS, 2011), sendo, portanto, indiretamente responsáveis por quase 43% de todos os óbitos no mundo e 37% de todas as mortes prematuras (MOTAMED et al., 2017). Neste contexto, a importância da prevenção e tratamento das DCV permanece incontestável no cenário mundial, tendo na adoção de estilos de vida saudáveis como o consumo de uma dieta equilibrada com quantidade adequada de fibras alimentares, especialmente as do tipo solúveis, fundamentos essenciais capazes de reduzir expressivamente o risco de seu desenvolvimento, e os custos de saúde efetivos associados a essa condição (ESC/EAS, 2016).

As galactomananas são um tipo de fibra solúvel comumente extraídas do endosperma de muitas sementes de plantas, especialmente de leguminosas (família *Leguminosae*), cuja estrutura fundamental é composta por uma cadeia principal linear de resíduos de D – manopirano (Man) unidos por ligações do tipo β (1→4) com ramificações individuais de D – galactopirano (Gal) com ligações α (1→6) (DEA & MORRISON, 1975). Devido suas características físico-químicas específicas e ausência de toxicidade, as galactomananas têm sido empregadas amplamente por diversas áreas da indústria, incluindo a farmacêutica e de alimentos, na forma principalmente de agentes estabilizantes de emulsões, espessantes, e produtores de biofilmes (ALBUQUERQUE et al., 2014), e na área médica tem sido atribuído a esse polissacarídeo efeito coadjuvante ao tratamento de várias desordens como câncer e obesidade (HAMDEN et al., 2010), diabetes *mellitus*, dislipidemia (SRICHAMROEN et al., 2008) e síndrome metabólica (KAPOOR; ISHIHARA & OKUBO, 2016).

As galactomananas mais comercializadas e utilizadas na indústria são a goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*), goma de *locust bean* (*Ceratonia siliqua*) e goma tara (*Ceasalpinea spinosa*) (DAKIA et al., 2008). No entanto, o crescimento da utilização industrial de gomas, em nível internacional, tem sido um impulso para a descoberta de novas fontes de galactomananas de sementes de leguminosas (PRAJAPATI et al., 2013; MIKKONEN et al., 2007; SRIVASTAVA & KAPOOR,

2005).

A espécie *Adenanthera pavonina* Linn. é uma planta pertencente à família das *Fabaceae* (*Leguminosae*), subfamília *Mimosoideae*, nativa da Ásia Tropical (BOUQUET & DEBRAY, 1974), cujas sementes apresentam um endosperma gomoso e espesso, fonte de galactomanana com estrutura típica, segundo Tavares (1998). Entretanto, estudos de caracterização da galactomana desta espécie são escassos, e seu potencial biotecnológico é pouco explorado (SOARES, 2009), havendo, portanto, necessidade de mais estudos que investiguem a estrutura, propriedades e aplicações desse polímero.

Dessa forma, o presente estudo realizou a caracterização da estrutura e propriedades funcionais de capacidade de retenção de água e óleo da galactomanana de *A. pavonina*, bem como avaliou sua atividade biológica sobre a dislipidemia induzida por dieta hipercalórica em ratas *Wistar*. Além disso, houve a elaboração de produto alimentício desenvolvido com a adição dessa goma, que foi submetido ao sigilo de patente.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Dislipidemias

As dislipidemias caracterizam-se por alterações no metabolismo lipídico, repercutindo diretamente sobre as taxas das lipoproteínas (FAGHERAZZI et al., 2008), podendo ser classificadas em primárias ou sem causa aparente, quando decorrentes de origem hereditária reconhecida ou não, e secundárias, se consequentes à doença de base como obesidade, hipotireoidismo, diabetes *mellitus* (DM), síndrome nefrótica, síndrome metabólica (SM), doença renal crônica (DRC), dentre outras, ou ao uso de medicamentos como corticosteróides, anabolizantes e betabloqueadores (SBC, 2013; SBC, 2001). No entanto, independente da causa, as dislipidemias são apontadas como um relevante fator de risco para as doenças cardiovasculares (DCV) devido à aterosclerose da parede arterial e a trombose, condições estas diretamente associadas a anormalidades nos padrões lipídicos (ESC/EAS, 2016; ESC/EAS, 2011).

Do ponto de vista fisiológico, os lipídios biologicamente mais relevantes são os fosfolipídios, componentes da estrutura básica das membranas celulares; colesterol, precursor dos hormônios esteróides, ácidos biliares e vitamina D, além de também fazer parte da estrutura das membranas celulares, garantindo fluidez e ativação das enzimas locais; triglicerídeos, formados por três ácidos graxos ligados a uma molécula de glicerol, considerado uma das mais importantes formas de armazenamento energético no organismo, depositado no fígado e musculatura; e ácidos graxos que podem ser classificados em saturados, monoinsaturados e poliinsaturados, de acordo com a presença ou não de duplas ligações (SBC, 2013; SBC, 2007).

Quanto às lipoproteínas, são partículas compostas por lipídios e proteínas denominadas apolipoproteínas (apos), que possuem a função de solubilizar e transportar os lipídios na corrente sanguínea, podendo ser divididas em quatro classes de acordo com sua composição, tamanho e densidade: as ricas em triglicerídeos (TG), maiores e menos densas, representadas pelos quilomícrons, de origem intestinal, e pela lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), proveniente do fígado; as ricas em colesterol, como a lipoproteína de baixa densidade (LDL) e a lipoproteína de alta densidade (HDL); a lipoproteína de densidade intermediária

(IDL); e a lipoproteína a (Lp (a)), que resulta da ligação covalente entre uma molécula de LDL à apo (a), estando fortemente associada a formação e progressão da placa aterosclerótica (Quadro 1) (SBC, 2017).

Quadro 1. Características e funções das principais lipoproteínas plasmáticas

Classe da lipoproteína	Origem	Composição	Papel fisiológico	*Aterogenicidade relativa
Quilomícron	Intestino	90% TG 5% colesterol 3% fosfolípídio 2% proteínas	Transporte de TG dietéticos	0
VLDL	Fígado e intestino	60% TG 10% colesterol 18% fosfolípídio 10% proteínas	Transporte de TG endógenos	+
IDL	Na circulação, secundária ao catabolismo de outras lipoproteínas	40% TG 30% colesterol 20% fosfolípídio 10% proteínas	Precursor de LDL	+++
LDL	Fígado	10% TG 50% colesterol 15% fosfolípídio 25% proteínas	Principal lipoproteína de transporte do colesterol	++++
HDL	Fígado e intestino	5% TG 20% colesterol 25% fosfolípídio 50% proteínas	Reverter o transporte do colesterol	Negativamente correlacionada

* +: potencial aterogênico

Fonte: Adaptado de Kris – Etherton et al, 1998

Em situações anormais é possível observar o acúmulo, nos compartimentos plasmáticos, de quilomícrons e/ou VLDL, resultante da diminuição da hidrólise dos TG pela lipase lipoprotéica ou aumento da síntese hepática de VLDL, em decorrência de alterações genéticas das enzimas ou apolipoproteínas relacionadas, assim como o acúmulo sérico de LDL, associado a defeitos no gene da LDL ou apo B100, condições estas denominadas respectivamente de hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia primárias (SBC, 2017).

Com relação aos determinantes secundários das dislipidemias, o excesso de peso, obesidade, e particularmente a adiposidade abdominal, bem como seus determinantes dietéticos, merecem papel de destaque, contribuindo freqüentemente para o desenvolvimento dessa condição (ESC/EAS, 2016). Indivíduos com obesidade, principalmente do tipo abdominal ou central, caracterizada pela distribuição de gordura corporal do tipo andróide, também conhecida como corpo em formato de “maçã” (ROSA et al., 2016; FERRARI, 2007), comumente apresentam

disfunção dos adipócitos com atividade lipolítica aumentada, ocasionando alta liberação de ácidos graxos livres na circulação esplênica, atingindo diretamente o fígado e induzindo ao aumento da síntese hepática de TG, que juntamente com a síntese aumentada desse lipídio a partir do excesso de glicose, também associado ao excesso ponderal, resultam no quadro de hipertrigliceridemia (GENSER et al., 2016; FERRARI et al., 2007). Altas taxas de triglicerídeos, por sua vez, levam à redução dos níveis séricos de HDL, comprometendo as atividades antiinflamatória, antioxidante, vasodilatadora, e de transporte reverso do colesterol realizadas por essa lipoproteína (HAYDEN & TYAGI, 2005), além de estimular a maior liberação hepática de VLDL, e de partículas muito pequenas e densas de LDL (OSMANCIK; BEDNAR & MOCOKOVÁ, 2007).

Além disso, fortes evidências sugerem que os fatores alimentares também podem influenciar os níveis plasmáticos das lipoproteínas. O elevado consumo de alimentos ricos em ácidos graxos saturados (MENSINK et al., 2003), gorduras trans (MICHA et al., 2014) e colesterol (ESC/EAS, 2016), por exemplo, associa-se diretamente ao aumento das taxas de LDL e colesterol total (CT), que abrange o colesterol contido nas frações de VLDL, IDL, LDL e HDL, e a excessiva ingestão de carboidratos simples, como glicose (NORDMANN et al., 2006; MENSINK et al., 2003), frutose (STANHOPE et al., 2015; STANHOPE et al., 2009) e alimentos de alto índice glicêmico (IG) (DE NATALE et al., 2009; LIU et al., 2001), podem resultar em elevados níveis de TG e baixas doses de HDL (ESC/EAS, 2016; ESC/EAS, 2011).

Quanto à classificação, as dislipidemias podem ser do tipo hipercolesterolemia isolada: elevação isolada da lipoproteína de baixa densidade colesterol (LDL-C: ≥ 160 mg/dL); hipertrigliceridemia isolada: elevação isolada dos triglicerídeos (TG: ≥ 150 mg/dL), que reflete o aumento do número e/ou volume de partículas ricas em TG como VLDL, IDL e quilomícrons; hiperlipidemia mista, caracterizada por valores elevados de LDL-C e TG, CT ≥ 200 mg/dL e colesterol não-HDL (VLDL + IDL + LDL) ≥ 160 mg/dL; e baixos níveis de lipoproteína de alta densidade colesterol (HDL-C: < 40 mg/dL para homens e < 50 mg/dL para mulheres), de forma isolada ou associada a elevação de LDL-C e TG. Ademais, merecem destaque as chamadas dislipidemias graves, marcadas por taxas de LDL-C > 190 mg/dL e TG > 800 mg/dL, isoladas ou associadas (SBC, 2013); a

disbetalipoproteinemia familiar, que possui características de síndrome, assinalada pela presença de dislipidemia associada a altos níveis de TG, obesidade, DM, ou hipotireoidismo (ESC/EAS, 2011); e as dislipidemias resistentes ao tratamento, requerendo o encaminhamento dos portadores a centros de terapia especializados (SBC, 2013).

A análise bioquímica dos parâmetros lipídicos e de lipoproteínas é fundamental na avaliação do risco cardiovascular (CV), bem como no impacto do tratamento sobre o risco CV (SBC, 2017). Vários tipos de dislipidemia parecem predispor de forma prematura a DCV, contudo, um padrão particular denominado de tríade lipídica aterogênica é mais comum que outros, consistindo na co-existência de remanescentes de VLDL colesterol (remanescentes de VLDL-C), TG e LDL-C aumentados, e redução do HDL-C (Quadro 2) (ESC/EAS, 2011).

Quadro 2. Valores de referência do perfil lipídico para adultos

Lipídios	Valores (mg/dL)	Categoria
CT	< 200	Desejável
	200 - 239	Limítrofe
	≥ 240	Alto
LDL-C	< 100	Ótimo
	100 - 129	Desejável
	130 - 159	Limítrofe
	160 - 189	Alto
	≥ 190	Muito alto
HDL-C	> 60	Desejável
	< 40	Baixo
TG	< 150	Desejável
	150 - 200	Limítrofe
	200 - 499	Alto
	≥ 500	Muito alto
* Colesterol não-HDL	< 130	Ótimo
	130 - 159	Desejável
	160 - 189	Alto
	≥ 190	Muito alto

* Colesterol não-HDL: usado como uma estimativa da quantidade total de lipoproteínas aterogênicas no plasma (VLDL + IDL + LDL)

Fonte: Adaptado da Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2013

Diversos modelos de indução experimental de alterações metabólicas como excesso ponderal, DM 2, dislipidemia, e síndrome metabólica (SM), principalmente em ratos da linhagem *Wistar*, por meio de dietas hipercalóricas caracterizadas por altas concentrações de açúcares como frutose, ou gorduras saturadas, ou associação de altas doses de carboidrato e gordura, ou dieta de cafeteria (hipercalórica rica em sódio, gordura saturada, e pobre em fibras), tem sido

propostos com o intuito de demonstrar a importância dos fatores de risco dietéticos na gênese dessas alterações, e assim contribuir com progressos na compreensão da etiopatogenia e intervenções terapêuticas adequadas. Dentre os parâmetros avaliados nestes estudos estão o perfil lipídico (CT, LDL-C, TG, e HDL-C), índices cardíaco, aterogênico e da artéria coronária, perfis antropométrico (ganho de peso, índice de massa corporal - IMC, e circunferência abdominal), e glicídico (glicemia plasmática de jejum - GPJ, glicemia pós-prandial - GPP, insulinemia), análise histológica de tecidos (fígado, rins, baço, coração, pâncreas e etc), dosagens de citocinas inflamatórias e enzimas antioxidantes, dentre outros, todos passíveis de alterações pela exposição aos efeitos deletérios de um consumo alimentar inadequado (AJIBOYE et al., 2016; HAZARIKA et al., 2016; SAH et al., 2016; BALLESTRERI; MARCON & TAVARES, 2015).

2.2 Fisiopatologia da aterogênese

A aterosclerose consiste em uma doença inflamatória crônica, de origem multifatorial, que ocorre em resposta à agressão do endotélio vascular por diversos fatores de risco como elevação de lipoproteínas aterogênicas (LDL, IDL, VLDL e remanescentes de quilomícrons), hipertensão arterial ou tabagismo, atingindo principalmente a camada íntima das artérias de médio e grande calibre (SBC, 2017).

Como consequência da disfunção endotelial, há um aumento da permeabilidade da camada íntima vascular às lipoproteínas plasmáticas favorecendo sua retenção no espaço subendotelial, processo esse que inicia a aterogênese juntamente com a oxidação de partículas de LDL, e que ocorre de maneira proporcional a concentração sérica dessas lipoproteínas. Além disso, outra manifestação da disfunção endotelial, estimulada pela presença de LDL oxidada, é o surgimento de moléculas de adesão leucocitária na superfície endotelial responsáveis pela atração local de monócitos e linfócitos. Os monócitos por sua vez, migram para o subendotélio vascular, onde se diferenciam em macrófagos e capturam as LDL oxidadas, sem controle da quantidade recebida, constituindo as chamadas células espumosas, principal componente das estrias gordurosas que caracterizam as lesões macroscópicas iniciais da aterosclerose (HANSSON, 2005).

Além disso, uma vez ativados, os macrófagos também são os grandes responsáveis pela progressão da placa aterosclerótica mediante secreção de mediadores pró – inflamatórios como as citocinas, e de enzimas proteolíticas capazes de degradar o colágeno e outros componentes teciduais locais. Outras células inflamatórias como os linfócitos T, também participam do processo por meio da interação com os macrófagos, se diferenciando e produzindo citocinas que modulam o processo inflamatório local (HANSSON, 2005).

A partir dessa etapa, os mediadores inflamatórios estimulam a migração e proliferação de células musculares lisas da camada vascular média para a íntima, responsáveis pela produção não só de citocinas, mas de fatores de crescimento e matriz extracelular, que formará parte da capa fibrosa da placa aterosclerótica. Uma vez formado, o ateroma ou placa plenamente desenvolvido é composto por elementos celulares, núcleo lipídico e necrótico, formado por células mortas e rico em colesterol, e capa fibrosa rica em colágeno, se subdividindo em placas ateroscleróticas estáveis quando compostas predominantemente por colágeno organizado em capa fibrosa espessa, escassas células inflamatórias e núcleo lipídico de menor proporção, e instáveis quando apresentam atividade inflamatória e proteolítica intensa, núcleo lipídico proeminente e capa fibrosa tênue (LIBBY & THEROUX, 2005).

O ateroma pode crescer e produzir isquemia tanto por fluxo insuficiente de sangue, se existir alta demanda de oxigênio, como por sua ruptura e exposição do material lipídico altamente trombogênico, conduzindo a formação de um trombo subjacente, processo esse denominado de aterotrombose, um dos principais determinantes das manifestações clínicas da aterosclerose (SBC, 2013; SBC, 2007; RUDD et al., 2005) a exemplo do acidente vascular encefálico (AVE) isquêmico, ataque isquêmico transitório, infarto agudo do miocárdio (IAM), angina do peito estável e instável, morte súbita, claudicação intermitente, e isquemia crítica do membro (gangrena e necrose). No entanto, destaca-se que as placas de alto risco e vulneráveis, ou seja, as instáveis são as mais propensas a formar trombos (RUDD et al., 2005).

Estima-se que as DCV, devido a aterosclerose da parede do vaso e à trombose (ESC/EAS, 2011), são responsáveis por quase 43% de todos os óbitos no

mundo e 37% de todas as mortes prematuras (MOTAMED et al., 2017), sendo as afecções cardíacas, expressas sobretudo pelo IAM ou isquemia em uma ou mais das artérias coronárias, e o AVE, as principais causas dessas mortes (THOM et al., 2006).

Nos Estados Unidos, a DCV é apontada como a principal causa de óbitos desde o século XX, sendo considerada o problema de saúde pública mais relevante, com custos diretos e indiretos excedendo a cifra dos 403 bilhões de dólares em 2006 (THOM et al., 2006). Com relação ao continente Europeu, a DCV também é considerada a principal causa de mortalidade e incapacitações prematuras, sendo responsável por mais de 4 milhões de mortes a cada ano, além de representar um custo anual de 192 bilhões de euros em gastos de saúde (TOWSEND et al., 2015; ALLENDER et al., 2008). Entretanto, durante os últimos 30 anos, o panorama mundial demonstra um razoável declínio da mortalidade por causas cardiovasculares em países desenvolvidos, em oposição a substanciais incrementos em países em desenvolvimento, com projeções, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), de permanência desse cenário (SBC, 2007).

No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde, de todas as 962.931 mortes, em indivíduos acima dos 30 anos, notificadas em 2009, 20% foram atribuídas a DCV aterosclerótica, representada principalmente pelas doenças isquêmicas do coração (DIC) e doenças cerebrovasculares (DCbV) (DE PÁDUA; MANSUR & FAVARATO, 2011).

Dessa forma, a importância da prevenção e tratamento das DCV permanece incontestável no cenário mundial, tendo na promoção e adoção de comportamentos e estilos de vida saudáveis, assim como no manejo adequado das dislipidemias, fundamentos essenciais capazes de reduzir em 80% o risco de desenvolvimento das DCV, e os custos de saúde efetivos associados a essa condição (ESC/EAS, 2016; ESC/EAS, 2011).

2.3 Tratamento das dislipidemias

O manejo adequado das dislipidemias é considerado parte integral e essencial da prevenção da aterosclerose e consequentemente DCV (ESC/EAS, 2016; SCC, 2016; SBC, 2013; ESC/EAS, 2011), devendo sua definição estar

diretamente atrelada à estratificação de risco CV, ou seja, de acordo com a probabilidade de desenvolvimento de um evento cardiovascular aterosclerótico fatal ou não fatal em um período de tempo determinado (ESC/EAS, 2016; ESC/EAS, 2011). Para isso, diversos sistemas de avaliação de risco foram desenvolvidos, exaustivamente analisados e disponibilizados, a exemplo do Escore de Risco de Framingham (ER de Framingham), Escore de Risco de Reynolds (ER de Reynolds), Escore de Risco Global (ER Global), Escore de Risco pelo Tempo de Vida (ER pelo Tempo de Vida), e SCORE (Estimativa do Risco Coronário Sistemico) (ESC/EAS, 2016; SBC, 2013; ESC/EAS, 2011), devendo ser considerado como critério de escolha a reconhecida semelhança entre a população a ser aplicada e aquela da qual origina, ou a possibilidade de recalibração por ajustamento de mudanças seculares na mortalidade por DCV e prevalência de fatores de risco, para uso em diferentes populações (ESC/EAS, 2016; ESC/EAS, 2011).

O ER de Framingham estima a probabilidade de ocorrer IAM ou morte por doença coronariana, no período de 10 anos, em indivíduos sem diagnóstico prévio de aterosclerose clínica, permitindo a identificação adequada de indivíduos de médio e baixo risco (NCEP ATP III, 2001; WILSON et al., 1998). Já o ER de Reynolds estima a probabilidade de IAM, AVE, morte e revascularização do miocárdio em 10 anos (RIDKER et al., 2008; RIDKER et al., 2007), e o ER Global de IAM, AVE, insuficiência vascular periférica ou insuficiência cardíaca pelo mesmo período de tempo (D'AGOSTINO et al., 2008). Com relação ao ER pelo Tempo de Vida é indicado para faixa etária acima dos 45 anos e avalia a probabilidade de indivíduos a partir dessa idade apresentarem um evento isquêmico em 10 anos (BERRY et al., 2012; FOX et al., 2008; LLOYD-JONES et al., 2006), e o SCORE destina-se a estimativa em pessoas aparentemente saudáveis sem sinais clínicos ou doença pré-clínica, sendo frequentemente utilizado no continente europeu de onde é originado (ESC/EAS, 2011).

Ressalta-se que a pontuação alcançada para todos os Escores de Risco é obtida de fatores de risco cardiovascular modificáveis como perfil de lipoproteínas séricas, em especial as taxas de LDL-C; idade e gênero; doenças relacionadas como HAS, DM, obesidade e SM; marcadores inflamatórios como proteína C - reativa (PCR) e fibrinogênio; e componentes do estilo de vida como tabagismo, etilismo, dieta inadequada, sedentarismo e estresse (NCEP ATP III, 2002).

Dentre todos os escores de risco, a Sociedade Brasileira de Cardiologia adota o ER Global para a avaliação do risco em 10 anos e o ER pelo Tempo de Vida como opção para indivíduos acima de 45 anos apontados como de baixo ou risco intermediário em 10 anos, considerando, portanto, de “ALTO RISCO” aqueles com risco calculado $> 20\%$ para homens e $> 10\%$ para mulheres, de ocorrência de eventos cardiovasculares documentados (doença aterosclerótica arterial coronária, cerebrovascular ou obstrutiva periférica), e/ou aterosclerose diagnosticada na forma subclínica, e/ou procedimentos de revascularização arterial, e/ou DM tipo 1 ou 2, e/ou DRC, e/ou hipercolesterolemia familiar; “RISCO INTERMEDIÁRIO” aqueles sujeitos com risco calculado $\geq 5\%$ e $\leq 20\%$ para o sexo masculino e $\geq 5\%$ e $\leq 10\%$ para o feminino, de ocorrência dos principais eventos CV (doença arterial coronariana (DAC), AVE, doença arterial obstrutiva periférica ou insuficiência cardíaca), modulado por antecedentes familiares de DCV prematura; e “BAIXO RISCO” os indivíduos com risco calculado $< 5\%$ de apresentarem os principais eventos CV (SBC, 2013).

A partir dessa estratificação as estratégias de intervenção devem ser definidas, variando desde a não necessidade de intervenção lipídica à mudanças no estilo de vida com ou sem o uso concomitante de medicamentos (Quadro 3) (ESC/EAS, 2016; ESC/EAS, 2011), sendo imperativo entre as diversas entidades internacionais de prevenção da aterosclerose e DCV, a importância da redução das taxas de LDL-C além das metas estabelecidas (meta primária), a fim de reduzir a incidência de eventos CV e suas complicações (Quadro 4) (ESC/EAS, 2016; SCC, 2016; SBC, 2013; ESC/EAS, 2011).

Quadro 3. Estratégias de intervenção em função da estratificação de risco cardiovascular e taxas de LDL-C

Estratificação de Risco	Taxa de LDL – C (mg/dL)				
	< 70	70 a < 100	100 a < 155	155 a < 190	≥ 190
Alto Risco	Mudança de estilo de vida, e considerar o uso de drogas, se necessário	Mudança de estilo de vida, e uso concomitante de medicamentos	Mudança de estilo de vida, e uso concomitante de medicamentos	Mudança de estilo de vida, e uso concomitante de medicamentos	Mudança de estilo de vida, e uso concomitante de medicamentos
Risco Intermediário	Não intervenção lipídica	Não intervenção lipídica	Mudança de estilo de vida, e considerar o uso de drogas, se necessário	Mudança de estilo de vida, e considerar o uso de drogas, se necessário	Mudança de estilo de vida, e considerar o uso de drogas, se necessário
Baixo Risco	Não intervenção lipídica	Não intervenção lipídica	Não intervenção lipídica	Não intervenção lipídica	Mudança de estilo de vida, e considerar o uso de drogas, se necessário

Fonte: Adaptada da Sociedade Europeia de Cardiologia - ESC/Sociedade Europeia de Aterosclerose - EAS, 2016

Quadro 4. Metas lipídicas de acordo com o risco cardiovascular

Nível de Risco	Meta primária: LDL – C (mg/dL)	Meta secundária (mg/dL)
Alto	< 70	Colesterol não-HDL < 100
Intermediário	< 100	Colesterol não-HDL < 130
* Baixo	Meta individualizada	Meta individualizada

* Pacientes de baixo risco devem ter suas metas estabelecidas de acordo com os referencias do perfil lipídico exibidos no quadro 2

Fonte: Adaptado da Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2013

2.3.1 Terapia farmacológica

A determinação da terapia medicamentosa dependerá da estratificação de risco e da meta de LDL-C definida, sendo consenso considerar que a associação de mudanças no estilo de vida e uso de medicamentos hipolipemiantes torna os indivíduos em risco de DCV mais capazes de alcançar os resultados pré-estabelecidos (VAN HORN & ERNST, 2001).

Dentre os fármacos tradicionalmente disponíveis para o tratamento das dislipidemias (Quadro 5), destacam-se as classes das Estatinas ou inibidores da hidroximetilglutaril coenzima A (HMG CoA) redutase, a mais utilizada e validada por estudos clínicos para reduzir a incidência de eventos CV por meio da redução dos níveis de LDL-C, atuando indiretamente, também, nas taxas de outras lipoproteínas como a VLDL e remanescentes de quilomícrons; as Resinas ou sequestradores de

ácidos biliares, representados principalmente pela colestiramina, que quelam aos ácidos biliares carregados negativamente e aos sais biliares no intestino delgado, reduzindo a absorção enteral de colesterol e, portanto, resultando em depleção do colesterol celular hepático e indiretamente do colesterol endógeno; a niacina, que por meio de diversos mecanismos, diminui a liberação de ácidos graxos livres na circulação e em paralelo a síntese hepática de TG, resultando em menor disponibilidade de TG intra-hepático e por conseguinte no aumento do catabolismo de apo B e menor secreção de VLDL-C e LDL-C, e indiretamente para a redução da Lp (a) e aumento de HDL-C; e os fibratos, cuja ação sobre o metabolismo lipídico decorre de sua capacidade de imitar a estrutura e as funções biológicas dos ácidos graxos livres (SBC, 2017).

Além dessas, outras classes de hipolipemiantes também estão disponíveis para o tratamento das dislipidemias, como a Ezetimiba indicada em associação ao uso de Estatinas quando a meta de redução do LDL-C não é alcançada, sendo seu mecanismo de ação caracterizado pela inibição da absorção do colesterol na borda em escova do intestino delgado; ácidos graxos Ômega – 3, onde altas doses diárias de 4 a 10 g ao dia promovem a redução dos níveis de TG e discreto aumento do HDL-C, podendo, entretanto, aumentar as taxas de LDL-C (CHOWDHURY et al., 2012; KOTWAL et al., 2012); e os chamados novos fármacos como os Inibidores da Proteína de Transferência de Ester de Colesterol (CETP), Inibidor da *Microsomal Transfer Protein* (MTP), Inibidores do *Proprotein Convertase Subtilisin Kexin type 9* (PCSK - 9), e Inibidores da Síntese de Apolipoproteína B, contudo, sem evidências disponíveis de benefícios CV, até o momento, para esses fármacos (SBC, 2017).

Quadro 5. Principais classes de fármacos utilizados no tratamento das dislipidemias

Classe de Medicamentos	Efeitos sobre lipídios/lipoproteínas	Resultados clínicos
Estatinas (*HMG CoA redutase)	↓ LDL – C (18 – 55%) ↓ TG (7 – 30%) ↑ HDL – C (5 – 15%)	Redução dos principais eventos CV e mortalidade total
Resinas ou sequestradores de ácidos biliares	↓ LDL – C (15 – 30%) ↑ HDL – C (3 – 5%) TG (sem mudança ou aumento)	Redução dos principais eventos CV e coronarianos
Ácido Nicotínico	↓ LDL – C (5 – 25%) ↑ HDL – C (15 – 35%) ↓ TG (20 – 50%)	Redução de eventos coronarianos e possibilidade de mortalidade total
Fibratos	↓ LDL – C (5 – 20%) ↑ HDL – C (10 – 20%) ↓ TG (20 – 50%)	Redução dos principais eventos coronarianos

*HMG CoA redutase: Hidroximetilglutaril coenzima A redutase; ↓ redução; ↑ aumento

Fonte: Adaptado do National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III, 2001

2.3.2 Terapia não - farmacológica

É bem documentado que a redução dos níveis de LDL-C representa o alvo primário na diminuição do risco CV e, portanto, também merece papel de destaque na avaliação de mudanças de estilo de vida úteis para a prevenção das DCV. No entanto, é apropriado que a adoção de hábitos saudáveis, incluindo dieta equilibrada, prática regular de atividade física, aquisição e/ou manutenção de peso adequado, cessação do tabagismo e consumo moderado de álcool, recomendados à população em geral, e particularmente aos indivíduos com risco aumentado de DCV, colaborem não só para a queda dos valores de LDL-C, mas também para a melhora das taxas plasmáticas de TG e HDL-C, visto que estas contribuem para a redução do risco CV global. Ademais, destaca-se que a aquisição de um estilo de vida adequado também influencia positivamente outros fatores de risco CV como a HAS, DM ou sensibilidade diminuída à insulina, SM, e inflamação subclínica, colaborando indiretamente para diminuição do risco CV (ESC/EAS, 2016).

O abandono da prática de fumar, por exemplo, tem claros benefícios sobre os níveis de HDL-C (MAEDA; NOGUCHI & FUKUI, 2003), e o consumo moderado de álcool, até 20 g para homens e 10 g para mulheres, para aqueles que possuem o hábito de ingerir bebidas alcoólicas, não contribui para a elevação das taxas de TG, além de promover um discreto aumento nos níveis de HDL-C (ESC/EAS, 2016).

Com relação ao excesso peso, especialmente a adiposidade abdominal, é incontestável sua relação com a dislipidemia e, portanto, com o aumento do risco CV (ALBERTI et al., 2009). Assim, uma perda ponderal mesmo que modesta, de apenas 5 – 10% do peso basal, é traduzida em melhora das anormalidades lipídicas e afeta favoravelmente outros fatores de risco CV frequentemente presentes em indivíduos dislipidêmicos (DATILO & KRIS-ETHERTON, 1992). A prática regular de atividade física de moderada intensidade, por pelo menos 30 minutos diariamente, também deve ser encorajada, sendo comprovadamente eficaz como coadjuvante na perda e manutenção do peso, na prevenção de DM 2 e suas anormalidades metabólicas, assim como de outros fatores de risco CV (HUFFMAN et al., 2012).

Quanto ao papel da nutrição na prevenção de doenças cardiovasculares, o mesmo tem sido extensivamente revisado (DALEN & DEVRIES et al., 2014; ECKEL et al., 2014; MENTE et al., 2009), demonstrando fortes evidências da influência direta dos fatores dietéticos sobre a aterogênese ou através dos seus fatores de risco como os níveis plasmáticos de lipídios, pressão arterial e taxas de glicose. Resultados de ensaios clínicos randomizados que relacionam padrões dietéticos com DCV apontam que algumas intervenções resultaram em importante prevenção das DCV (CHOWDHURY et al., 2014; DALEN & DEVRIES et al., 2014; MOZAFFARIAN; MICHA & WALLACE, 2010), a exemplo do padrão alimentar *Dietary Approaches to Stop Hypertension* (DASH), mais conhecido como dieta “DASH”, desenvolvida para controle da hipertensão, e a dieta “Mediterrânea”, ambas consideradas efetivas na redução dos fatores de risco CV (ECKEL et al., 2014), sendo caracterizadas pelo alto consumo de frutas, hortaliças e cereais integrais em detrimento da baixa ingestão de alimentos refinados e açúcares, ingestão frequente de leguminosas e sementes oleaginosas, baixo teor de sódio, maior consumo de carnes brancas em relação às vermelhas, consumo de produtos lácteos com baixo teor de gordura, ingestão limitada de doces e bebidas açucaradas, preferência por gorduras dietéticas de origem vegetal em detrimento das de origem animal, dando ênfase ao azeite de oliva extra-virgem no caso da dieta “Mediterrânea” (ESC/EAS, 2016).

Com relação à composição nutricional de um padrão dietético adequado, conforme recomendação da *Dietary Guidelines for Americans* (2015 – 2020), de 10 – 35% das calorias totais diárias devem ser procedentes das proteínas, 20 – 35% de

gorduras dietéticas, e 45 – 65% dos carboidratos, incluindo neste último percentual cerca de 14 g de fibras dietéticas para cada 1000 kcal/dia.

Para a fonte protéica, a proteína da soja tem sido apontada como sendo capaz de reduzir as taxas de LDL-C quando em substituição aquelas de origem animal (DEWELL; HOLLENBECK & HOLLENBECK, 2006). Quanto à composição apropriada dos lipídios baseia-se no consumo predominante de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAS) e monoinsaturados (MUFAS), com maior foco nos MUFAS, e PUFAS < 10% da recomendação total, a fim de prevenir a peroxidação de lipoproteínas plasmáticas e a diminuição do HDL-C (HARRIS et al., 2009); limitar ao máximo possível a ingestão de gorduras trans, devendo ser < 1% do valor energético total (VET) diário, medida essa considerada chave na prevenção das DCV; consumo de gorduras saturadas < 10% do percentual total de lipídios ou < 7% em caso de hipercolesterolemia documentada (MENSINK et al., 2003); e ingestão de colesterol < 300 mg/dia, principalmente para aquelas pessoas com elevados níveis de colesterol plasmático (ESC/EAS, 2016).

Ressalta-se que os ácidos graxos saturados são os fatores dietéticos de maior impacto sobre os valores do LDL-C (MENSINK et al., 2003) e CT (MICHA et al., 2014), seguidos das gorduras trans que promovem efeito semelhante, além de diminuir os níveis de HDL-C (ESTRUCH et al., 2013), ao passo que a substituição de gorduras saturadas por PUFAS e/ou MUFAS, desde que consumidos em quantidades > 3 g/dia, ocasiona a diminuição dos valores séricos de LDL-C, contribuindo também para a redução das taxas de TG (MENSINK et al., 2003).

Com relação aos hidratos de carbono (HC) deve-se dar preferência aqueles oriundos de fontes complexas como frutas, hortaliças, cereais integrais, leguminosas e castanhas, pois além de serem fontes de fibras, na sua grande maioria possuem baixo IG ajudando também a diminuir o IG de outros alimentos quando consumidos em associação (POLI et al., 2008). Em contrapartida, a ingestão dos HC tidos como simples, refinados, ou açúcares, por serem de rápida absorção, não deve exceder a 10% do total recomendando para esse macronutriente, podendo essa restrição ser ainda maior para aqueles indivíduos que precisam perder peso ou apresentam altos valores plasmáticos de TG, são diabéticos ou portadores de SM (KELISHADI; MANSOURIAN & HEIDARI-BENI, 2014; STANHOPE et al., 2009).

Dentro da classe dos carboidratos, as chamadas fibras dietéticas merecem atenção de destaque, sendo consideradas eficazes e, portanto, recomendadas para o controle das taxas plasmáticas de lipídios (POLI et al., 2008). Ademais, diversos estudos têm demonstrado a atividade das fibras alimentares, especialmente as do tipo solúveis, não só na dislipidemia, mas também em outros fatores de risco associados às DCV como na sensibilização à insulina e melhora do controle glicêmico na DM 2, redução da expressão de mediadores inflamatórios (BOULANGÉ et al., 2016; GALLAGHER et al., 2010), controle do apetite e consequentemente controle ponderal (RAO, 2016; RASOAMANANA et al., 2013; KRISTENSEN & JENSEN, 2011), dentre outros.

2.3.2.1 Fibra alimentar

A definição clássica de fibra alimentar (FA) abrange uma classe de compostos vegetais constituídos principalmente por polissacarídeos e outras substâncias associadas, que quando ingeridos não são digeridos e nem absorvidos pelo intestino delgado humano (PROSKY, 2008). Definição semelhante é descrita pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) que conceitua FA como qualquer material comestível que não seja hidrolisado pelas enzimas endógenas do trato digestivo humano (BRASIL, 2003).

A fibra alimentar, também denominada de fibra dietética, é constituída por polímeros de carboidratos com uma ou mais unidades de monossacarídeos, e mais a lignina (polímero de fenilpropano), compreendendo, portanto, os polissacarídeos não-amiláceos, oligossacarídeos não digeríveis, carboidratos análogos como amido e maltodextrinas resistentes, lignina, compostos associados a exemplo de proteínas de parede celular, oxalatos, fitatos, dentre outros, e fibra de origem animal como a quitina, quitosana, colágeno e condroitina (BERNAUD & RODRIGUES, 2013).

De forma simplificada esses nutrientes são classificados de acordo com sua solubilidade em água, sendo subdivididos em fibras solúveis, viscosas ou fermentáveis pela microflora no colón do intestino grosso, como as pectinas, gomas e mucilagens, inulina, e algumas hemiceluloses, e fibras insolúveis, não formadoras de géis ou com fermentação limitada, como a celulose, lignina, e algumas hemiceluloses (ANDERSON et al., 2009). Dentre as fontes de fibra solúvel se destacam as frutas, cereais como aveia e cevada, hortaliças, algas e sementes de

leguminosa (COUTINHO; MENDES & ROGERO, 2010), enquanto as insolúveis podem ser encontradas na parede celular de plantas, folhas, grãos integrais e farelos (Quadro 6) (BERNAUD & RODRIGUES, 2013).

Quadro 6. Tipos de fibra alimentar, componentes e principais fontes

Tipo	Grupos	Componentes	Fontes
Polissacarídeos não-amiláceos	Celulose	25% de fibra de grãos e frutas, e 30% de vegetais e oleaginosas	Parede celular de plantas, farelos
	Hemicelulose	Arabinogalactanos, β -glicanos, arabinoxilanos, glicuronoxilanos, xiloglicanos, galactomananos	Aveia, cevada, grãos integrais, oleaginosas, algumas frutas com casca, abacaxi
	Gomas e mucilagens	Galactomananos, alginatos, agar, carragenanas, <i>psyllium</i>	Extratos de sementes, exsudatos de plantas, algas, <i>psyllium</i>
	Pectinas	Pectina	Frutas, hortaliças, batatas
Oligossacarídeos	Frutanos	Inulina e frutoligosacarídeos (FOS)	Chicória, cebola, alho, banana
Carboidratos análogos	Amido e maltodextrina resistentes	Amido, produtos de degradação do amido não absorvidos no intestino humano saudável	Leguminosas, sementes, batata crua, banana verde, grãos integrais
Lignina	Lignina	Ligada a hemicelulose na parede celular	Camada externa de grãos de cereais e aipo
Substâncias associadas aos polissacarídeos não-amiláceos	Compostos fenólicos, proteínas de parede celular, fitatos, oxalatos, ceras, cutina, suberina	Componentes associados à fibra alimentar que confere ação antioxidante a esta fração	Cereais integrais, frutas e hortaliças
Fibras não vegetais	Quitina, quitosana, colágeno, condroitina	Fungos, leveduras, invertebrados	Cogumelos, leveduras, casca de camarão, frutos do mar, invertebrados

Fonte: Adaptado de Bernaud & Rodrigues, 2013

Com relação aos seus efeitos metabólicos, do ponto de vista sistêmico e em nível do trato gastrointestinal, são atribuídos às características físico-químicas das fibras, tais como capacidade de retenção de água, viscosidade, fermentação com formação de subprodutos, adsorção, dentre outras (BUTTRISS & STOKES, 2008).

Às fibras insolúveis é conferido principalmente o aumento da capacidade de retenção de água do material não digerido, levando ao aumento do volume fecal e trânsito intestinal acelerado (GALLAGHER et al., 2010). Por outro lado, as fibras solúveis podem formar géis, resultando em bolo alimentar mais viscoso e formação

de uma camada viscosa de proteção à mucosa gastrointestinal, com consequente trânsito mais lento, assim como digestão e absorção diminuída de nutrientes, mecanismo esses responsáveis, dentre outros, pelo aumento da saciedade (RAO, 2016; RASOAMANANA et al., 2013; KRISTENSEN & JENSEN, 2011; GALLAGHER et al., 2010), diminuição do índice e carga glicêmica dos alimentos (BRAND-MILLER et al., 2002), e efeito antihiperlipidêmico, com consequente redução do risco de desenvolvimento de DM 2 (GALLAGHER et al., 2010; DERIVI et al., 2001; ANDERSON et al., 2000). Além disso, essa classe de fibras também pode interferir no processo digestivo dos hidratos de carbono por diluição da concentração enzimática, inibindo a atividade de enzimas como α -amilase e α -glicosidase (WU et al., 2016).

Ressalta-se que o retardo do trânsito gastrointestinal, induzido pela ação das fibras solúveis como mencionado acima, leva ao aumento do tempo de permanência dos nutrientes em contato com a mucosa intestinal, principalmente lipídios e proteínas, resultando em maior liberação de hormônios intestinais como colecistoquinina (CCK), peptídeo Y (PYY), e peptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP – 1), envolvidos na percepção da saciedade, assim como no estímulo ao retardo do esvaziamento gástrico e motilidade intestinal, contribuindo para uma menor ingestão alimentar e consequentemente controle do ganho de peso (RAO, 2016; KRISTENSEN & JENSEN, 2011).

Com relação ao efeito hipocolesterolêmico, estão envolvidos diferentes mecanismos ainda pouco conhecidos, podendo variar com o tipo e quantidade de fibra ingerida. Dentre as explicações estão à capacidade das fibras solúveis de se ligarem a nutrientes como o colesterol diminuindo a sua absorção; ligação com ácidos biliares, aumentando sua excreção pelas fezes e, por conseguinte do colesterol, produto derivado desses compostos; e fermentação colônica pelas bactérias intestinais, gerando ácidos graxos de cadeia curta, que por sua vez diminuem a concentração de lipídios séricos, por meio de processo pouco elucidado (GALLAGHER et al., 2010).

A formação de ácidos graxos de cadeia curta também pode contribuir positivamente para a prevenção da aterosclerose através de mecanismos como: conversão da colina em trimetilamina, impedindo, portanto, a formação de

fosfatidilcolina, componente da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-C), afetando indiretamente o armazenamento de TG hepático, assim como a formação de LDL-C, e menor expressão de citocinas com atividade inflamatória, diminuindo o grau de inflamação, e consequentemente aterosclerose, HAS, e resistência à insulina, já que as citocinas pró – inflamatórias também interferem nas vias de sinalização da insulina (BOULANGÉ et al., 2016).

2.3.2.1.1 Galactomananas

As galactomananas são um tipo de fibra solúvel definida como heteropolissacarídeos neutros, comumente extraídas do endosperma de muitas sementes de plantas, especialmente de leguminosas (família *Leguminosae*), onde desenvolvem funções de reserva para o vegetal. Sua estrutura fundamental é composta por uma cadeia principal linear de resíduos de D – manopirranose (Man) unidos por ligações do tipo β (1→4) com ramificações individuais de D – galactopirranose (Gal) com ligações α (1→6) (Figura 1) (DEA & MORRISON, 1975).

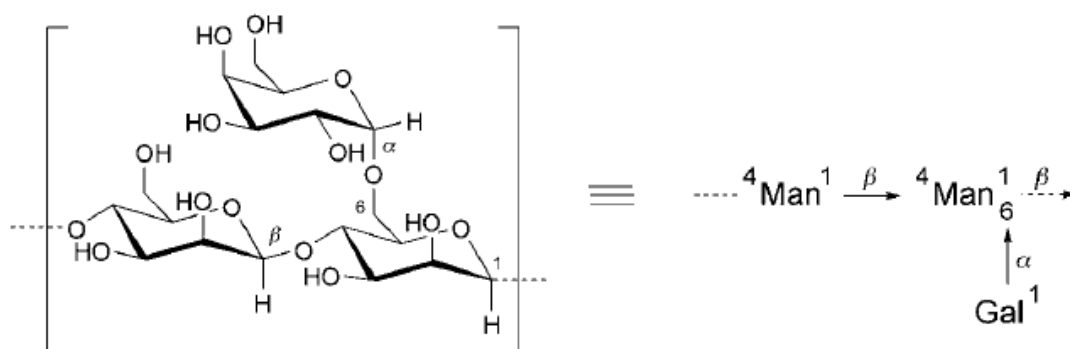


Figura 1. Representação da estrutura parcial de galactomananas

Fonte: Adaptado de Srivastava & Kapoor, 2005

Dentre outras fontes, tais como fungos, bactérias, algas e exsudados de plantas (SALVALAGGIO, 2010), as galactomananas também podem ser encontradas em sementes endospermicas de leguminosas, sua principal fonte, sendo comumente chamadas de gomas endospermicas. Algumas dessas sementes contêm um endosperma gomoso, cujas principais funções são as de absorção de água, em quantidade até 10 vezes superior à sua massa, aparentemente destinado à defesa das plantas jovens contra o estresse hídrico, reserva energética (BUCKERIDGE, 2010), e componente estrutural na rede formada

com hemicelulose/celulose (Figura 2) (ÁQUILA, BRAGA & DIETRICH, 2012).

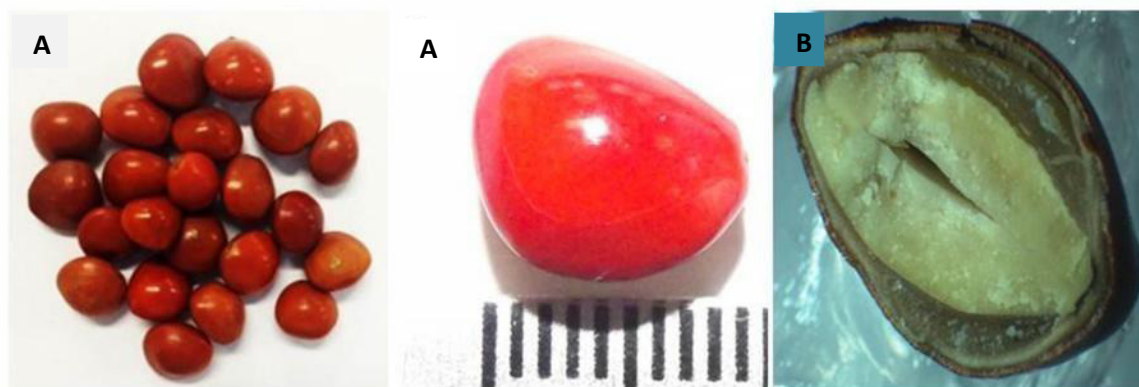


Figura 2. (A) Imagens representativas de semente endospérmica de leguminosa e (B) Imagem representativa do corte longitudinal de semente endospérmica de leguminosa

Fonte: Souza, 2014

Os estudos sobre a natureza química desses polissacarídeos tiveram início em 1897, quando Effront investigou um carboidrato presente na mucilagem de alfarroba (*Ceratonia siliqua*). Dois anos mais tarde, Bourquelot e Hérissé (1899) demonstraram que a goma dessa semente era constituída de 83,5% de D – manose e 16,5 % de D – galactose, cuja proporção manose:galactose (Man/Gal) de 5,0:1 está próxima aos valores atualmente determinados (DEA & MORRISON, 1975). Após o desenvolvimento de novas técnicas de análise estrutural mais de 70 galactomananas de sementes de leguminosas tiveram sua relação proporcional Man/Gal determinada, tendo sido relatado variações de 1,02:1, para a espécie de *Trigonella foenum-graecum* (fenogrego), até 5,19:1, para a galactomanana de *Sophora japônica* (Figura 3) (PRAJAPATI et al., 2013).

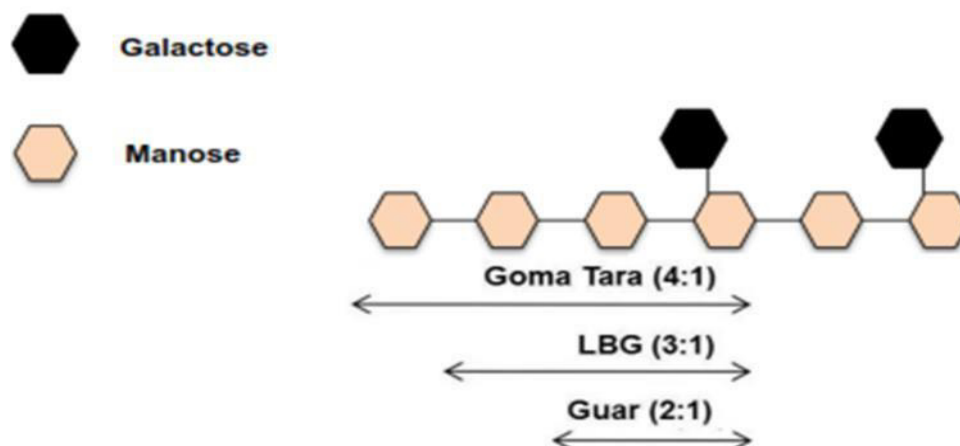


Figura 3. Representação esquemática da relação proporcional Manose/Galactose de galactomananas comerciais

Fonte: Souza, 2014

Em geral, galactomananas com poucas ramificações são obtidas de sementes de espécies pertencentes à família mais primitiva, *Caesalpinaceae*, e galactomananas com substituições médias a elevadas pertencem a uma família mais recentemente descoberta, a *Fabaceae* (REID & EDWARDS, 1995), onde se encontram o maior número desses polímeros já estudados (DEA & MORRISON, 1975).

Esses polissacarídeos apesar de compartilharem a mesma estrutura básica podem variar em relação à razão proporcional Man/Gal conforme mencionado, distribuição das unidades de galactose ao longo da cadeia principal de manose, peso molecular, e distribuição do peso molecular, dependendo de características como a fonte vegetal (JIANG et al., 2011; MIYAZAWA & FUNAZUKURI, 2006), metodologia de extração (DRESSLER; FISCHER & WINDHAB, 2003), e purificação do polímero (CUNHA; PAULA & FEITOSA, 2007). Segundo Stephen (1995), embora a maioria das galactomananas seja proveniente de sementes de leguminosas, nenhuma delas é estruturalmente idêntica. Destaca-se que essas variações podem impactar no comportamento da goma em relação à solubilidade, estabilidade térmica, propriedades reológicas como a viscosidade, e propriedades funcionais (LIYANAGE et al., 2015), influenciando diretamente em suas aplicações biotecnológicas (JIANG et al., 2011; TAPIE et al., 2008).

Os estudos de estrutura fina desses polímeros têm sido conduzidos através do emprego de muitas técnicas, sobretudo para estimar a composição monossacarídica e consequente relação proporcional Man/Gal, fatores extremamente importantes juntamente com a distribuição dos resíduos de galactose ao longo cadeia, no estabelecimento das propriedades físico-químicas e funcionais das galactomananas (AZERO & ANDRADE, 2002; BUCKERIDGE; SANTOS & TINÉ, 2000).

Técnicas cromatográficas como “Cromatografia Líquida de Alta Eficiência” (CLAE), e “Cromatografia Líquida Gasosa” (CLG) são utilizadas para estimar a composição de açúcares da amostra, possibilitando também a determinação da razão proporcional Man/Gal (DAKIA et al., 2008; ISHURD et al., 2004; CHAUBEY & KAPOOR, 2001). Já os métodos associados à cromatografia gasosa, como espectroscopia de massa (CG-MS) e cromatografia de exclusão estérica de alta pressão acoplada à detecção por espalhamento de laser com multiângulos e índice de refração (HPSEC-MALLS/RI) permitem a obtenção de informações como peso molecular médio, distribuição da massa molar média, e homogeneidade da amostra (VENDRUSCOLO et al., 2009).

Neste contexto a espectroscopia de “Ressonância Magnética Nuclear” (RMN) desponta como ferramenta promissora, sendo utilizada com sucesso em estudos estruturais de galactomananas (CUNHA et al., 2009; JOSHI & KAPOOR, 2003). A natureza não destrutiva desse método também possibilita a obtenção de várias informações como composição monossacarídica e relação proporcional Man/Gal, distribuição e variação dos padrões de ramificação, e comportamento dos materiais em condições de fluxo (estudos de reologia) (GABRIELE et al., 2009; CALLAGAN & GIL, 1999). Já com relação a “Espectroscopia de absorção na região do infravermelho” (IR), também utilizada na caracterização do polímero, fornece informações sobre os grupos funcionais presentes na amostra, permitindo a detecção de impurezas e modificações químicas na estrutura do composto (ZHENG et al., 2016; BURITI et al., 2014; MUDGIL; BARAK & KHATKAR, 2012).

Devido suas características físico-químicas específicas e ausência de toxicidade, as galactomananas têm sido empregadas amplamente pela indústria farmacêutica, de cosméticos, biomédica, têxtil, papéis e de alimentos, na forma

principalmente de agentes estabilizantes de emulsões, espessantes, e produtores de biofilmes (ALBUQUERQUE et al., 2014), propriedades estas decorrentes da formação de soluções de alta viscosidade em baixas concentrações (STEINBUCHER, DE BAETS & VANDAMME, 2002).

Já na área médica tem sido atribuído a esse polissacarídeo efeito coadjuvante ao tratamento de várias desordens, incluindo câncer e obesidade (HAMDEN et al., 2010); melhora na sensibilidade à insulina em indivíduos não diabéticos e diabéticos, com redução da necessidade de medicamentos para controle da glicemia; efeito hipolipemiante (SRICHAMROEN et al., 2008); aumento da saciedade com redução da ingestão de calorias (RAO, 2016; RASOAMANANA et al., 2013; KRISTENSEN & JENSEN, 2011); redução do risco de desenvolvimento de doenças coronarianas (PRAJAPATI et al., 2013); controle dos componentes da SM (KAPOOR; ISHIHARA & OKUBO, 2016); liberação prolongada de medicamentos (GABA et al., 2011), além de outros efeitos como atividade antiviral e anticoagulante (MUSCHIN et al., 2016).

As galactomananas mais comercializadas e utilizadas na indústria são a goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*), goma de locust bean (*Ceratonia siliqua*) e goma tara (*Ceasalpinea spinosa*) (DAKIA et al., 2008). No entanto, o crescimento da utilização industrial de gomas, em nível internacional, tem sido um impulso para a descoberta de novas fontes de galactomananas de sementes de leguminosas, a serem cultivadas em larga escala, para fins industriais. As gomas de *Cássia tora* (Cássia), *Caesalpinia spinosae* (Tara), *Sesbania bisbinosa* (Dhaincha), e de *Trigonella foenum-graecum* (fenogrego) são exemplos atuais de polissacarídeos neutros, cultivados para uso industrial e comercial (PRAJAPATI et al., 2013; MIKKONEN et al., 2007; SRIVASTAVA & KAPOOR, 2005).

A obtenção de galactomananas que possam substituir em parte ou totalmente as fontes tradicionais pode trazer muitos benefícios sociais e econômicos, levando em consideração que esses biopolímeros possuem pouco valor comercial agregado até o presente momento. A demanda nacional por esses polissacarídeos está crescendo, no entanto, mesmo com vastas áreas com condições favoráveis ao cultivo de leguminosas, as empresas brasileiras dependem da importação de tais produtos (MAHAMMAD et al., 2007).

2.3.2.1.1.1 *Adenanthera pavonina* Linn.

A espécie *Adenanthera pavonina* Linn. (Figura 4) é uma planta pertencente à família das *Fabaceae* (*Leguminosae*), subfamília *Mimosoideae*, nativa da Ásia Tropical. É uma árvore decídua, com 18 a 24 metros de altura e caule ereto com aproximadamente 60 cm de diâmetro (BOUQUET & DEBRAY, 1974). Apesar de não ser nativa do Brasil, foi introduzida há muitos anos e encontra-se bastante adaptada e difundida em todos os estados da federação, sendo conhecida como “olho-de-pombo” ou “carolina”, e utilizada principalmente em projetos de reflorestamento e arborização urbana (SOUZA et al., 2007).

As sementes dessa espécie apresentam tegumento vermelho brilhante e um endosperma gomoso e espesso, fonte de galactomanana com estrutura típica segundo Tavares (1998). Na medicina, tradicionalmente caule e folhas dessa planta tem sido usados contra uma série de desordens como diabetes, diarreia, alterações lipídicas, hemorragias estomacais, processos inflamatórios, dentre outros, e suas sementes contra desordens sanguíneas, cólera, paralisias, espasmos e outras condições (MUJAHID et al., 2013).



Figura 4. Imagens representativas das partes aéreas da *Adenanthera pavonina* L.
Fonte: Souza, 2014

Estudos de caracterização da goma da semente de *A. pavonina* são escassos, e embora esta galactomanana mostre amplo potencial biotecnológico, este ainda é subexplorado (SOARES, 2009). Apenas Moreira (1998) relatou o uso da galactomanana de *A. pavonina* como matriz de afinidade para purificar lectinas galactose ligantes, e Soares (2009) utilizou esse biopolímero como matéria-prima na produção de biofilmes comestíveis, havendo, portanto, necessidade de mais estudos

que investiguem a estrutura, propriedades e aplicações desse polímero.

3. JUSTIFICATIVA

Já existem no mercado produtos elaborados à base de fibras dietéticas, provenientes de fontes alimentares conhecidas, que são prescritos por nutricionistas e/ou médicos com diversas finalidades, entre elas efeito antihiperglicêmico, hipocolesterolêmico, e de controle da saciedade, no entanto, alternativas também eficientes e mais baratas, como o consumo de alimentos *in natura* ou fortificados com insumos naturais, de fontes não tradicionais, podem ser de grande valia.

Dessa forma, considerando as informações acima mencionadas no referencial teórico, à caracterização estrutural e das propriedades funcionais da galactomanana de *A. pavonina*, bem como a avaliação do seu efeito sobre a dislipidemia, e a possibilidade em se gerar patente com a elaboração de produto alimentício desenvolvido com a adição dessa goma, justificam a proposta desta pesquisa.

4. OBJETIVOS

4.1 Geral

Caracterizar a estrutura e propriedades funcionais da galactomanana de *A. pavonina* L., bem como avaliar seu efeito sobre a dislipidemia induzida por dieta hipercalórica em ratas.

4.2 Específicos

CAPÍTULO I

- Avaliar as características morfológicas da semente de *A. pavonina*;
- Determinar as características estruturais da galactomanana;
- Determinar as propriedades funcionais de capacidade de retenção de água e de óleo da galactomanana

CAPÍTULO II

- Avaliar o efeito da galactomanana de *A. pavonina* sobre o ganho ponderal;
- Investigar o efeito da galactomanana de *A. pavonina* sobre a dislipidemia;
- Verificar o efeito da galactomanana de *A. pavonina* sobre a motilidade gastrointestinal

5. CAPÍTULO I

Artigo submetido ao periódico *Carbohydrate Polymers*

(ISSN: 0144 – 8617)

Fator de Imapcto: 4.219

Qualis: A 1 (Biotecnologia – 2015)

**“Caracterização estrutural e propriedades funcionais da
galactomanana extraída das sementes de *Adenantha pavonina*
Linn.”**

Structural characterization and functional properties of galactomannan extracted from the seeds of *Adenanthera pavonina* Linn.

Daniele Gomes Cassias Rodrigues^a, Kátia Danielle Araújo Lourenço Viana^b, Wermerson Assunção Barroso^b, Joana Léa Meira Silveira^b, Shayla Fernanda Barbieri^b, Eurípedes Gomes Oliveira^c, Cáritas de Jesus Silva Mendonça^c, Ivone Garros Rosa^a, Marilene Oliveira da Rocha Borges^{a,*}

^aPhysiological Sciences Department, Federal University of Maranhão, Portuguese Avenue 1966, São Luís CEP: 65080-805, MA, Brazil. M.Sc. E-mail: danicassias@yahoo.com.br

^aPathology Department/Nucleus of Basic and Applied Immunology, Federal University of Maranhão, Portuguese Avenue 1966, São Luís CEP: 65080-805, MA, Brazil. Ph.D. E-mail: ivonegarros@yahoo.com.br

^{a,*}Physiological Sciences Department, Federal University of Maranhão, Laboratory of Research and Post-graduation in Pharmacology, Portuguese Avenue 1966, São Luís CEP: 65080-805, MA, Brazil. Ph.D. E-mail: morborges@yahoo.com.br

^bPhysiological Sciences Department, Federal University of Maranhão, Portuguese Avenue 1966, São Luís CEP: 65080-805, MA, Brazil. M.Sc. E-mail: katnutri@hotmail.com

^bPhysiological Sciences Department, Federal University of Maranhão, Laboratory of Research and Post-graduation in Pharmacology, Portuguese Avenue 1966, São Luís CEP: 65080-805, MA, Brazil. M.Sc. E-mail: wermersonbarroso@yahoo.com

^bBiochemistry and Molecular Biology Department, Federal University of Paraná, Curitiba CEP: 81531-980, PA, Brazil. Ph.D. E-mail: jlms12@yahoo.com

^bBiochemistry and Molecular Biology Department, Federal University of Paraná, Curitiba CEP: 81531-980, PA, Brazil. M.Sc. E-mail: shayla_fe@yahoo.com.br

^cPathology Department/Microbiology Laboratory, Federal University of Maranhão, Portuguese Avenue 1966, São Luís CEP: 65080-805, MA, Brazil. M.Sc. E-mail: egomesoliveira@hotmail.com

^cChemistry department, Federal University of Maranhão, Portuguese Avenue 1966, São Luís CEP: 65080-805, MA, Brazil. Ph.D. E-mail: mendoncacaritas@ig.com.br

*Corresponding author. Tel: 05598 3272-8533; Fax: 05598 3272-8004. E-mail adress: morborges@yahoo.com.br. Permanent adress: Laboratory of Research and Post-graduation in Pharmacology/Physiological Sciences Department, Federal University of Maranhão, Portuguese Avenue 1966, São Luís Cep: 65080-805, Maranhão, Brazil.

Abstract

The galactomannan extracted from the legume seed *Adenanthera pavonina* L. presented a yield of 19.62%, mannose/galactose ratio of 1,7:1, and functional group spectrums typical of galactomannans. The sample presented high molecular weight ($M_w = 8,8 \times 10^5 \text{ g mol}^{-1}$), homogeneous elution peaks, characteristic of polysaccharides, and polydispersity index (M_w/M_n) next to 1 (1,1), confirming the homogeneous dispersion. The rheological characterization showed a behavior of non-Newtonian and pseudoplastic flow, and the micromorphological analysis showed irregular and rough surface, common in galactomannans, and porous, being able to be associated with high water holding capacity ($WHC = 63,35 \text{ g of H}_2\text{O/g of sample}$) and oil ($OHC = 3,04 \text{ g of oil/g of sample}$). These results suggest that the galactomannan evaluated presents similar characterization to the commercial standard used, guar gum, being able to be used in several industrial applications.

Keywords: Gum; Galactomannan; *Adenanthera pavonina* Linn.; Characterization; Functional properties.

1. Introduction

Galactomannans are water-soluble heteropolysaccharides commonly extracted from the endosperm of many plant seeds, especially of leguminous plants, where it develops carbohydrate reserve function. Its fundamental structure is composed of a linear main chain of residues of D – manopyranose (Man) linked by β -type bonds (1 $\rightarrow$ 4) with individual branches of D – galactopyranose (Gal) with connections α (1 $\rightarrow$ 6) (Dea & Morrison, 1975).

These polysaccharides, although sharing the same basic structure, may vary in relation to the mannose/galactose ratio (Man/Gal), distribution of the galactose units along the main chain of mannose, molecular weight and molecular weight distribution, depending on the vegetable source (Jiang, Jian, Cristhian, Zhang, & Sun, 2011; Miyazawa & Funazukuri, 2006), extraction methodology (Dressler, Fischer & Windhub, 2003), and polymer purification (Cunha, Paula, & Feitosa, 2007). These variations may impact the behavior of the gum relative to the solubility, rheological and functional properties (Liyanage, Abidi, Auld, & Moussa, 2015), and directly influence their biotechnological applications (Jiang et al., 2011; Tapie, Malhiac, Hucher, & Grisel, 2008).

Due to its specific physicochemical properties and toxicity absence, galactomannans have been widely used by industry, such as pharmaceuticals and foods, especially as

stabilizing agents for emulsions, thickeners and biofilm producers (Albuquerque et al., 2014). The most commercially available and used galactomannans are guar gum (*Cyamopsis tetragonolobus*), locust bean gum (*Ceratonia siliqua*) and tare gum (*Ceasalpineia spinosa*) (Dakia, Blecker, Robert, Wathelet, & Paquot, 2008), however, the growing current demand of international industry has sought alternative and renewable sources of seed gums (Joshi & Kapoor, 2003).

The specie *Adenanthera pavonina* Linn. is a plant belonging to the family of *Fabaceae* (*Leguminosae*), subfamily *Mimosoideae*, native to tropical Asia (Bouquet & Debray, 1974), with seeds showing bright red integument and a thick gummy endosperm, galactomannan source with typical structure (Tavares, 1998). However, the characterization studies of this polysaccharide are scarce, being its biotechnological potential underexploited. In this way, the present study aimed to characterize this polymer by determining the monosaccharide composition and Man/Gal ratio, molecular weight, micromorphological aspects, determination of functional groups by FT-IR spectroscopy, apparent viscosity, and functional properties such as water and oil holding capacities.

2. Hypotheses

The *A. pavonina* L. galactomannan presents structural characterization similar to guar gum;

The *A. pavonina* L. galactomannan has important biotechnological potential, similar to traditional sources.

3. Material and methods

3.1 Plant material

The seeds of *Adenanthera pavonina* L. were collected from specimens of this plant species at Dom Delgado Campus of the Federal University of Maranhão, in São Luis – MA (2.5563 °S, 44.3081 °W), between August and November 2015. The plant was duly identified and cataloged in the collection of the Herbarium MAR (Herbarium of Maranhão) with catalog number: 9.207. The seeds were collected from the pods, selected and stored at room temperature until their use.

3.2 Morphological characterization of *A. pavonina* L seeds.

The morphological characterization observed external aspects such as length, width, thickness and weight, with the aid of a manual pachymeter Mitutoyo® and analytical balance Marte®, in a random sample of 100 seed units.

3.3 Extraction and polysaccharide yield

The *A. pavonina* seeds were heat treated in distilled water at 100 °C for 20 minutes, in the ratio of 1:5 (w/v), for enzymes inactivation and pigments removal. This water was then discarded and the seeds were hydrated, also with distilled water, in the ratio of 1:5 (w/v), remaining refrigerated (12 °C) for 24 hours. The endosperms were removed manually and stored under refrigeration until used, according to adapted methodology of Cunha, Vieira, Arriaga, de Paula, & Feitosa, (2009).

The endosperms were suspended in water at the ratio of 1:16 (w/v) and homogenized for 10 minutes, in industrial blender (Vitalmix®), until the formation of a viscous solution which was filtered through a nylon cloth. The polysaccharide was obtained by precipitation in ETOH 92.8% (1:2, v/v) and then dehydrated with ETOH and acetone P.A. The solid obtained was dried in continuous hot air flow and then sprayed, according to procedures described by Buriti et al. (2014) with modifications.

The endosperm yield was determined by proportion of the total seed dry mass and the powder yield of *A. pavonina* L. (AP) galactomannan in relation to the endosperm dry mass.

The guar gum (GG), galactomannan used as standard in this study, was acquired from Sigma Aldrich®.

3.4 Characterization of galactomannan from *A. pavonina* L.

3.4.1 Monosaccharide composition

The composition and the monosaccharide ratio were analyzed by gas-liquid chromatography (GLC) after total acid hydrolysis with trifluoroacetic acid (TFA 2M at 100 °C by 8 hours), reduction with sodium borohydride (NaBH₄) and acetylation (Wolfrom & Thompson, 1963). A Hewlett Packard® 5890A Series II gas chromatograph was used with flame ionization detector (FID) and injector at the temperature of 250 °C, DB-210 capillary column (30 m x 0,25 mm of internal diameter), with film thickness of 0.25 µm at 220 °C, and

nitrogen as carrier gas in flow of 2 mL/min (Sloneker, 1972). The monomers were identified by their retention times, compared to the standards.

3.4.2 Homogeneity analysis and molar mass determination by HPSEC-MALLS/RI

Homogeneity and weight mean molar mass by weight (M_w) of the galactomannan samples, AP e GG, were analyzed by HPSEC-MALLS/RI - high pressure steric exclusion chromatography coupled to multidetectors: laser light scattering with multiangles (LS) (DSP-F, Wyatt Technology, Santa Barbara, CA, USA) and refractive index (RI) (Waters 2410, Milford, MA, USA). For the analysis, 1 mg of sample was solubilized in sodium nitrite (NaNO_2) to 0.1 mol L^{-1} containing sodium azide (NaN_3) to 0.2 g L^{-1} . After, the samples were filtered through a cellulose acetate membrane with a pore size of $0.22 \mu\text{m}$, injected in a high pressure steric exclusion chromatograph (HPSEC) Waters® with ultrahydrogel permeation columns of 2000, 500, 250 and 120 connected in series, with exclusion limits of 7×10^6 , 4×10^5 , 8×10^4 e $5 \times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$, respectively. The data analysis was made using the ASTRA software, version 4.70.07 (Wyatt Technology - WYATT, 1993).

3.4.3 Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) analysis

The functional groups were analyzed by vibrational spectroscopy in the Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), using the IR Prestige-21 SHIMADZU® equipment, with spectral range of $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ and resolution of 4 cm^{-1} , 64 scans, using the tableting method with KBr (potassium bromide).

3.4.4 Rheological analysis

The rheological behavior of the AP and GG galactomannan solutions at 5% (w/v) was analyzed using a HAAKE MARS II® rheometer (Thermo Scientific), Equipped with Peltier system and thermo-circulating bath (DC5-HAAKE K15) to temperature control. For the analysis, the plate cone measurement system was used with the C60/2 °Ti sensor where were make the static analysis (flow curve and viscosity). Samples remained standing for 5 minutes prior to measurements initiation. All analyses were done in duplicate, being the results presented as mean and standard deviation, calculated from the statistical program GraphPad Prism, version 5.0. To evaluate the data, the software HAAKE RheoWin, version 4.30.0030 was used.

3.4.4.1 Static rheological analysis

Galactomannans samples were evaluated for their flow behavior and viscosity in continuous shear. The determinations were performed at shear rates varying between $0,01 \text{ s}^{-1}$ and 100 s^{-1} , at $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$, within 300 seconds.

3.4.5 Scanning electron microscopy analysis (SEM)

AP and GG samples were fixed in double carbon face stubs. Each stub was attached to the sample holder before being inserted into the microscope chamber. The polysaccharides were observed in a scanning electron microscope Phenom World® Pro-X model, operating at a voltage of 15 kW.

3.5 Functional properties

3.5.1 Water Holding Capacity (WHC)

The WHC was determined by dissolving 10 mg of sample in 1.5 mL of distilled water according to the methodology described by Jeddou et al. (2016). The WHC was expressed per g water/g dry polysaccharide, calculated using the formula below. The analysis was performed in triplicate.

$$WHC = \frac{\text{g of hydrated sample}}{\text{g of dry sample}}$$

3.5.2 Oil Holding Capacity (OHC)

The OHC was determined according to protocol described by Jeddou et al. (2016) with modifications. 0.5 g sample was placed and 3 mL of corn oil in a 15 mL graduated conical centrifuge tube. The oil sample was vortexed for 1 minute and then allowed to stand for 30 min. After centrifugation in a refrigerated centrifuge (Eppendorf® modelo 5810R), at 3.000 rpm for 25 minutes, the supernatant was measured and OHC was expressed per g oil/g dry polysaccharide using the formula below. The analysis was performed in triplicate.

$$OHC = \frac{\text{g of retained oil sample}}{\text{g of dry sample}}$$

3.6 Statistical Analysis

The results were expressed as mean $\pm$ standard deviation (SD) and percentage using GraphPad Prism Software Inc, version 5.00 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Differences were considered statistically significant when $p < 0.05$.

4. Results and discussion

4.1 Morphological characterization of seed and yield of endosperm.

The *A. pavonina* endospermic seeds presented dimensions with small variations between length and width, and mean weight of $0,29 \text{ g} \pm 0,02$ (Table 1), corroborating with reported by Tavares (1998) for seed sizes of the same plant species (0.92 cm for length, 0.90 cm for width and 0.62 cm for thickness). Regarding the mean endosperm yield (Table 1), in relation to the total weight of the seed, was 17.55%, value lower than reported by Cerqueira et al. (2009) for seeds of the same species (43,73%), *G. triacanthos* (67,13%) e *C. pulcherrima* (45,27%), and to found by Nwokocha & Williams (2012) for the endosperm seed of *L. leucocephala* (55,11% - 56,52%). According to Buckeridge (2010) the energy and water reserves for the embryo are the main functions performed by the endosperm, and according to Soriano et al. (2011) the size and composition of seed reserves may vary according to maternal environmental conditions, such as water and nutrients availability, radiation incidence, and ambient temperature. In this way, as the seeds collection occurred during the dry season, this fact may have influenced the low endospermic yield found.

Table 1.
Morphological characterization of *Adenantha pavonina* L. seed, and yields of the endosperm and galactomannan.

Parameters	*mean $\pm$ SD
Length (cm)	$0,92 \pm 0,46$
Width (cm)	$0,90 \pm 0,45$
Thickness (cm)	$0,61 \pm 0,38$
Weight (g)	$0,29 \pm 0,02$
Endosperm (%)	$17,55 \pm 2,94$
Galactomannan (%)	$19,62 \pm 5,89$

* The result of the morphological characteristics was expressed as mean $\pm$ standard deviation (SD) of a sample of 100 seeds. The result of endosperm and galactomannan yields was expressed as mean $\pm$ standard deviation (SD) of three determinations.

4.2 Extraction and yield of polysaccharide

The extracted galactomannan (AP) obtained a mean yield of 19.62% (Table 1), similar value to that found by Cerqueira et al. (2009) for the same plant species (17,11%), but lower

than reported by Cunha et al. (2009) for the galactomannan of *D. gardneriana* Tul. (31%), fenugreek (22,6%) (Brummer, Cui, & Wang, 2003), and for the referred mean for many seed species (30%) (Buckeridge, 2010). According to data reported in literature, the extraction yield may be linked to factors such as plant species (Cerqueira et al., 2009; Cunha et al., 2009; Dakia et al., 2008), seed pre-treatment methodology, allowing an efficient separation of the bark and endosperm germ (Cerqueira et al., 2009; Dakia et al., 2008), extraction methodology, where variables such as temperature and time, can influence in yield (Cerqueira et al., 2009; Zheng, Ren, Yang, & Yang, 2016), and the purification procedure used (Nwokocha & Williams, 2012). The low profitability found in this study can be explained by the low endosperm yield due to climatic factors, previously reported, plant species, and methodology used in the extraction, performed at room temperature.

4.3 Characterization of galactomannan.

4.3.1 Monosaccharide composition

The GLC analysis confirmed the predominance of monosaccharides mannose and galactose for AP and GG samples, with Man/Gal ratios of 1.7 and 1.5 respectively. Traces of other monosaccharides were also detected, such as arabinose (Ara) present in the two samples, and xylose (Xyl) only in guar gum (Table 2).

Different results for AP were reported by Cerqueira et al. (2009) (1,35), and Buckeridge, Dietrich, & de Lima (2000) (1,4). The Man/Gal ratio is cited as one of the most important parameters defining the galactomannan nature, may vary as evidenced in studies such as Prajapati et al. (2013) and Srivastava & Kapoor (2005), between a range of 1.0:1 to greater than 5.0:1. Among the factors that can influence this characteristic are the polysaccharide source (Brummer et al., 2003; Cerqueira et al., 2009; Dakia et al., 2008; Liyanage et al., 2015), degree of seeds maturation, cultivation place (Cerqueira et al., 2009), extraction process conditions (Cerqueira et al., 2009; Dakia et al., 2008; Dressler et al., 2003), and methodology used in the galactomannan purification (Cerqueira et al., 2009; Dakia et al., 2008). It should be noted that these variations may also explain the difference in the values of the Man/Gal ratio for polysaccharides of the same plant species.

Regarding the traces detection of monosaccharides arabinose and xylose (Table 2), can be attributed to the complex composition of the polysaccharide (Dakia et al., 2008; Razavi, Cui, & Ding, 2016; Nunes, Domingues, & Coimbra, 2005) and/or contaminants from seed

bark (Dakia et al., 2008).

Table 2.

Macromolecular parameters of the galactomannans of *Adenanthera pavonina* L., and guar gum

(A) Monosaccharide composition and Man/Gal ratio		
Composition	Samples	
	<i>A. pavonina</i> L.	guar gum
Mannose (%)	62.66	59.78
Galactose (%)	36,52	39,38
Arabinose (%)	0,83	2,31
Xylose (%)	-	1,53
Man/Gal	1,7:1	1,5:1
(B) Molecular characteristics		
Mw (g mol ⁻¹)	8,81	1,02
Mn (g mol ⁻¹)	6,37	7,94
Polydispersity index Mw/Mn	1,17	1,09

4.3.2 HPSEC-MALLS/RI analysis

AP and GG samples were analyzed for homogeneity and determination of the weight mean molar mass by the HPSEC-MALLS/RI technique (Figure 1), demonstrating a homogeneous elution profile, with well-defined peak in approximately 36 minutes, to both samples, indicated by the RI and LS detectors, being this characteristic finding of polysaccharides, according to Vianna Filho (2009). Regarding the weight mean molar mass (Mw) found for AP ($8,8 \times 10^5$ g mol⁻¹) was lower than that of GG ($1,02 \times 10^6$ g mol⁻¹) (Table 2), but similar to that reported for other galactomannans such as *C. siliqua* ($8,16 \times 10^5$ g mol⁻¹) (Koop, 2012), and *M. scabrella* ($8,48 \times 10^5$ g mol⁻¹) (Vendruscolo et al., 2009). For the polydispersity index (Mw/Mn) similar values were found for both AP (1,1) and GG (1,0) (Table 2), suggesting homogeneous dispersion of the polysaccharide. According to Jeddou et al. (2016) Mw/Mn > 1.0 rates indicate covalent interactions of the polysaccharide with other polymers such as cellulose, characterizing the inhomogeneous dispersion of the sample.

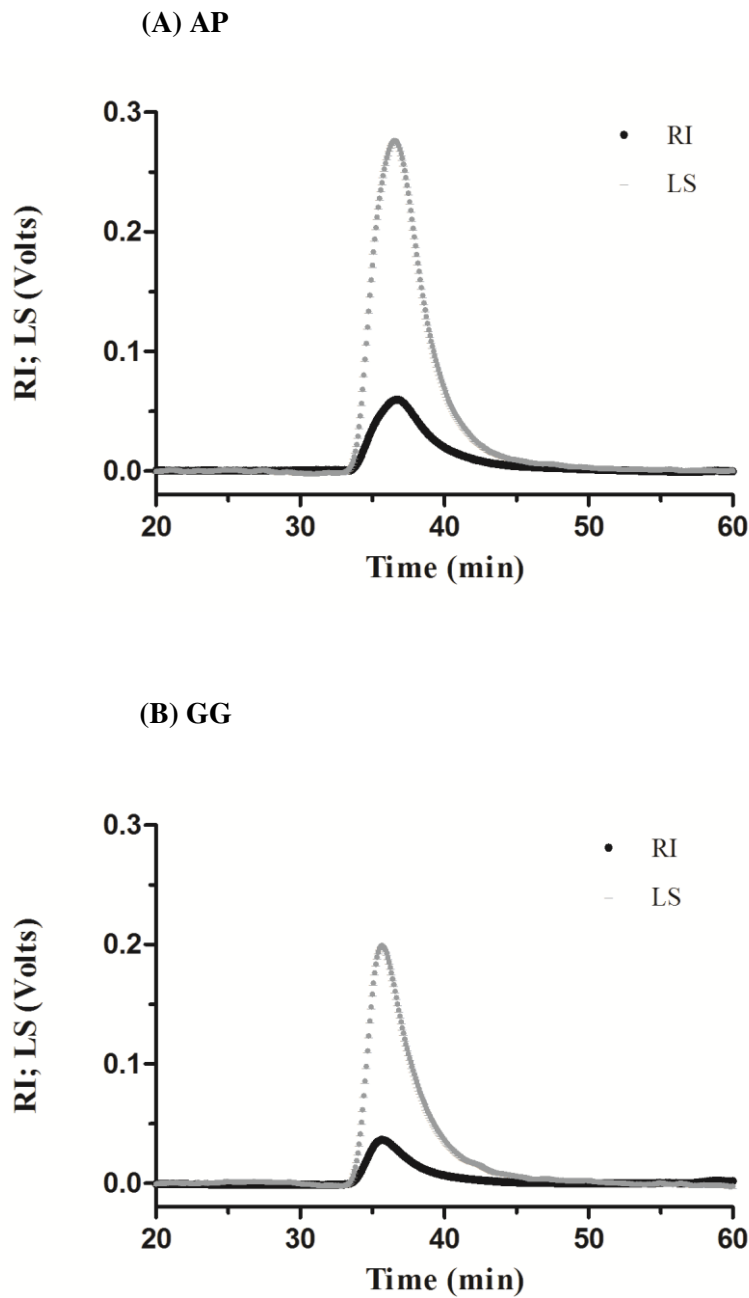


Figure 1. Elution profile of HPSEC/MALLS/RI. (A) AP: *Adenanthera pavonina* L. galactomannan (B) GG: galactomannan guar gum.

4.3.3 Continuous shear flow rheological analysis

The experimental data obtained for the solutions of 5% AP and GG (w/v), were fitted into the mathematical model of *Ostwald de Waele*, determined by the mathematical equation ($\tau = K\dot{\gamma}^n$) where τ is the shear stress (Pa), K is the consistency coefficient ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$), $\dot{\gamma}$ is the shear rate (s^{-1}) and n is the flow behavior index (RAO, 2007). According to Steffe (1996), when the K value is greater than 0 and the n value is between $0 < n < 1$, the fluid is considered non-Newtonian and pseudoplastic. The K and n values determined for AP were 10.34 and 0.66,

and for GG of 9.40 and 0.58, respectively, indicating for both samples a non-Newtonian behavior, evidenced in the flow curves (Figure 2), where a non-proportional increase of the shear rate in relation to the shear stress was observed. As for the pseudoplastic behavior, demonstrated by the apparent viscosity curves (Figure 3) is characterized by the viscosity decrease with the increase of the shear rate (Rao, 2007). According to Albuquerque et al. (2014) the viscosity reduction as a function of the increase of the shear rate is caused by a disruption induced by shear in the macromolecular chain. Rheological behavior similar to that found in this research was reported for other galactomannans sources such as *C. grandhis* (Albuquerque et al., 2014), *G. triancanthos* (Sciarini, Maldonado, Ribotta, Pérez, & León, 2009) and *locust bean* (Dakia et al., 2008), suggesting according to Razavi et al. (2016) stabilizing and thickening properties of the hydrocolloid, suitable for various industrial applications such as medical and food areas.

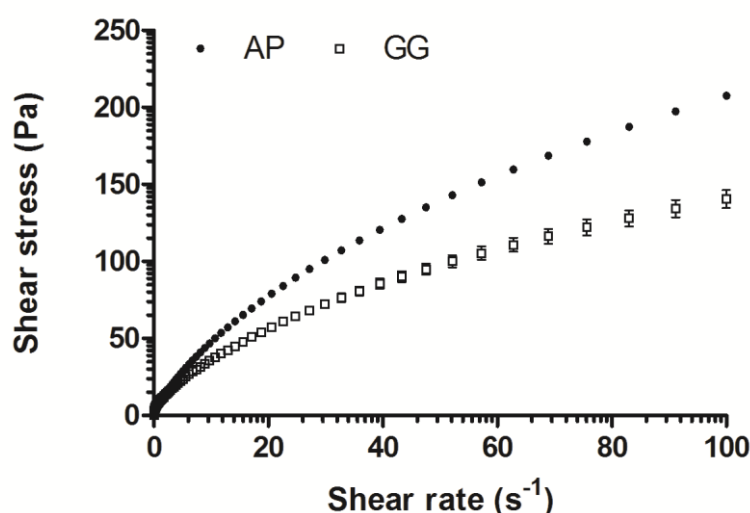


Figure 2. Flow curve executed in CR 0,01 – 100 s^{-1} mode, at 25 °C. AP: *Adenanthera pavonina* L. galactomannan; GG: galactomannan guar gum.

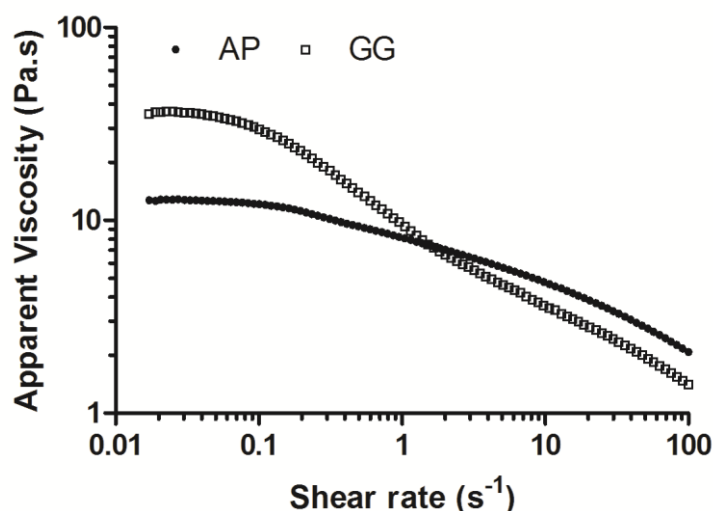


Figure 3. Viscosity curve obtained from the flow curve. AP: *Adenanthera pavonina* L. galactomannan; GG: galactomannan guar gum.

4.3.4 FT-IR analysis

FT-IR spectroscopy is considered a rapid and non-destructive analytical tool to identify the contaminants presence in samples and chemical structure modifications (Liyanage et al., 2015; Mudgil, Barak, & Khatkar, 2012). The FT-IR results for AP and GG presented similar characteristics, being possible to observe in the graph the presence of similar peaks (Figure 4). The absorption area at approximately 3400 cm^{-1} is characteristic of carbohydrate in ring (Albuquerque et al., 2014) and represents vibrational stretching of O – H in polysaccharides, and in relation to the broadband between 1200 cm^{-1} e 800 cm^{-1} results from highly coupled stretches of the polymer main chain (C – C – O, C – OH e C – O – C) (Mudgil et al., 2012; Shobha, Vishukumar, Tharanathan, Koka, & Gaonkar, 2005), being called the “finger print” zone for carbohydrates (Razavi et al., 2016). The absorption area between 874 cm^{-1} e 814 cm^{-1} indicate the presence of α -configuration binding of D – galactopyranose units and binding with β -configuration of D – manopyranose units, respectively (Albuquerque et al., 2014; Cerqueira et al., 2011; Hu, Kong, Yang, & Pan, 2011). Thus, according to the presented result, it was evident the presence of galactomannans typical spectra. This information, together with the monosaccharide composition obtained in the chromatographic analysis, confirms the nature of the polymer.

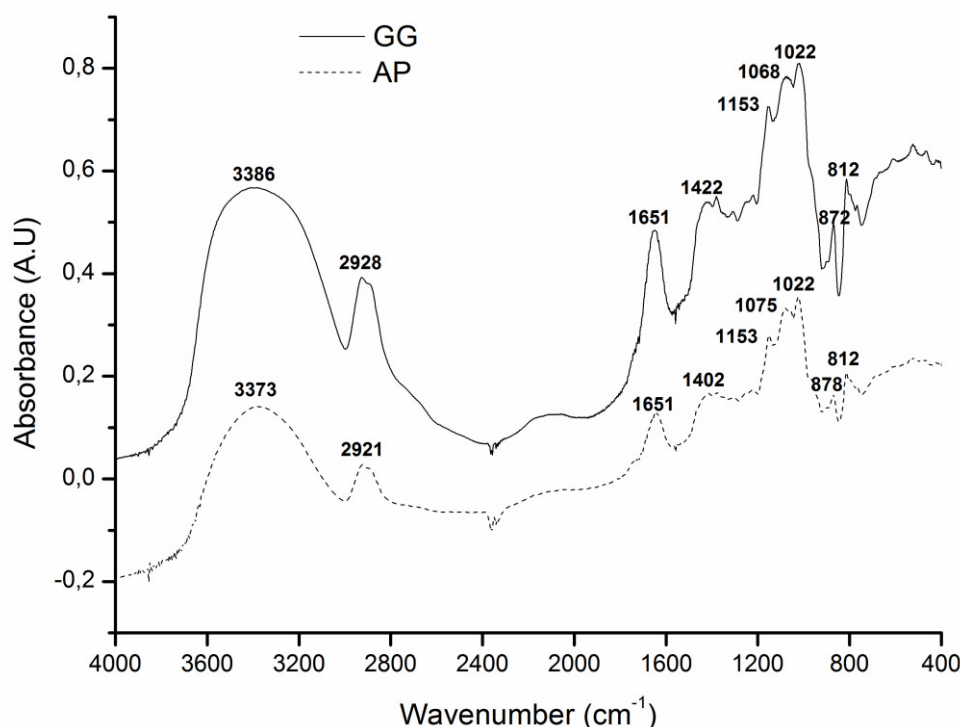


Figure 4. FT-IR spectrum of *Adenanthera pavonina* L. (AP) galactomannans and guar gum (GG)

4.3.5 SEM analysis

Scanning electron microscopy is considered an important tool for the morphological study of the macromolecules surface, helping to better understand their physical properties (Prasanna, Bell, Grandison, & Charalampopoulos, 2012). SEM images at 100 μm show irregular surface for both samples, AP e GG, however, morphologically rougher for AP (Fig. 5A), and compact for GG (Fig. 5B). In the analysis at 10 μm the galactomannan structure in study (AP) was more porous when compared to the more dense structure of the standard gum (GG) (Fig. 5A e 5B), however, in the 8 μm reading the porosity of both samples showed to be similar (Fig. 5A e 5B). These findings corroborate with reported by Savitha Prashanth et al. (2006) for samples of guar gum, which showed irregular surface with some clusters, besides a slightly rough appearance and with cavities, indicating the pores presence. Soares et al. (2015) also reported in their research on the irregular and rough morphology characteristic of galactomannans. According to Li, Wang, Wang, & Xiong, (2016) e Prasanna et al. (2012) porous structures can result in a higher water holding capacity, which may explain the high WHC found for both evaluated and standard gum. Regarding rougher morphology observed in AP compared to GG, can be attributed to the drying process of the polysaccharide after

extraction, where hot and continuous air flow was used before spraying, because according to Li et al. (2016) the method used in the drying can lead to the breaking of the microstructure of the polymer, changing their physical properties.

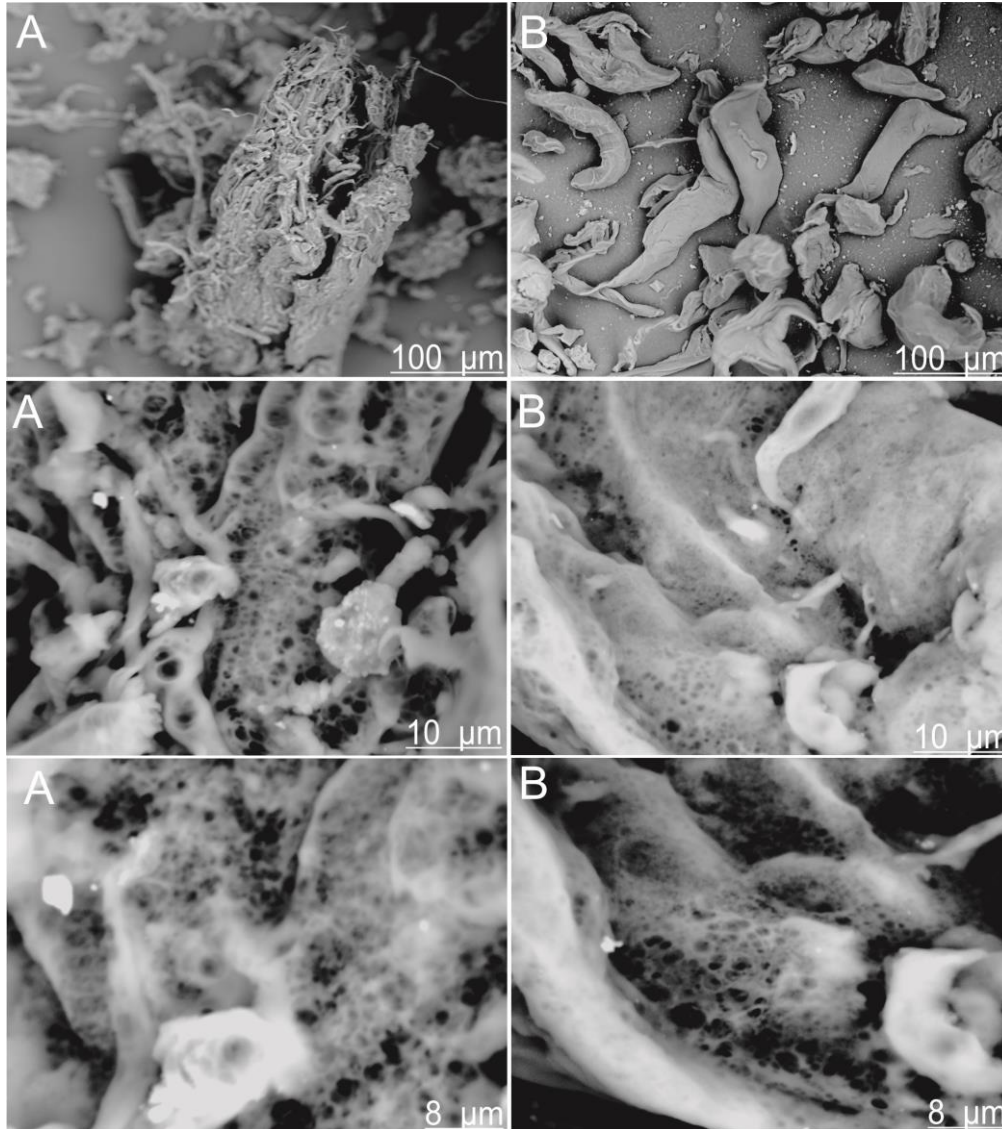


Figure 5. Scanning electron microscopy images of galactomannans from (A) *Adenanthera pavonina* L. and (B) guar gum in resolutions of 100 μm , 10 μm and 8 μm .

5. Functional properties

The water holding capacity of AP was lower than that obtained for GG (Table 3). Lower values were reported by Sciarini et al. (2009) with *G. triacanthos* galactomannan seeds, obtained by different methodologies, not exceeding 15.79 g de $\text{H}_2\text{O}/\text{g}$ of the sample, and also by Chang, Cui, Roberts, Ng, & Wang (2011) showed that the fenugreek galactomannan, extracted at high temperatures, ranging from 105 $^{\circ}\text{C}$ to 150 $^{\circ}\text{C}$, did not

exceed 27.63 g of H₂O/g of the sample. Galactomannans have a hydroxyl-rich chain that establishes hydrogen bonds with water molecules, being responsible for the dispersion of the gum in aqueous solution. The hydroxyl groups number may vary according to the branching degree of the galactose residues, being higher the free hydroxyls number the greater the existing branches number. Thus, the lower Man/Gal ratio the better the association of gum with water (Liyanage et al., 2015). Sciarini et al. (2009) also observed that drastic extraction conditions, such as high temperatures, may facilitate the unfolding of the polysaccharide molecule, increasing the availability of the hydroxyl groups and thus improving characteristics such as water holding of the gum. However, more severe extraction conditions can promote the collapse of the polymer structure, impairing its water holding capacity (Chang et al., 2011). Thus, the high value for WHC found in this research can be related not only to the Man/Gal ratio of AP (1.7: 1), but also to the temperature used in obtaining, which although elevated (100 °C), remained for a short time (20 minutes), which may have prevented the polymer structure collapse.

The oil holding capacity (OHC) of AP was higher than that found for GG (Table 3), and also presented values higher than those reported by Kaltsa, Yanniotis, & Mandala (2016) for different fenugreek galactomannan sources (0.47 – 0.70 g of oil/g of sample), Mirhosseini & Amid (2012) and Galla & Dubasi (2010), with durian seed gum (*Durio zibethinus*), obtained by different chemical extraction forms (0.43 – 1.28 g of oil/g of sample), e goma de karaya (*Sterculia urens*) (0.81 – 1.14 g of oil/g of sample) respectively. Jeddou et al. (2016) in their work with water-soluble polysaccharides obtained from potato skins, found more expressive values for this functional property (4.39 g of oil/g of sample). According to Biswas, Kumar, Bhosle, Sahoo, & Chatli. (2009), OHC is an important characteristic of polysaccharides, being associated in part with its chemical composition, but mainly with the porosity of the fibers structure. Fact confirmed by Chau & Huang (2003), who report being OHC influenced by factors such as surface area, porosity and capillarity of the fiber.

Table 3.
Water (WHC) and oil (OHC) holding capacity in *Adenanthera pavonina* L., and guar gum

Parameters	Samples		<i>p</i> value
	<i>A. pavonina</i> L.	guar gum	
Water holding capacity (g/g)	63,35 ± 6,7	83,83 ± 9,7	< 0,05
Oil holding capacity (g/g)	3,04 ± 0,13	2,12 ± 0,1	< 0,05

Results expressed as mean ± standard deviation of three determinations.

Statistical significance ($p < 0.05$).

6. Conclusions

The methodology of extraction adapted used in this work was adequate to obtain the galactomannan of the seeds of *A. pavonina* L., with the polysaccharide presenting a compatible yield with the vegetal specie and extraction conditions. The mannose/galactose ratio approached that described in literature for the same plant species. Moreover, the galactomannan evaluated also demonstrated molecular weight, behavior of non-Newtonian and pseudoplastic flow, functional groups presence, micromorphology, and functional properties similar to those presented by the commercial standard used, guar gum. In this way, the results showed that the galactomannan evaluated can be considered a viable alternative of polysaccharide, appropriate for biotechnological applications in both the industrial and medical fields.

Acknowledgements

We would like to thank the Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) for financial support.

Conflict of interest

No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the authors.

References

- Albuquerque, P. B. S., Barros, W., Santos, G. R. C., Correia, M. T. S., Mourão, P. A. S., Teixeira, J. A., & Carneiro-da-Cunha, M. G. (2014). Characterization and rheological study of the galactomannan extracted from seeds of *Cassia grandis*. *Carbohydrate Polymers*, 104, 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.01.010>
- Biswas, A. K., Kumar, V., Bhosle, S., Sahoo, J., & Chatli, M. K (2011). Dietary fibers as functional ingredients in meat products and their role in human health. *International Journal of Livestock Production*. 2 (4), 45-54
- Bouquet, A., & Debray, M. (1974). Medicinal Plants in Ivory Coast. Document Ostrom France. 1-4
- Brummer, Y., Cui, W., & Wang, Q. (2003). Extraction, purification and physicochemical characterization of fenugreek gum. *Food Hydrocolloids*, 17(3), 229–236. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(02\)00054-1](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(02)00054-1)
- Buckeridge, M. S., Dietrich, S. M. C., & de Lima, D. U. (2000). Galactomannans as the reserve carbohydrate in legume seeds. In *Developments in Crop Science* (Vol. 26, pp. 283–316). Elsevier. Retrieved from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378519X0080015X>
- Buckeridge, M. S. (2010). Seed Cell Wall Storage Polysaccharides: Models to Understand Cell Wall Biosynthesis and Degradation. *Plant Physiology*. 154, 1017-1023
- Buriti, F. C. A., dos Santos, K. M. O., Sombra, V. G., Maciel, J. S., Teixeira Sá, D. M. A., Salles, H. O., ... Egito, A. S. (2014). Characterisation of partially hydrolysed galactomannan from *Caesalpinia pulcherrima* seeds as a potential dietary fibre. *Food Hydrocolloids*, 35, 512–521. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.015>
- Cerqueira, M. A., Pinheiro, A. C., Souza, B. W. S., Lima, Á. M. P., Ribeiro, C., Miranda, C., ... Vicente, A. A. (2009). Extraction, purification and characterization of galactomannans from non-traditional sources. *Carbohydrate Polymers*, 75(3), 408–414. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.07.036>
- Cerqueira, M. A., Souza, B. W. S., Simões, J., Teixeira, J. A., Domingues, M. R. M., Coimbra, M. A., & Vicente, A. A. (2011). Structural and thermal characterization of

galactomannans from non-conventional sources. *Carbohydrate Polymers*, 83(1), 179–185.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.07.036>

Chang, Y. H., Cui, S. W., Roberts, K. T., Ng, P. K. W., & Wang, Q. (2011). Evaluation of extrusion-modified fenugreek gum. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1296–1301.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.12.003>

Chau, C.-F., & Huang, Y.-L. (2003). Comparison of the Chemical Composition and Physicochemical Properties of Different Fibers Prepared from the Peel of *Citrus sinensis* L. Cv. Liucheng. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(9), 2615–2618.
<https://doi.org/10.1021/jf025919b>

Cunha, P. L. R., Paula, R. C. M. de, & Feitosa, J. P. A. (2007). Purification of guar gum for biological applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 41(3), 324–331.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2007.04.003>

Cunha, P. L. R., Vieira, Í. G. P., Arriaga, Â. M. C., de Paula, R. C. M., & Feitosa, J. P. A. (2009). Isolation and characterization of galactomannan from *Dimorphandra gardneriana* Tul. seeds as a potential guar gum substitute. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 880–885.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.05.005>

Dakia, P. A., Blecker, C., Robert, C., Wathélet, B., & Paquot, M. (2008). Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid or water dehulling pre-treatment. *Food Hydrocolloids*, 22(5), 807–818.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.03.007>

Dea, I. C. M., & Morrison, A. (1975). Chemistry and Interactions of Seed Galactomannans. In *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* (Vol. 31, pp. 241–312). Elsevier. Retrieved from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S006523180860298X>

Dressler, M., Fischer, P., & Windhab, E. J. (2003). Rheological Characterization and Modeling of Aqueous Guar Gum Solution. 3^a Ed International Symposium and Food Rheology and Structure. 249-253

Galla, N. R., & Dubasi, G. R. (2010). Chemical and functional characterization of Gum karaya (*Sterculia urens* L.) seed meal. *Food Hydrocolloids*, 24(5), 479–485.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.12.003>

- Hu, C., Kong, Q., Yang, D., & Pan, Y. (2011). Isolation and structural characterization of a novel galactomannan from *Eremurus anisopterus* (Ker. et Kir) Regel roots. *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 402–406. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.11.054>
- Jeddou, K. B., Chaari, F., Maktouf, S., Nouri-Ellouz, O., Helbert, C. B., & Ghorbel, R. E. (2016). Structural, functional, and antioxidant properties of water-soluble polysaccharides from potatoes peels. *Food Chemistry*, 205, 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.108>
- Jiang, J., Jian, H., Cristhian, C., Zhang, W., & Sun, R. (2011). Structural and thermal characterization of galactomannans from genus *Gleditsia* seeds as potential food gum substitutes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(4), 732–737. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4243>
- Joshi, H., & Kapoor, V. P. (2003). Cassia grandis Linn. f. seed galactomannan: structural and crystallographical studies. *Carbohydrate Research*, 338(18), 1907–1912. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(03\)00258-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(03)00258-1)
- Kaltsa, O., Yanniotis, S., & Mandala, I. (2016). Stability properties of different fenugreek galactomannans in emulsions prepared by high-shear and ultrasonic method. *Food Hydrocolloids*, 52, 487–496. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.024>
- Koop, H. S. (2012). Hydrogels Binary Xanthan and Galactomannan with Incorporation of Curcuma Aiming to Use Topic. Federal University of Paraná-Brazil: Doctor Thesis
- Li, X., Wang, L., Wang, Y., & Xiong, Z. (2016). Effect of drying method on physicochemical properties and antioxidant activities of *Hohenbuehelia serotina* polysaccharides. *Process Biochemistry*, 51(8), 1100–1108. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.05.006>
- Liyanage, S., Abidi, N., Auld, D., & Moussa, H. (2015). Chemical and physical characterization of galactomannan extracted from guar cultivars (*Cyamopsis tetragonolobus* L.). *Industrial Crops and Products*, 74, 388–396. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.013>
- Mirhosseini, H., & Amid, B. T. (2012). Influence of Chemical Extraction Conditions on the Physicochemical and Functional Properties of Polysaccharide Gum from Durian (*Durio zibethinus*) Seed. *Molecules*, 17(12), 6465–6480. <https://doi.org/10.3390/molecules17066465>

- Miyazawa, T., & Funazukuri, T. (2006). Noncatalytic hydrolysis of guar gum under hydrothermal conditions. *Carbohydrate Research*, 341(7), 870–877. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2006.02.014>
- Mudgil, D., Barak, S., & Khatkar, B. S. (2012). X-ray diffraction, IR spectroscopy and thermal characterization of partially hydrolyzed guar gum. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(4), 1035–1039. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.02.031>
- Nunes, F. M., Domingues, M. R., & Coimbra, M. A. (2005). Arabinosyl and glucosyl residues as structural features of acetylated galactomannans from green and roasted coffee infusions. *Carbohydrate Research*, 340(10), 1689–1698. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2005.05.002>
- Nwokocha, L. M., & Williams, P. A. (2012). Rheological characterization of the galactomannan from *Leucaena leucocephala* seed. *Carbohydrate Polymers*, 90(2), 833–838. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.06.008>
- Prajapati, V. D., Jani, G. K., Moradiya, N. G., Randeria, N. P., Nagar, B. J., Naikwadi, N. N., & Variya, B. C. (2013). Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 60, 83–92. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.05.017>
- Prasanna, P. H. P., Bell, A., Grandison, A. S., & Charalampopoulos, D. (2012). Emulsifying, rheological and physicochemical properties of exopolysaccharide produced by *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CCUG 52486 and *Bifidobacterium infantis* NCIMB 702205. *Carbohydrate Polymers*, 90(1), 533–540. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.05.075>
- Rao, M. A. (2007). Rheological behavior of processed fluid and semisolid foods. *Rheology of fluid and semisolid foods*, 223–337
- Razavi, S. M. A., Cui, S. W., & Ding, H. (2016). Structural and physicochemical characteristics of a novel water-soluble gum from *Lallemantia royleana* seed. *International Journal of Biological Macromolecules*, 83, 142–151. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.076>
- Savitha Prashanth, M. R., Parvathy, K. S., Susheelamma, N. S., Harish Prashanth, K. V., Tharanathan, R. N., Cha, A., & Anilkumar, G. (2006). Galactomannan esters—A simple,

cost-effective method of preparation and characterization. *Food Hydrocolloids*, 20(8), 1198–1205. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.01.004>

Sciarini, L. S., Maldonado, F., Ribotta, P. D., Pérez, G. T., & León, A. E. (2009). Chemical composition and functional properties of *Gleditsia triacanthos* gum. *Food Hydrocolloids*, 23(2), 306–313. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.02.011>

Shobha, M., Vishukumar, A., Tharanathan, R., Koka, R., & Gaonkar, A. (2005). Modification of guar galactomannan with the aid of pectinase. *Carbohydrate Polymers*, 62(3), 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.07.031>

Sloneker, J. H. (1972). Gas-liquid Chromatography of alditol acetates. *Methods in Carbohydrate Chemistry*. 6, 20-24

Soares, P. A. G., C de Seixas, J. R. P., Albuquerque, P. B. S., Santos, G. R. C., Mourão, P. A. S., Barros, W., ... Carneiro-da-Cunha, M. G. (2015). Development and characterization of a new hydrogel based on galactomannan and κ -carrageenan. *Carbohydrate Polymers*, 134, 673–679. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.08.042>

Soriano, D., Orozco-Segovia, A., Marquez-Guzman, J., Kitajima, K., Gamboa-de Buen, A., & Huante, P. (2011). Seed reserve composition in 19 tree species of a tropical deciduous forest in Mexico and its relationship to seed germination and seedling growth. *Annals of Botany*, 107(6), 939–951. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr041>

Srivastava, M., & Kapoor, V. ?P. (2005). Seed Galactomannans: An Overview. *Chemistry & Biodiversity*, 2(3), 295–317. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200590013>

Steffe, J. F (1996). Rheological methods in food process engineering. Freeman press

Tapie, N., Malhiac, C., Hucher, N., & Grisel, M. (2008). Determination of galactose and mannose residues in natural galactomannans using a fast and efficient high-performance liquid chromatography/UV detection. *Journal of Chromatography A*, 1181(1–2), 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.12.027>

Tavares, R. O. (1998). Galactomannan of *Adenanthera pavonina* L. Application for the isolation of galactose-specific lectins. Federal University of Ceará-Brazil: Msc. Thesis

Vendruscolo, C. W., Ferrero, C., Pineda, E. A. G., Silveira, J. L. M., Freitas, R. A., Jiménez-Castellanos, M. R., & Bresolin, T. M. B. (2009). Physicochemical and mechanical

characterization of galactomannan from *Mimosa scabrella*: Effect of drying method. *Carbohydrate Polymers*, 76(1), 86–93. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.09.028>

Viana Filho, R. P (2009). Application of Polysaccharides in Cosmetic Emulsion: Rheological analyses. Federal University of Paraná-Brazil: Msc. Thesis

Wolfson, M. L., & Thompson, A. (1963). Reduction with sodium borohydride. *Methods of Carbohydrate Chemistry*. 2, 65-68

Wyatt, P. J. (1993). Light Scattering and The Absolute Characterization of Macromolecules. *Analytica Chimica Acta*. 272, 1-40

Zheng, Q., Ren, D., Yang, N., & Yang, X. (2016). Optimization for ultrasound-assisted extraction of polysaccharides with chemical composition and antioxidant activity from the *Artemisia sphaerocephala* Krasch seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 856–866. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.042>

6. CAPÍTULO II

Artigo a ser submetido ao periódico *Nutrition*

(ISSN: 0899 – 9007)

Fator de Imapcto: 2.839

Qualis: B 1 (Biotecnologia – 2015)

**“Efeito da galactomanana de *Adenantha pavonina* Linn. na
dislipidemia induzida por dieta hipercalórica em ratos”.**

Efeito da galactomanana de *Adenanthera pavonina* Linn. na dislipidemia induzida por dieta hipercalórica em ratos.

Daniele Gomes Cassias Rodrigues M.Sc^a, Kátia Danielle Araújo Lourenço Viana M.Sc^b, Germana Freire Rocha Caldas Ph.D^b, Wermerson Assunção Barroso M.Sc^b, Érika Meire dos Santos Martins Graduated^c, Thanara da Conceição da Silva Graduated^c, Ivone Garros Rosa^b, Marilene Oliveira da Rocha Borges Ph.D^{a,*}

^aDepartamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Maranhão, Avenida dos Portugueses 1966, São Luís Cep: 65080-805, MA, Brasil. E-mail: danicassias@yahoo.com.br

^{a,*}Departamento de Ciências Fisiológicas/Laboratório de Pesquisa e Pós-graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Maranhão, Avenida dos Portugueses 1966, São Luís Cep: 65080-805, MA, Brasil. E-mail: morborges@yahoo.com.br

^bDepartamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Maranhão, Avenida dos Portugueses 1966, São Luís Cep: 65080-805, MA, Brasil. E-mail: katnutri@hotmail.com

^bPrograma de pós-graduação em Ciências da Saúde/Laboratório de Pesquisa e Pós-graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Maranhão, Avenida dos Portugueses 1966, São Luís Cep: 65080-805, MA, Brasil. E-mail: germanafreire@yahoo.com.br

^bDepartamento de Ciências Fisiológicas/Laboratório de Pesquisa e Pós-graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Maranhão, Avenida dos Portugueses 1966, São Luís Cep: 65080-805, MA, Brasil. E-mail: wermersonbarroso@yahoo.com

^bDepartamento de Patologia/Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada, Universidade Federal do Maranhão, Avenida dos Portugueses 1966, São Luís Cep: 65080-805, MA, Brasil. E-mail: ivonegarros@yahoo.com.br

^cPrograma de pós-graduação em Ciências da Saúde/Laboratório de Pesquisa e Pós-graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Maranhão, Avenida dos Portugueses 1966, São Luís Cep: 65080-805, MA, Brasil. E-mail: erikamsmartins@hotmail.com

^cPrograma de pós-graduação em Ciências da Saúde/Laboratório de Pesquisa e Pós-graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Maranhão, Avenida dos Portugueses 1966, São Luís Cep: 65080-805, MA, Brasil. E-mail: thanara.csilva@hotmail.com

*Corresponding author. Tel: 05598 3272-8533; Fax: 05598 3272-8004. E-mail adress: morborges@yahoo.com.br. Permanent adress: Laboratório de Pesquisa e Pós-graduação em Farmacologia, Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Maranhão, Avenida dos Portugueses 1966, São Luís Cep: 65080-805, Maranhão, Brasil.

Resumo

Objetivo: Analisar os efeitos da galactomanana de *A. pavonina* L., uma fonte não-tradicional de fibra solúvel, sobre os parâmetros da dislipidemia induzida por dieta hipercalórica em Ratos *Wistar* fêmeas.

Métodos: Nos experimentos foram utilizadas ratas *Wistar* divididas aleatoriamente em quatro grupos: GP (grupo ração padrão) que recebeu Nuvilab[®], GH (grupo ração hipercalórica), GHGA (grupo ração hipercalórica + gel de galactomanana de *A. pavonina*) e GHGG (grupo ração hipercalórica + gel de goma guar, utilizada como padrão) que receberam dieta hipercalórica por 18 semanas para indução da dislipidemia. GHGA e GHGG também receberam, simultaneamente, tratamento com 500 µL de gel a 5%, por gavagem, das respectivas galactomananas. Após esse período foram avaliados os efeitos sobre o ganho ponderal, adiposidade abdominal e perfil lipídico sérico e hepático. Adicionalmente, foi avaliado o efeito da galactomanana sobre a motilidade gastrointestinal utilizando modelos de esvaziamento gástrico e trânsito intestinal.

Resultados: A galactomanana de *A. pavonina* preveniu o ganho ponderal, mas não evitou o acúmulo de gordura abdominal, assim como a goma guar. O polímero avaliado também mostrou efeito sobre o aumento do HDL-C e redução do TG sérico e hepático, enquanto a goma guar mostrou efeito apenas para redução do TG sérico. Ambas as galactomananas mostraram ação sobre a diminuição da motilidade intestinal, sugerindo controle da saciedade associada a esse mecanismo.

Conclusão: A galactomanana de *A. pavonina* apresentou efeitos mais pronunciados que a goma guar, mostrando-se uma fonte promissora de fibra solúvel na prevenção do ganho ponderal e de anormalidades lipídicas.

Palavras-chave: dislipidemia, galactomanana, goma, polissacarídeo, fibra alimentar, ração hipercalórica.

Introdução

As dislipidemias caracterizam-se por alterações no metabolismo lipídico e das lipoproteínas, podendo ser de origem hereditária ou consequente a doença de base como obesidade, diabetes *mellitus* (DM), e síndrome metabólica (SM) [1]. Dentre as causas secundárias, o excesso de peso, e particularmente a adiposidade abdominal, bem como seus determinantes dietéticos, merecem papel de destaque, contribuindo frequentemente para o

desenvolvimento dessa condição [2,3]. Neste contexto, a adoção de hábitos saudáveis, incluindo uma dieta equilibrada com consumo adequado de fibras dietéticas [3], especialmente as do tipo solúveis, parece exercer um papel protetor [4,5].

Dentre os mecanismos de ação das fibras solúveis destaca-se a sua capacidade em formar géis, o que resulta em bolo alimentar mais viscoso com conseqüente retardo do esvaziamento gástrico e motilidade intestinal, contribuindo para o aumento da saciedade [6,7,8], digestão e absorção diminuída de nutrientes [8]. Além disso, são precursoras dos ácidos graxos de cadeia curta, aos quais são atribuídas diversas ações de proteção sobre parâmetros metabólicos como as alterações lipídicas [4].

As galactomananas são exemplos de fibra solúvel, viscosas, e fermentáveis [6], comumente extraídas do endosperma de leguminosas [9], que devido suas propriedades físico-químicas específicas e ausência de toxicidade têm sido empregadas amplamente por diversas áreas da indústria, incluindo a farmacêutica e alimentar [10]. Na área médica tem sido atribuído a esse polissacarídeo efeito coadjuvante ao tratamento de várias desordens como câncer, síndrome metabólica, obesidade [11], e diabetes *mellitus* tipo 2 (DM 2) [12].

A espécie *Adenanthera pavonina* Linn. é uma planta pertencente à família *Fabaceae* (*Leguminosae*), subfamília *Mimosoideae*, nativa da Ásia Tropical [13], cuja as sementes são fonte de galactomanana com estrutura típica [14]. Estudos de caracterização da galactomanana desta espécie são escassos, e embora, este polissacarídeo mostre amplo potencial biotecnológico, ainda é subexplorado [15], havendo, portanto, necessidade de mais estudos de avaliação das propriedades desse polímero. Dessa forma, o presente estudo avaliou os efeitos da galactomanana de *A. pavonina*, uma fonte não tradicional de fibra solúvel, na dislipidemia induzida por dieta hipercalórica em ratas.

Material e Métodos

Material vegetal

As sementes de *A. pavonina* L. foram coletadas no Campus Dom Delgado da Universidade Federal do Maranhão, em São Luís – Maranhão (2.5563 °S, 44.3081 °W), entre o período de Agosto a novembro de 2015, pertencente a estação seca na região. A planta foi identificada e encontra-se catalogada no acervo do Herbário MAR (Herbário do Maranhão) sob número de tombo: 9.207. As sementes foram retiradas das vagens, selecionadas e estocadas em temperatura ambiente até a sua utilização.

Isolamento da galactomanana de *A. pavonina* e preparação do gel

As sementes de *A. pavonina* foram submetidas a um tratamento térmico em água destilada a 100 °C por 20 minutos, na proporção de 1:5 (m/v), para inativação das enzimas e retirada de pigmentos. Em seguida a água residual foi descartada e as sementes foram hidratadas com água destilada, na proporção de 1:5 (m/v), permanecendo sob refrigeração (12 °C) por 24 horas. Os endospermas foram removidos manualmente e permaneceram armazenados sob refrigeração até a sua utilização, segundo metodologia adaptada de Cunha et al. [16].

Os endospermas foram então suspensos em água destilada na proporção de 1:16 (m/v) e homogeneizados durante 10 minutos até a formação de uma solução viscosa que foi filtrada em tecido de nylon. O polissacarídeo foi obtido por precipitação em ETOH 92,8% (1:2, v/v) e em seguida desidratado com ETOH e acetona P.A. O sólido obtido foi então seco em fluxo de ar quente contínuo e posteriormente pulverizado, segundo procedimentos descritos por Buriti et al. [17], com adaptações. A goma guar, galactomanana comercial utilizada como padrão no estudo, foi adquirida da Sigma Aldrich®.

Para a preparação do gel de concentração a 5%, da galactomanana de *A. pavonina* (GA) e goma guar (GG) foram utilizados 1,5 g de pó dos respectivos polissacarídeos adicionados a 30 mL de água destilada, sob agitação constante em agitador magnético durante 30 minutos. Posteriormente, para completa dissolução dos grumos, a solução foi submetida ao aquecimento em Banho-Maria a 60 °C, durante 20 minutos.

Animais

Nos experimentos foram utilizados ratos *Wistar* (*Rattus norvegicus*) fêmeas, com 60 dias e peso médio de 250 g, procedentes do Biotério Central da UFMA. A pesquisa seguiu os princípios éticos da experimentação com animais elaborados pelo COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMA, sob parecer número: 23115.003583/2016-12.

Dieta

Para indução da dislipidemia os animais foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos: GP (grupo ração padrão), GH (grupo ração hipercalórica), GHGG (grupo ração hipercalórica + gel de goma guar), e GHGA (grupo ração hipercalórica + gel de

galactomanana de *A. pavonina*). O grupo GP recebeu ração padrão para ratos (Nuvilab®), enquanto os demais receberam dieta hipercalórica, com cinco formulações diferentes (H-1, H-2, H-3, H-4, H-5), ofertada em ciclos de sete dias cada, durante um intervalo de 18 semanas, conforme o protocolo descrito por Nascimento et al. [18] com modificações (Tabela 1). Os grupos GH e GP receberam 0,1 mL/100 g de água destilada e os grupos GHGG e GHGA foram tratados simultaneamente à oferta da ração hipercalórica com 500 µL de gel a 5% de goma guar e galactomanana de *A. pavonina*, respectivamente, por via oral, diariamente, durante 18 semanas. Todos os animais tiveram livre acesso à água e aos pellets de ração, e foram mantidos sob condições controladas de luz, temperatura e umidade.

Tabela 1. Composição das dietas hipercalóricas

Ingredientes (g/kg)	Dietas					
	Padrão	H – 1	H – 2	H – 3	H – 4	H – 5
Ração padrão Nuvilab®	1000g	355	439	1000	371	359
Caseína		123	129	-	99	105
Amendoim torrado		176	218	-	185	179
Óleo de milho		82	61	-	68	80
Chocolate		88	-	-	-	
Biscoito maisena		176	-	-	-	
Batata frita		-	153	-	-	
Queijo ralado		-	-	-	92	
Leite condensado		-	-	-	-	161
Biscoito wafer		-	-	-	-	116
Macarrão instantâneo		-	-	-	185	
Sacarose (g/L)		-	-	300	-	
Proteína%	25,9	26,0	27,1	19,1	30,6	25,5
Carboidrato%	49,5	35,7	37,4	56,3	34,8	36,2
Lipídio%	8,1	26,4	23,0	5,9	23,1	26,3
Outros%*	16,5	11,9	12,5	18,8	11,6	12,0
Calorias (Kcal/g)	3,6	4,6	5,2	4,8	3,9	4,4

H-1: ração hipercalórica 1; H-2: ração hipercalórica 2; H-3: ração hipercalórica 3; H-4: ração hipercalórica 4; H-5: ração hipercalórica 5

*Vitaminas, minerais e cinzas

Fonte: Adaptado de Nascimento et al [18].

Ganho ponderal e adiposidade abdominal

O peso corporal foi aferido semanalmente e o cálculo do ganho ponderal foi expresso como uma porcentagem do peso inicial ($\text{Weight gain \%} = \frac{(\text{final weight} - \text{initial weight})}{\text{initial weight}} \times 100$) para diminuir a variabilidade entre os animais [19]. A adiposidade abdominal foi determinada pelo índice de adiposidade visceral (%), obtido pelo percentual da soma do peso dos compartimentos de gordura retroperitoneal, visceral e gonadal em relação ao peso corporal final, segundo Poudyal et al. [20], e pela análise individual do peso dos três compartimentos de gordura acima mencionados.

Determinação dos lipídios sérico e hepático

Após as 18 semanas de indução e tratamento, todos os grupos experimentais foram submetidos a um jejum de 12 horas, e sob anestesia foi realizada coleta de sangue por punção periorbital para dosagem dos lipídios séricos: colesterol total – CT, triglicerídeos – TG, lipoproteína de alta densidade colesterol (HDL-C), e lipoproteína de baixa densidade colesterol (LDL-C), sendo o LDL-C determinado pela fórmula de Friedwald et al. [21].

Também foram realizadas a determinação da gordura total, e concentração de triglicerídeos e colesterol hepático, segundo protocolo descrito por Freedman et al. [22] com modificações. Após eutanásia dos animais, aproximadamente 500 mg de tecido hepático foi pesado e homogeneizado em *mixer* juntamente com 5 mL de solução de clorofórmio:metanol (2:1 v/v). O homogeneizado foi mantido em repouso *overnight* (16 horas) sob temperatura de refrigeração (12°C), dentro de tubo previamente pesado, sendo em seguida filtrado. Adicionou-se salina 0,9% ao filtrado na proporção de 5:1 (filtrado:salina), seguido de repouso por 2 horas e centrifugação (1000 rpm). A fase superior foi descartada e o material seco em estufa. Os tubos foram pesados novamente e a gordura total determinada pela diferença do peso final em relação ao peso inicial do tecido. Em seguida, ressuspendeu-se a gordura seca em 1 ml de solução de Triton X-100:metanol (2:1) para a determinação do colesterol e triglicerídeos hepático.

As dosagens dos lipídios sérico e hepático foram realizadas utilizando kits para análises bioquímicas da Labtest®, seguindo-se os protocolos descritos pelo fabricante, com as leituras realizadas em analisador semi-automatizado Bioplus - 2000®.

Após a obtenção dos resultados das dosagens dos lipídios séricos foram determinados os índices cardíaco (CT/HDL-C) [23], aterogênico (CT – HDL-C/HDL-C) [24], e da artéria coronária (LDL-C/HDL-C) [25].

Avaliação da motilidade gastrointestinal

Para a avaliação do trânsito gastrointestinal os animais foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos (C – Controle; ATROP – Atropina; GG – goma guar; e GA – galactomanana de *A. pavonina*), segundo metodologia previamente descrita por Suchitra et al [26]. Para o esvaziamento gástrico os animais foram submetidos a 6 horas de jejum, sendo posteriormente tratados por gavagem com água destilada (C = 0,1 mL/ 100 g) ou 500 µL de gel a 5% de galactomanana de *A. pavonina* ou goma guar (GA e GG), ou atropina (ATROP)

administrada subcutaneamente na dose de 3 mg/kg. Após 1 hora do tratamento por gavagem, ou 30 minutos por via subcutânea, cada animal recebeu por via oral 500 µL de solução do marcador vermelho de fenol a 0,05% diluído em carboximetilcelulose a 1,5%. Após 30 minutos os animais foram eutanasiados, o estômago removido, e o conteúdo gástrico coletado e centrifugado a 126 x g por 15 minutos. Após a centrifugação 1 mL de sobrenadante foi adicionado a 1 mL de NaOH a 1 N. Os resultados foram plotados em uma curva padrão de vermelho de fenol e expressos como a concentração (µg) de corante retida no estômago em relação ao grupo controle. Para o trânsito intestinal, depois da remoção do estômago, o intestino delgado foi removido e seu comprimento total aferido (distância entre a região gastropilórica e a junção ileocecal), bem como a distância percorrida pelo marcador vermelho de fenol. Os resultados foram expressos pela porcentagem da distância percorrida pelo marcador em relação ao comprimento total do intestino delgado.

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média. A análise dos dados foi realizada por meio da análise de variância *One way* – ANOVA, seguida pelo teste de Tukey para comparação entre os grupos. O software utilizado foi o GraphPad Prisma versão 7.0, e as diferenças consideradas significantes quando $p < 0,05$.

Resultados

Efeito da galactomanana de *A. pavanina* sobre o ganho ponderal e adiposidade abdominal

O ganho ponderal dos animais GH (50,7 % $\pm$ 3,0) aumentou significativamente quando comparado ao grupo GP (31,7 % $\pm$ 3,8) ($p < 0,05$), enquanto que nas ratas GHGA (33,7 % $\pm$ 3,2) observou-se uma menor evolução ponderal em relação as GH ($p < 0,05$), mostrando que a galactomanana de *A. pavanina* preveniu o ganho de peso provocado por dieta hipercalórica. Com relação ao grupo GHGG (39,6 % $\pm$ 1,1), notou-se uma tendência de menor ganho de peso quando comparado aos animais GH, embora sem significância estatística ($p > 0,05$) (Figura 1).

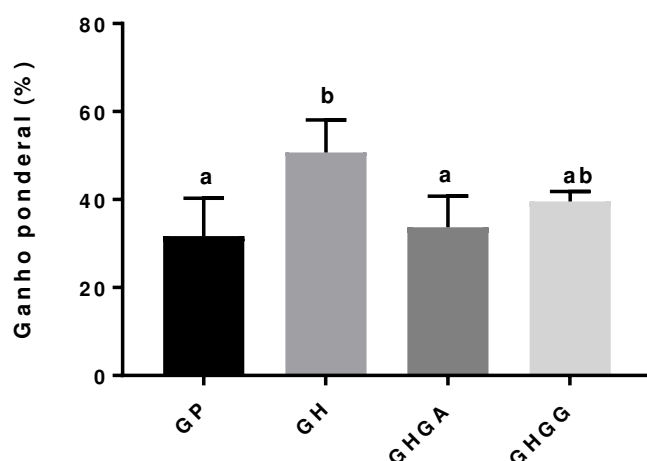


Figura 1. Efeito da galactomanana de *Adenanthera pavonina* L. sobre o ganho ponderal

GP (grupo ração padrão); GH (grupo ração hipercalórica); GHGA (grupo ração hipercalórica + gel de galactomanana de *A. pavonina*); GHGG (grupo ração hipercalórica + gel de goma guar)

Valores apresentados como média $\pm$ erro padrão da média

Grupos com códigos alfabéticos diferentes indicam diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

One way - Anova, Teste de Tukey.

Paralelamente ao maior ganho ponderal observou-se um aumento do índice de adiposidade visceral nas ratas GH em relação as GP ($p < 0,05$), no entanto, variações significantes não foram evidenciadas nos animais GHGA e GHGG quando comparados aos GH, o que mostra que as galactomananas GA e GG não alteraram o ganho de tecido adiposo abdominal ocasionado pela dieta hipercalórica (Tabela 2). Este achado foi confirmado na análise individual dos compartimentos de gordura, onde foram observados um maior acúmulo de tecido adiposo retroperitoneal, visceral, e gonadal para os animais GH quando comparados aos GP ($p < 0,05$), mostrando uma elevação da adiposidade abdominal que não foi evitada por ambas as galactomananas (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito da galactomanana de *Adenanthera pavonina* L. sobre o índice de adiposidade visceral e peso dos compartimentos de gordura retroperitoneal, gonadal e visceral

Parâmetros	Grupos			
	GP	GH	GHGA	GHGG
Índice de adiposidade visceral (%)	2,6 $\pm$ 0,1 ^a	4,9 $\pm$ 0,3 ^b	5,1 $\pm$ 0,7 ^{ab}	5,3 $\pm$ 1,1 ^{ab}
Gordura retroperitoneal (g)	2,4 $\pm$ 0,2 ^a	4,2 $\pm$ 0,3 ^b	3,6 $\pm$ 0,6 ^{ab}	3,0 $\pm$ 0,6 ^{ab}
Gordura gonadal (g)	3,7 $\pm$ 0,3 ^a	6,1 $\pm$ 0,2 ^b	5,4 $\pm$ 0,7 ^{ab}	5,8 $\pm$ 1,2 ^{ab}
Gordura visceral (g)	2,2 $\pm$ 0,2 ^a	4,3 $\pm$ 0,2 ^b	5,1 $\pm$ 0,7 ^b	4,2 $\pm$ 0,7 ^b

GP (grupo ração padrão); GH (grupo ração hipercalórica); GHGA (grupo ração hipercalórica + gel de galactomanana de *A. pavonina*); GHGG (grupo ração hipercalórica + gel de goma guar)

Valores apresentados como média $\pm$ erro padrão da média

Valores com códigos alfabéticos diferentes indicam diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

One Way - Anova, Teste de Tukey.

Efeito da galactomanana de *A. pavonina* sobre o perfil lipídico sérico e hepático

Na avaliação do perfil lipídico sérico, foi observado um aumento nas concentrações de CT, LDL-C e TG nos animais GH ($p < 0,05$), além de uma discreta, mas não significativa diminuição para o HDL-C, quando comparados ao GP, determinando um quadro de dislipidemia nas ratas GH. Para o GHGA foi encontrado redução de 45,8% na concentração sérica de TG, e uma elevação do HDL-C (79,9%) quando comparado ao GH ($p < 0,05$). Além disso, nos animais GHGA as taxas de HDL-C aumentaram em 51,4% em relação ao grupo GP. Quanto ao grupo GHGG, também foi observada uma diminuição significativa, de 62%, na concentração sérica de TG ($p < 0,05$), mas não se observou diferença para as taxas de HDL-C em relação ao GH (Tabela 3).

Ainda para o perfil lipídico, na avaliação das taxas de gorduras hepáticas, não foram encontradas diferenças para a concentração de gordura total no fígado, quando se comparou todos os grupos experimentais, embora tenha se observado um discreto aumento (23,2%), porém não significativo, para os animais GH quando comparados aos GP. Da mesma forma, na análise do parâmetro colesterol total hepático, não houve variações significativas entre os grupos, porém, na mensuração dos níveis de TG, observou-se uma tendência de aumento para o grupo GH (28,8%) em relação ao GP. No entanto, observou-se redução de 47,4% nas concentrações do TG hepático dos animais GHGA quando comparados aos GH ($p < 0,05$) (Tabela 3).

Com relação aos indicadores de doença cardiovascular, coronária e isquêmica, representados pelos índices aterogênico, cardíaco e da artéria coronária respectivamente, não foram observadas diferenças significativas na análise individual dos três parâmetros para todos os grupos, com exceção da comparação entre os animais GHGA e GHGG, que devido ao baixo índice aterogênico apresentado pelos animais tratados com GA foi detectada diferença entre os dois grupos ($p < 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Efeito da galactomanana de *Adenanthera pavonina* L. sobre o perfil lipídico sérico e hepático, e indicadores de doenças cardiovasculares

Parâmetros	Grupos			
	GP	GH	GHGA	GHGG
CT (mg/dL)	60,0 ± 3,5 ^a	84,0 ± 2,0 ^b	86,0 ± 7,6 ^b	76,0 ± 3,0 ^{ab}
LDL-C (mg/dL)	41,3 ± 2,8 ^a	56,1 ± 1,7 ^b	64,5 ± 4,0 ^b	59,4 ± 2,0 ^b
TG (mg/dL)	40,3 ± 3,2 ^a	96,0 ± 17,5 ^b	52,0 ± 3,3 ^{ac}	36,5 ± 5,5 ^{ac}
HDL-C (mg/dL)	62,3 ± 8,9 ^{ab}	52,4 ± 7,2 ^a	94,3 ± 10,9 ^b	46,5 ± 0,5 ^{ac}
Gordura total hepática (mg/g)	44,0 ± 3,3 ^a	54,2 ± 4,5 ^a	48,0 ± 2,6 ^a	42,9 ± 5,3 ^a
Colesterol hepático (mg/dL)	21,0 ± 0,6 ^a	28,4 ± 1,0 ^a	20,0 ± 1,2 ^a	32,5 ± 11,3 ^a
TG hepático (mg/dL)	48,0 ± 11,2 ^{ab}	61,8 ± 4,5 ^a	32,5 ± 4,3 ^b	50,0 ± 3,0 ^{ab}
Índice aterogênico (mg/dL)	0,4 ± 0,0 ^{ab}	0,5 ± 0,1 ^{ab}	0,2 ± 0,0 ^a	0,6 ± 0,1 ^b
Índice cardíaco (mg/dL)	1,3 ± 0,1 ^a	1,6 ± 0,2 ^a	1,2 ± 0,0 ^a	1,6 ± 0,1 ^a
Índice da artéria coronária (mg/dL)	0,9 ± 0,1 ^a	1,0 ± 0,1 ^a	0,8 ± 0,0 ^a	1,3 ± 0,1 ^a

GP (grupo ração padrão); GH (grupo ração hipercalórica); GHGA (grupo ração hipercalórica + gel de galactomanana de *A. pavonina*); GHGG (grupo ração hipercalórica + gel de goma guar)

Valores apresentados como média ± erro padrão da média

Valores com códigos alfabéticos diferentes indicam diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

One Way - Anova, Teste de Tukey.

Efeito da galactomanana de *A. pavonina* sobre a motilidade gastrointestinal

Na avaliação do esvaziamento gástrico foi observado que a concentração do marcador vermelho de fenol retido no estômago dos animais do grupo C foi de $1,3 \pm 0,9 \mu\text{g/mL}$, e que não houve diferença no esvaziamento gástrico dos animais GA ($1,8 \pm 0,8 \mu\text{g/mL}$) e GG ($1,0 \pm 0,3 \mu\text{g/mL}$) em relação ao grupo C ($p > 0,05$). No entanto, no grupo tratado com atropina, um antagonista muscarínico com ação antiespasmódica, ocorreu um aumento da concentração de vermelho de fenol ($14,7 \pm 0,6 \mu\text{g/mL}$), refletindo em retardo do esvaziamento gástrico em relação ao grupo C ($p < 0,05$) (Figura 2A). Na avaliação do trânsito intestinal, à distância percorrida pelo marcador vermelho de fenol em relação ao comprimento total do intestino delgado no grupo C foi de $82,6 \% \pm 3,2$. Já nos animais GA ($57,7 \% \pm 1,0$), GG ($62,5 \% \pm 3,1$), assim como no grupo ATROP ($61,5 \% \pm 2,5$), houve um retardo significativo do trânsito intestinal, por apresentarem menor extensão percorrida pelo marcador quando comparados ao grupo C ($p < 0,05$) (Figura 2B).

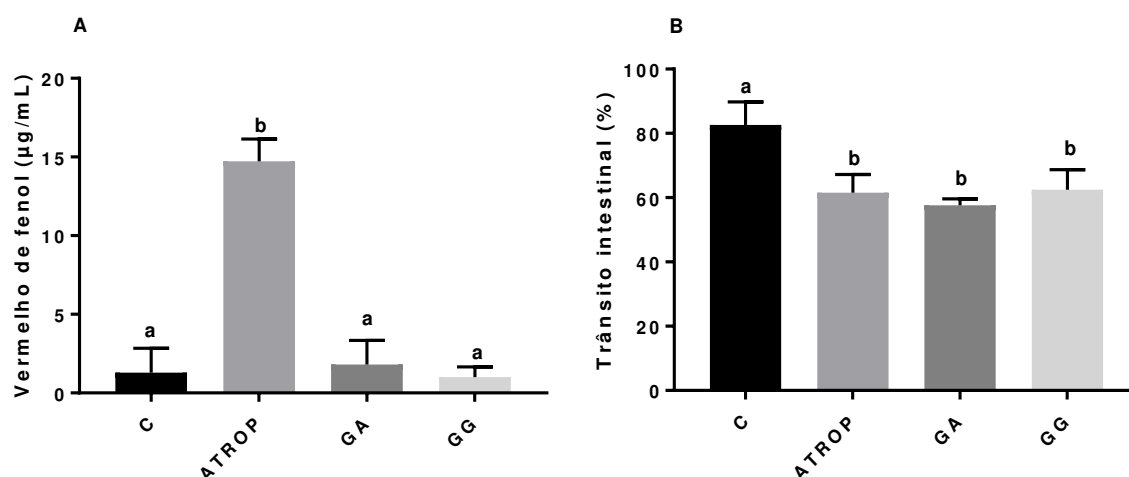


Figura 2. Efeito da galactomanana de *Adenanthera pavonina* L. no esvaziamento gástrico (A) e trânsito intestinal (B)

C (grupo controle); ATROP (grupo atropina); GA (grupo galactomanana de *A. pavonina*); GG (grupo goma guar)

Valores apresentados como média $\pm$ erro padrão da média

Grupos com códigos alfabéticos diferentes indicam diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

One Way - Anova, Teste de Tukey.

Discussão

O aumento do peso corporal tem sido bem documentado em modelos de indução de alterações metabólicas em ratos por meio de dieta hipercalórica com alta concentração de carboidratos e/ou de lipídios [25,27,28], corroborando com os dados obtidos no presente estudo, os quais evidenciaram ganho ponderal nos animais alimentados com dieta hipercalórica sem tratamento simultâneo. Quanto ao menor ganho ponderal nos animais tratados com GA e em menor proporção com GG sugeriu um efeito preventivo das galactomananas contra o excesso de peso. Segundo Rao [6], Rasoamanana et al., [7], e Kristensen and Jensen [8] este efeito pode está relacionado ao fato das galactomananas pertecerem à classe das fibras solúveis, viscosas e fermentáveis, as quais é atribuída atividade sobre a saciedade com conseqüente redução da ingestão alimentar.

Dentre os mecanismos responsáveis por essa atividade está o aumento da viscosidade da matriz alimentar ocasionando distensão estomacal e retardo do esvaziamento gástrico [7,8], com redução do fluxo pela válvula pilórica, sobretudo quando as fibras viscosas são ingeridas em maiores quantidades [6], e o aumento da viscosidade do conteúdo intestinal, resultando em diminuição da motilidade intestinal [7,8] com maior permanência dos nutrientes em contato com a mucosa, principalmente proteínas e lipídios, que levam ao aumento da secreção de

peptídeos intestinais como a colecistoquinina (CCK), peptídeo Y (PYY) e peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP – 1). Ressalta-se que esses peptídeos são conhecidos como hormônios da saciedade [8] por induzirem ao retardo do esvaziamento gastrointestinal [6,8] por meio de sinalização ao sistema nervoso central [29,30].

Além dos mecanismos descritos acima, as fibras solúveis sofrem fermentação colônica originando ácido graxos de cadeia curta, que também estimulam a secreção de peptídeos intestinais contribuindo para o controle do apetite [6,8, 31]. Ademais, o aumento da exposição da mucosa ileal a nutrientes, ativa o freio ileal resultando também em trânsito gastrointestinal mais lento [32]. A galactomanana de *A. pavanina* não exerceu nenhuma influência sobre o esvaziamento gástrico, mas foi capaz de diminuir a motilidade intestinal, sugerindo que seu efeito sobre o controle do ganho ponderal é provavelmente mediado pela saciedade induzida por retardo do trânsito intestinal e, portanto, possivelmente associada à presença de peptídeos intestinais [8].

Resultado semelhante ao desta pesquisa foi relatado por Rasoamanana et al. [7], onde a administração de 700 µL de solução de fibra viscosa em camundongos demonstrou saciedade associada a sinalização intestinal como a principal responsável pela redução da ingestão alimentar. Juvonen et al. [33], ao investigarem o efeito de duas diferentes bebidas contendo aveia, na percepção da saciedade e concentração sérica de peptídeos reguladores do apetite, observaram um aumento da saciedade e da concentração de hormônios intestinais na circulação sanguínea.

Com relação à adiposidade abdominal, observou-se que apesar da prevenção contra o ganho ponderal não houve alteração no ganho de gordura abdominal ocasionado pela dieta hipercalórica, para os grupos tratados com ambas as galactomananas.

A dislipidemia, caracterizada principalmente por taxas aumentadas de LDL-C, TG e baixos níveis de HDL-C, é comumente associada ao excesso ponderal e ao acúmulo de adiposidade abdominal [34]. Quanto ao efeito hipocolesterolêmico da fibra dietética, em especial da fibra solúvel, tem sido bem documentado [35], sendo, no entanto, resultado de diferentes mecanismos, ainda pouco elucidados [35,36], e podendo variar de acordo com o tipo e quantidade de fibra solúvel ingerida [37]. Uma das explicações mais aceitas está na redução da motilidade intestinal com digestão e absorção diminuída de nutrientes [6,7, 8], levando, portanto, ao retardo da absorção de colesterol [37] e triglicerídeos da dieta [35], fato

esse que pode explicar a menor concentração sérica de TG observada para os grupo GHGA e GHGG.

Outros mecanismos possivelmente relacionados à atividade hipocolesterolêmica das fibras solúveis consistem na inibição de lipases, resultando em prejuízos na absorção das gorduras dietéticas [11], e formação de ácidos graxos de cadeia curta, aos quais é conferida a conversão de colina em trimetilamina, impedindo a formação de fosfatidilcolina, componente da lipoproteína de muito baixa densidade colesterol (VLDL-C), afetando, portanto, indiretamente, o armazenamento de TG hepático [4], evento esse que possivelmente esclarece os menores níveis de TG hepático encontrados para o grupo GHGA. Já a não alteração do CT observada no grupo GHGA, pode ser explicada pela alta taxa de HDL-C apresentada nesses animais.

Quanto aos indicadores de doença cardiovascular, não foram encontradas alterações significativas, visto que as taxas de HDL-C, considerada um parâmetro fundamental na determinação dos índices, com exceção da encontrada para os animais GHGA, apresentaram valores semelhantes, indicando, portanto, que apesar da presença de dislipidemia no grupo GH, ainda não havia o estabelecimento de desordens cardiovasculares.

Kapoor et al. [38] após 12 meses de intervenção com fibra de guar suplementada na dose de 6 g diárias, relataram uma redução das taxas de LDL-C e aumento do HDL-C, enquanto Dall'Alba et al. [39] não observaram redução das taxas de TG e aumento do HDL-C, em pacientes diabéticos suplementados com 10 g diárias de fibra de guar durante 6 semanas.

Os diferentes resultados relatados acima em comparação aos encontrados neste estudo, podem ser explicados pela quantidade de fibra suplementada, diferentes mecanismos envolvidos no efeito hipocolesterolêmico [34,35], e forma de administração, geralmente adicionada à dieta [35]

Conclusão

Este estudo indicou que o consumo por tempo prolongado de dieta hipercalórica induz ao ganho ponderal e ao surgimento de anormalidades lipídicas, que podem ser prevenidos com o consumo habitual de fibras solúveis na dieta. O consumo freqüente de galactomanana de *A. pavanina* preveniu o ganho ponderal, efeito provavelmente mediado pela saciedade induzida por retardo da motilidade intestinal, e mostrou ação sobre a redução das taxas de TG

sérico e hepático, além de aumento do HDL-C, enquanto a goma guar, apesar de ter contribuído para uma tendência de menor ganho de peso, apresentou efeito apenas na diminuição dos níveis de TG sérico. A galactomanana de *A. pavonina* mostrou-se uma fonte promissora de fibra solúvel eficaz no controle de anormalidades lipídicas, sugerindo, portanto, propriedades comparáveis ao de galactomananas tradicionalmente utilizadas na área médica.

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer à Fundação de Amparo para Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pelo apoio financeiro.

Conflito de interesse

Nenhum conflito de interesse, financeiro ou de outra natureza, é declarado pelos autores

Referências

- [1] Sociedade Brasileira de Cardiologia *et al.*, “[V Brazilian Guidelines on Dyslipidemias and Prevention of Atherosclerosis],” *Arq. Bras. Cardiol.*, vol. 101, no. 4 Suppl 1, pp. 1–20, Oct. 2013.
- [2] Developed with the special contribution of: European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation *et al.*, “ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS),” *Eur. Heart J.*, vol. 32, no. 14, pp. 1769–1818, Jul. 2011.
- [3] A. L. Catapano *et al.*, “2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias,” *Eur. Heart J.*, vol. 37, no. 39, pp. 2999–3058, Oct. 2016.
- [4] C. L. Boulangé, A. L. Neves, J. Chilloux, J. K. Nicholson, and M.-E. Dumas, “Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease,” *Genome Med.*, vol. 8, no. 1, Dec. 2016.
- [5] A. Poli *et al.*, “Non-pharmacological control of plasma cholesterol levels,” *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, vol. 18, no. 2, pp. S1–S16, Feb. 2008.
- [6] T. P. Rao, “Role of guar fiber in appetite control,” *Physiol. Behav.*, vol. 164, pp. 277–283, Oct. 2016.
- [7] R. Rasoamanana, P. C. Even, N. Darcel, D. Tomé, and G. Fromentin, “Dietary fibers reduce food intake by satiation without conditioned taste aversion in mice,” *Physiol. Behav.*, vol. 110–111, pp. 13–19, Feb. 2013.
- [8] M. Kristensen and M. G. Jensen, “Dietary fibres in the regulation of appetite and food intake. Importance of viscosity,” *Appetite*, vol. 56, no. 1, pp. 65–70, Feb. 2011.
- [9] I. C. M. Dea and A. Morrison, “Chemistry and Interactions of Seed Galactomannans,” in *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, vol. 31, Elsevier, 1975, pp. 241–312.
- [10] P. B. S. Albuquerque *et al.*, “Characterization and rheological study of the galactomannan extracted from seeds of *Cassia grandis*,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 104, pp. 127–134, Apr. 2014.

- [11] K. Hamden, B. Jaouadi, S. Carreau, S. Bejar, and A. Elfeki, "Inhibitory effect of fenugreek galactomannan on digestive enzymes related to diabetes, hyperlipidemia, and liver-kidney dysfunctions," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, vol. 15, no. 3, pp. 407–413, Jun. 2010.
- [12] A. Srichamroen, C. J. Field, A. B. R. Thomson, and T. K. Basu, "The Modifying Effects of Galactomannan from Canadian-Grown Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) on the Glycemic and Lipidemic Status in Rats," *J. Clin. Biochem. Nutr.*, vol. 43, no. 3, pp. 167–174, 2008.
- [13] A. Bouquet, M. Debray, "Medicinal Plants in Ivory Coast". Document Ostrom France. pp. 1–4, 1974.
- [14] R. O. Tavares, "Galactomannan of *Adenanthera pavonina* L. Applications for the isolation of galactose-specific lectins". Federal University of Ceará-Brazil: Msc Thesis, 1998.
- [15] C. E. A. Soares, "Structural and potencial Characterization of *Adenanthera pavonina* L. galactomannan as raw material of the production of bioactive edible films". Federal University of Ceará-Brazil: Doctoral Thesis, 2009.
- [16] P. L. R. Cunha, Í. G. P. Vieira, Â. M. C. Arriaga, R. C. M. de Paula, and J. P. A. Feitosa, "Isolation and characterization of galactomannan from *Dimorphandra gardneriana* Tul. seeds as a potential guar gum substitute," *Food Hydrocoll.*, vol. 23, no. 3, pp. 880–885, May 2009.
- [17] F. C. A. Buriti *et al.*, "Characterisation of partially hydrolysed galactomannan from *Caesalpinia pulcherrima* seeds as a potential dietary fibre," *Food Hydrocoll.*, vol. 35, pp. 512–521, Mar. 2014.
- [18] A. F. Nascimento *et al.*, "A Hypercaloric pellet-diet cycle induces obesity and comorbidities in wistar rats," *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.*, vol. 52, no. 6, pp. 968–974, Aug. 2008.
- [19] E. L. B. Novelli *et al.*, "Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats," *Lab. Anim.*, vol. 41, no. 1, pp. 111–119, Jan. 2007.
- [20] H. Poudyal, S. K. Panchal, J. Waanders, L. Ward, and L. Brown, "Lipid redistribution by α -linolenic acid-rich chia seed inhibits stearoyl-CoA desaturase-1 and induces cardiac and

hepatic protection in diet-induced obese rats,” *J. Nutr. Biochem.*, vol. 23, no. 2, pp. 153–162, Feb. 2012.

[21] W. T. Friedewald, R. I. Levy, and D. S. Fredrickson, “Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge,” *Clin. Chem.*, vol. 18, no. 6, pp. 499–502, Jun. 1972.

[22] B. D. Freedman, E.-J. Lee, Y. Park, and J. L. Jameson, “A Dominant Negative Peroxisome Proliferator-activated Receptor- Knock-in Mouse Exhibits Features of the Metabolic Syndrome,” *J. Biol. Chem.*, vol. 280, no. 17, pp. 17118–17125, Apr. 2005.

[23] M. J. Kang, E. K. Lee, and S. S. Lee, “Effects of two P/S ratios with same peroxidizability index value and antioxidants supplementation on serum lipid concentration and hepatic enzyme activities of rats,” *Clin. Chim. Acta*, vol. 350, no. 1–2, pp. 79–87, Dec. 2004.

[24] F. Kayamori and K. Igarashi, “Effects of Dietary Nasunin on the Serum Cholesterol Level in Rats,” *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, vol. 58, no. 3, pp. 570–571, Jan. 1994.

[25] T. O. Ajiboye, H. Aliyu, M. A. Tanimu, R. M. Muhammad, and O. B. Ibitoye, “*Dioscoreophyllum cumminsii* (Stapf) Diels leaves halt high-fructose induced metabolic syndrome: Hyperglycemia, insulin resistance, inflammation and oxidative stress,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 192, pp. 471–479, Nov. 2016.

[26] A. Suchitra, “Relative efficacy of some prokinetic drugs in morphine-induced gastrointestinal transit delay in mice,” *World J. Gastroenterol.*, vol. 9, no. 4, p. 779, 2003.

[27] A. Hazarika, H. Kalita, D. Chandra Boruah, M. Chandra Kalita, and R. Devi, “Pathophysiology of metabolic syndrome: The onset of natural recovery on withdrawal of a high-carbohydrate, high-fat diet,” *Nutrition*, vol. 32, no. 10, pp. 1081–1091, Oct. 2016.

[28] S. K. Panchal, W.-Y. Wong, K. Kauter, L. C. Ward, and L. Brown, “Caffeine attenuates metabolic syndrome in diet-induced obese rats,” *Nutrition*, vol. 28, no. 10, pp. 1055–1062, Oct. 2012.

[29] E. Näslund and P. M. Hellström, “Appetite signaling: From gut peptides and enteric nerves to brain,” *Physiol. Behav.*, vol. 92, no. 1–2, pp. 256–262, Sep. 2007.

- [30] A. M. Wren and S. R. Bloom, "Gut Hormones and Appetite Control," *Gastroenterology*, vol. 132, no. 6, pp. 2116–2130, May 2007.
- [31] G. den Besten *et al.*, "The Short-Chain Fatty Acid Uptake Fluxes by Mice on a Guar Gum Supplemented Diet Associate with Amelioration of Major Biomarkers of the Metabolic Syndrome," *PLoS ONE*, vol. 9, no. 9, p. e107392, Sep. 2014.
- [32] J. Maljaars, H. P. F. Peters, and A. M. Masclee, "Review article: the gastrointestinal tract: neuroendocrine regulation of satiety and food intake: REVIEW: GI TRACT, SATIETY AND FOOD INTAKE," *Aliment. Pharmacol. Ther.*, vol. 26, pp. 241–250, Dec. 2007.
- [33] K. R. Juvonen *et al.*, "Viscosity of Oat Bran-Enriched Beverages Influences Gastrointestinal Hormonal Responses in Healthy Humans," *J. Nutr.*, vol. 139, no. 3, pp. 461–466, Jan. 2009.
- [34] L. Genser, J. R. Casella Mariolo, L. Castagneto-Gissey, S. Panagiotopoulos, and F. Rubino, "Obesity, Type 2 Diabetes, and the Metabolic Syndrome," *Surg. Clin. North Am.*, vol. 96, no. 4, pp. 681–701, Aug. 2016.
- [35] M. Galisteo, J. Duarte, and A. Zarzuelo, "Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome," *J. Nutr. Biochem.*, vol. 19, no. 2, pp. 71–84, Feb. 2008.
- [36] S. Saeed, H. Mosa-Al-Reza, A. Fatemeh, and D. Saeideh, "Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of guar gum on streptozotocin-induced diabetes in male rats," *Pharmacogn. Mag.*, vol. 8, no. 29, p. 65, 2012.
- [37] M. L. Gallagher *et al.*, "The nutrients and their metabolism. Krause food, nutrition and diet therapy", vol. 12, p. 39-143, 2010.
- [38] M. P. Kapoor, N. Ishihara, and T. Okubo, "Soluble dietary fibre partially hydrolysed guar gum markedly impacts on postprandial hyperglycaemia, hyperlipidaemia and incretins metabolic hormones over time in healthy and glucose intolerant subjects," *J. Funct. Foods*, vol. 24, pp. 207–220, Jun. 2016.
- [39] V. Dall'Alba *et al.*, "Improvement of the metabolic syndrome profile by soluble fibre – guar gum – in patients with type 2 diabetes: a randomised clinical trial," *Br. J. Nutr.*, vol. 110, no. 09, pp. 1601–1610, Nov. 2013.

7. CAPÍTULO III

Pedido de patente de produto:

“Pães enriquecidos com galactomanana.”

RESUMO

Pães enriquecidos com galactomanana

A presente invenção diz respeito a pães enriquecidos com galactomanana, os quais contêm galactomanana de *Adenanthera pavonina* Linn. como substituinte do óleo na formulação da massa dos pães, visando o aumento no consumo diário de fibra solúvel para melhora do perfil glicêmico da população, inclusive de diabéticos. Os pães enriquecidos com galactomanana da presente invenção podem ser considerados um alimento funcional que pode contribuir ainda para o controle da saciedade, controle do perfil lipídico e melhora do trânsito intestinal.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Neste estudo foi realizada a caracterização estrutural e das propriedades funcionais de capacidade de retenção de água e de óleo da galactomanana de *Adenantha pavonina* Linn, bem como foi avaliado seu efeito na dislipidemia induzida por dieta hipercalórica em ratas *Wistar*.

Os resultados encontrados no capítulo I mostram que a galactomanana de *A. pavonina* L. apresenta estrutura e propriedades funcionais semelhantes às da goma guar, que é uma galactomanana comercial utilizada como padrão no estudo, sugerindo, portanto, ser o polímero avaliado uma fonte alternativa e promissora de galactomanana, com potencial biotecnológico comparável às fontes tradicionalmente utilizadas por diversas áreas da indústria.

Além disso, conforme os resultados descritos no capítulo II foi evidenciado que a galactomanana de *A. pavonina* preveniu o ganho de peso e alterações lipídicas induzidas por dieta hipercalórica, mostrando um potencial biotecnológico deste polímero para emprego na indústria alimentícia, farmacêutica e na área médica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AJIBOYE, T. O. et al. Dioscoreophyllum cumminsii (Stapf) Diels leaves halt high-fructose induced metabolic syndrome: Hyperglycemia, insulin resistance, inflammation and oxidative stress. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 192, p. 471-479, 2016.

ALBERTI, K. et al. Harmonizing the metabolic syndrome. A joint interim statement of the IDF Task Force on Epidemiology and Prevention; NHL and Blood Institute; AHA; WHF; IAS; and IA for the Study of Obesity. **Circulation**, v. 120, n. 16, p. 1640-1645, 2009.

ALBUQUERQUE, Priscilla BS et al. Characterization and rheological study of the galactomannan extracted from seeds of *Cassia grandis*. **Carbohydrate polymers**, v. 104, p. 127-134, 2014.

ALLENDER, Steven et al. European cardiovascular disease statistics. 2008.

ANDERSON, James W. et al. Cholesterol-lowering effects of psyllium intake adjunctive to diet therapy in men and women with hypercholesterolemia: meta-analysis of 8 controlled trials. **The American journal of clinical nutrition**, v. 71, n. 2, p. 472-479, 2000.

ANDERSON, James W. et al. Health benefits of dietary fiber. **Nutrition reviews**, v. 67, n. 4, p. 188-205, 2009.

AQUILA, M. E. A; BRAGA, M. R; DIETRICH, S. M. C. The similarity of galactomannan in seeds and endocarp of pods during development in *Senna macranthera* var. *nervosa*. **South African Journal of Botany**, v. 83, p. 56-62, 2012.

AZERO, Edwin G.; ANDRADE, Cristina T. Testing procedures for galactomannan purification. **Polymer Testing**, v. 21, n. 5, p. 551-556, 2002.

BALLESTRERI, Érica; MARCON, Isadora Fogaça; TAVARES, Rejane Giacomelli. Comparação de modelos de indução da síndrome metabólica: dieta com excesso de frutose e dieta hiperlipídêmica. **RBONE-Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 9, n. 51, p. 96-104, 2015.

BERNAUD, Fernanda S. R; RODRIGUES, Ticiana C. Dietary fiber: adequate intake and effects on metabolism health. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 57, n. 6, p. 397-405, 2013.

BERRY, Jarett D. et al. Lifetime risks of cardiovascular disease. **New England Journal of Medicine**, v. 366, n. 4, p. 321-329, 2012.

BOULANGÉ, Claire L. et al. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. **Genome medicine**, v. 8, n. 1, p. 1, 2016.

BOUQUET, A.; DEBRAY, M. Medicinal plants in Ivory Coast. **Document Orstom France**, v. 32, p. 1-4, 1974.

BRAND-MILLER, J. C. et al. Glycemic index and obesity. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, p. 281-285, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. RESOLUÇÃO, R. D. C. nº 360, de 23 de dezembro de 2003. **Aprova o regulamento técnico sobre informação nutricional. Diário Oficial da União**, v. 23, 2003.

BUCKERIDGE, Marcos S; DOS SANTOS, Henrique P; TINÉ, Marco A. S. Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, n. 1, p. 141-156, 2000.

BUCKERIDGE, Marcos Silveira. Seed cell wall storage polysaccharides: models to understand cell wall biosynthesis and degradation. **Plant Physiology**, v. 154, n. 3, p. 1017-1023, 2010.

BURITI, Flávia C. A. et al. Characterisation of partially hydrolysed galactomannan from *Caesalpinia pulcherrima* seeds as a potential dietary fibre. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 512-521, 2014.

BUTTRISS, J. L; STOKES, C. S. Dietary fibre and health: an overview. **Nutrition Bulletin**, v. 33, n. 3, p. 186-200, 2008.

CALLAGHAN, P. T.; GIL, A. M. ¹H NMR spectroscopy of polymers under shear and extensional flow. **Rheologica acta**, v. 38, n. 6, p. 528-536, 1999.

CHAUBEY, Manjoosha; KAPOOR, Virendra P. Structure of a galactomannan from the seeds of *Cassia angustifolia* Vahl. **Carbohydrate Research**, v. 332, n. 4, p. 439-444, 2001.

CHOWDHURY, Rajiv et al. Association between fish consumption, long chain omega 3 fatty acids, and risk of cerebrovascular disease: systematic review and meta-analysis. **Bmj**, v. 345, p. e6698, 2012.

CHOWDHURY, Rajiv et al. Association of dietary, circulating, and supplement fatty acids with coronary risk: a systematic review and meta-analysis. **Annals of Internal Medicine**, v. 160, n. 9, p. 658, 2014.

COUTINHO, V. F; MENDES, R. R; ROGERO, M. M. Bioquímica e Metabolismo dos Carboidratos. **Tratado de Alimentação, Nutrição e Dietoterapia**, 2. ed, São Paulo: Roca, p. 23-54, 2010.

CUNHA, Pablyana L. R; DE PAULA, Regina C. M; FEITOSA, Judith P. A. Purification of guar gum for biological applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 41, n. 3, p. 324-331, 2007.

CUNHA, Pablyana L. R. et al. Isolation and characterization of galactomannan from *Dimorphandra gardneriana* Tul. seeds as a potential guar gum substitute. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 3, p. 880-885, 2009.

D'AGOSTINO, Ralph B. et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care. **Circulation**, v. 117, n. 6, p. 743-753, 2008.

DAKIA, Patrick A. et al. Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid or water dehulling pre-treatment. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 5, p. 807-818, 2008.

DALEN, James E.; DEVRIES, Stephen. Diets to prevent coronary heart disease 1957-2013: what have we learned?. **The American journal of medicine**, v. 127, n. 5, p. 364-369, 2014.

DATTILO, Anne M.; KRIS-ETHERTON, P. M. Effects of weight reduction on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis. **The American journal of clinical nutrition**, v. 56, n. 2, p. 320-328, 1992.

DEA, Lain C. M; MORRISON, Anthony. Chemistry and interactions of seed galactomannans. **Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry**, v. 31, p. 241-312, 1975.

DE NATALE, Claudia et al. Effects of a plant-based high-carbohydrate/high-fiber diet versus high–monounsaturated fat/low-carbohydrate diet on postprandial lipids in type 2 diabetic patients. **Diabetes Care**, v. 32, n. 12, p. 2168-2173, 2009.

DE PADUA MANSUR, Antonio; FAVARATO, Desidério. Mortalidade por Doenças Cardiovasculares no Brasil e na Região Metropolitana de São Paulo: Atualização 2011.

DERIVI, S. C. N. et al. Uma visão retrospectiva da fibra e doenças cardiovasculares. In: **LAJOLO, F. M; SAURA-CALIXTO, F.; PENNA, E. W** (Ed.). Fibra dietetica en iberoamérica: tecnología y salud. São Paulo: Livraria Varela, cap. 30, p. 411-430, 2001

DEWELL, Antonella; HOLLENBECK, Piper LW; HOLLENBECK, Clarie B. A critical evaluation of the role of soy protein and isoflavone supplementation in the control of plasma cholesterol concentrations. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 91, n. 3, p. 772-780, 2006.

DIETARY GUIDELINES ADVISORY COMMITTEE et al. **Dietary Guidelines for Americans 2015-2020**. Government Printing Office, 2015.

DRESSLER, Marco; FISCHER, Peter; WINDHAB, Erich J. Rheological characterization and modeling of aqueous guar gum solutions. In: **International Symposium on Food Rheology and Struture**. 2003.

ECKEL, Robert H. et al. 2013 AHA/ACC guideline on lifestyle management to reduce cardiovascular risk. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 63, n. 25 Part B, p. 2960-2984, 2014.

ESC/EAS. SOCIEDADE EUROPÉIA DE CARDIOLOGIA / SOCIEDADE EUROPÉIA DE ATEROSCLEROSE. REINER, Željko et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias. **European heart journal**, v. 32, n. 14, p. 1769-1818, 2011.

ESC/EAS. CATAPANO, Alberico L. et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. **European Heart Journal**, v. 37, n. 39, p. 2999-3058, 2016.

ESTRUCH, Ramón et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. **New England Journal of Medicine**, v. 368, n. 14, p. 1279-1290, 2013.

EXPERT PANEL ON DETECTION, Evaluation et al. Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). **Jama**, v. 285, n. 19, p. 2486, 2001.

FAGHERAZZI, Sanmira; DIAS, Raquel da Luz; BORTOLON, Fernanda. Impacto do exercício físico isolado e combinado com dieta sobre os níveis séricos de HDL, LDL, colesterol total e triglicerídeos. **Rev. bras. med. esporte**, v. 14, n. 4, p. 381-386, 2008.

FERRARI, Carlos Kusano Bucalen. Atualização: fisiopatologia e clínica da síndrome metabólica. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 36, n. 4, 2007.

FOX, Caroline S. et al. Lifetime risk of cardiovascular disease among individuals with and without diabetes stratified by obesity status in the Framingham heart study. **Diabetes care**, v. 31, n. 8, p. 1582-1584, 2008.

GABA, Punam et al. Galactomannan gum coated mucoadhesive microspheres of glipizide for treatment of type 2 diabetes mellitus: in vitro and in vivo evaluation. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 19, n. 3, p. 143-152, 2011.

GABRIELE, Domenico et al. Characterisation of dairy emulsions by NMR and rheological techniques. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 3, p. 619-628, 2009.

GALLAGHER, Margie L. et al. Os nutrientes e seu metabolismo. **Krause alimentos, nutrição & dietoterapia**, v. 12, p. 39-143, 2010.

GENSER, Laurent et al. Obesity, Type 2 Diabetes, and the Metabolic Syndrome: Pathophysiologic Relationships and Guidelines for Surgical Intervention. **Surgical Clinics of North America**, v. 96, n. 4, p. 681-701, 2016.

HAMDEN, Khaled. et al. Inhibitory effect of fenugreek galactomannan on digestive enzymes related to diabetes, hyperlipidemia, and liver-kidney dysfunctions. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 15, n. 3, p. 407-413, 2010.

HANSSON, Göran K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. **New England Journal of Medicine**, v. 352, n. 16, p. 1685-1695, 2005.

HARRIS, William S. et al. Omega-6 fatty acids and risk for cardiovascular disease. **Circulation**, v. 119, n. 6, p. 902-907, 2009.

HAYDEN, Melvin R.; TYAGI, Suresh C. Isolated low high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C): implications of global risk reduction. Case report and systematic scientific review. **Cardiovascular diabetology**, v. 4, n. 1, p. 1, 2005.

HAZARIKA, Ankita et al. Pathophysiology of metabolic syndrome: The onset of natural recovery on withdrawal of a high-carbohydrate, high-fat diet. **Nutrition**, 2016.

HUFFMAN, Kim M. et al. Exercise effects on lipids in persons with varying dietary patterns—does diet matter if they exercise? Responses in Studies of a Targeted Risk Reduction Intervention through Defined Exercise I. **American heart journal**, v. 164, n. 1, p. 117-124, 2012.

ISHURD, O. et al. Structural aspects of soluble-water galactomannans isolated from seeds of *Retama raita*. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p. 41-44, 2004.

JIANG, Jian-xin. et al. Structural and thermal characterization of galactomannans from genus *Gleditsia* seeds as potential food gum substitutes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 4, p. 732-737, 2011.

JOSHI, Harsha; KAPOOR, Virendra P. Cassia grandis Linn. f. seed galactomannan: structural and crystallographical studies. **Carbohydrate Research**, v. 338, n. 18, p. 1907-1912, 2003.

KAPOOR, Mahendra P.; ISHIHARA, Noriyuki; OKUBO, Tsutomu. Soluble dietary fibre partially hydrolysed guar gum markedly impacts on postprandial hyperglycaemia, hyperlipidaemia and incretins metabolic hormones over time in

healthy and glucose intolerant subjects. **Journal of Functional Foods**, v. 24, p. 207-220, 2016.

KELISHADI, Roya; MANSOURIAN, Marjan; HEIDARI-BENI, Motahar. Association of fructose consumption and components of metabolic syndrome in human studies: a systematic review and meta-analysis. **Nutrition**, v. 30, n. 5, p. 503-510, 2014.

KOTWAL, S. et al. Omega 3 fatty acids and cardiovascular outcomes. Systematic review and meta-analysis. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2012.

KRIS-ETHERTON, P. M. et al. The effect of diet on plasma lipids, lipoproteins, and coronary heart disease. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 88, n. 11, p. 1373-1400, 1988.

KRISTENSEN, Mette; JENSEN, Morten Georg. Dietary fibres in the regulation of appetite and food intake. Importance of viscosity. **Appetite**, v. 56, n. 1, p. 65-70, 2011.

LIBBY, Peter; THEROUX, Pierre. Pathophysiology of coronary artery disease. **Circulation**, v. 111, n. 25, p. 3481-3488, 2005.

LIU, Simin et al. Dietary glycemic load assessed by food-frequency questionnaire in relation to plasma high-density-lipoprotein cholesterol and fasting plasma triacylglycerols in postmenopausal women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 3, p. 560-566, 2001.

LIYANAGE, Sumedha. et al. Chemical and physical characterization of galactomannan extracted from guar cultivars (*Cyamopsis tetragonolobus* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 388-396, 2015.

LLOYD-JONES, Donald M. et al. Prediction of lifetime risk for cardiovascular disease by risk factor burden at 50 years of age. **Circulation**, v. 113, n. 6, p. 791-798, 2006.

MAEDA, Kenji; NOGUCHI, Yoshinori; FUKUI, Tsuguya. The effects of cessation from cigarette smoking on the lipid and lipoprotein profiles: a meta-analysis. **Preventive medicine**, v. 37, n. 4, p. 283-290, 2003.

MAHAN, L. K, Escott-Stump, S; KRAUSE, S. alimentos, nutrição e dietoterapia, 12^a Edição. **Rio de Janeiro (RJ): Elsevier**, 2010.

MAHAMMAD, Shamsheer. et al. Rheological properties of guar galactomannan solutions during hydrolysis with galactomannanase and α -galactosidase enzyme mixtures. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 3, p. 949-956, 2007.

MENSINK, Ronald P. et al. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. **The American journal of clinical nutrition**, v. 77, n. 5, p. 1146-1155, 2003.

MENTE, Andrew et al. A systematic review of the evidence supporting a causal link between dietary factors and coronary heart disease. **Archives of internal medicine**, v. 169, n. 7, p. 659-669, 2009.

MICHA, Renata et al. Global, regional, and national consumption levels of dietary fats and oils in 1990 and 2010: a systematic analysis including 266 country-specific nutrition surveys. **Bmj**, v. 348, p. g2272, 2014.

MIKKONEN, Kirsi S. et al. Effect of polysaccharide structure on mechanical and thermal properties of galactomannan-based films. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 10, p. 3198-3205, 2007.

MIYAZAWA, Tetsuya; FUNAZUKURI, Toshitaka. Noncatalytic hydrolysis of guar gum under hydrothermal conditions. **Carbohydrate research**, v. 341, n. 7, p. 870-877, 2006.

MOTAMED, Nima et al. Comparison of cardiovascular risk assessment tools and their guidelines in evaluation of 10-year CVD risk and preventive recommendations: A population based study. **International Journal of Cardiology**, v. 228, p. 52-57, 2017.

MOREIRA, Renato A. **Desenvolvimento de um novo método para o isolamento de lectinas ligantes de galactose, por cromatografia de afinidade**, 1998.

MOZAFFARIAN, Dariush; MICHA, Renata; WALLACE, Sarah. Effects on coronary heart disease of increasing polyunsaturated fat in place of saturated fat: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **PLoS Med**, v. 7, n. 3, p. e1000252, 2010.

MUDGIL, Deepak; BARAK, Sheweta; KHATKAR, B. S. X-ray diffraction, IR spectroscopy and thermal characterization of partially hydrolyzed guar gum. **International journal of biological macromolecules**, v. 50, n. 4, p. 1035-1039, 2012.

MUJAHID, Mohd. et al. Hepatoprotective effects of *Adenanthera pavonina* (Linn.) against anti-tubercular drugs-induced hepatotoxicity in rats. **Pharmacognosy Journal**, v. 5, n. 6, p. 286-290, 2013.

MUSCHIN, Tegshi. et al. Chemically sulfated natural galactomannans with specific antiviral and anticoagulant activities. **International journal of biological macromolecules**, v. 89, p. 415-420, 2016.

NATIONAL Cholesterol Education Program (NCEP): Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) final report. **Circulation**, v. 106, n. 25, p. 3143-3143, 2002.

NORDMANN, Alain J. et al. Effects of low-carbohydrate vs low-fat diets on weight loss and cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Archives of internal medicine**, v. 166, n. 3, p. 285-293, 2006.

OSMANCIK, Pavel P.; BEDNAR, Frantisek; MÓCIKOVÁ, Heidi. Glycemia, triglycerides and disease severity are best associated with higher platelet activity in patients with stable coronary artery disease. **Journal of thrombosis and thrombolysis**, v. 24, n. 2, p. 105-107, 2007.

POLI, Andrea et al. Non-pharmacological control of plasma cholesterol levels. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 18, n. 2, p. S1-S16, 2008.

PRAJAPATI, Vipul D. et al. Galactomannan: a versatile biodegradable seed polysaccharide. **International journal of biological macromolecules**, v. 60, p. 83-92, 2013.

PROSKY, Leon. 6 What is Dietary Fibre? A New Look at the Definition. **Advanced dietary fibre technology**, p. 63, 2008.

RAO, Theertham Pradyumna. Role of guar fiber in appetite control. **Physiology &**

Behavior, v. 164, p. 277-283, 2016.

RASOAMANANA, Rojo et al. Dietary fibers reduce food intake by satiation without conditioned taste aversion in mice. **Physiology & behavior**, v. 110, p. 13-19, 2013.

REID, J. S. G.; EDWARDS, M. E. Galactomannans and other cell wall storage polysaccharides in seeds. **FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER**, p. 155-155, 1995.

RIDKER, Paul M. et al. Development and validation of improved algorithms for the assessment of global cardiovascular risk in women: the Reynolds Risk Score. **Jama**, v. 297, n. 6, p. 611-619, 2007.

RIDKER, Paul M. et al. C-reactive protein and parental history improve global cardiovascular risk prediction. **Circulation**, v. 118, n. 22, p. 2243-2251, 2008.

ROSA, Damiana D. et al. Kefir reduces insulin resistance and inflammatory cytokine expression in an animal model of metabolic syndrome. **Food & Function**, v. 7, n. 8, p. 3390-3401, 2016.

RUDD, James HF; DAVIES, John R.; WEISSBERG, Peter L. Imaging of atherosclerosis—can we predict plaque rupture?. **Trends in cardiovascular medicine**, v. 15, n. 1, p. 17-24, 2005.

SAH, Sangeeta Pilkhwal et al. Animal models of insulin resistance: A review. **Pharmacological Reports**, v. 68, n. 6, p. 1165-1177, 2016.

SALVALAGGIO, Marina de Oliveira. **Galactomananas de sementes de espécies brasileiras**. 2010. Dissertação de Mestrado.

SOARES, Carlos Eduardo Alves. **Caracterização estrutural e potencial da galactomanana de Adenantha pavonina L. como matéria-prima para produção de filmes comestíveis bioativos**. 2009. Tese de Doutorado.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. SANTOS, Raul D. III Diretrizes brasileiras sobre dislipidemias e diretriz de prevenção da aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 77, p. 1-48, 2001.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. SPOSITO, Andrei C. et al. IV Diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, p. 2-19, 2007.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA (SBC). XAVIER, H. T. et al. V Diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 101, n. 4, p. 1-20, 2013.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. MAGALHÃES, Maria Eliane Campos. Novas Metas de Colesterol da Diretriz de Dislipidemia da SBC. **Int. j. cardiovasc. sci.(Impr.)**, v. 30, n. 6, p. f: 466-l: 468, 2017.

SOCIEDADE CARDIOVASCULAR CANADENSE (SCC). ANDERSON, Todd J. et al. 2016 Canadian Cardiovascular Society guidelines for the management of dyslipidemia for the prevention of cardiovascular disease in the adult. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 32, n. 11, p. 1263-1282, 2016.

SOUSA, Felipe Domingos de. **Propriedades físico-químicas de hemiceluloses vegetais**. 2014. Dissertação de Mestrado.

SOUZA, Ednaldo Bezerra de et al. **Germinação de sementes de Adenantha pavonina L. em função de diferentes temperaturas e substratos**. 2007.

SRICHAMROEN, Anchalee. et al. The modifying effects of galactomannan from Canadian-grown fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) on the glycemic and lipidemic status in rats. **Journal of clinical biochemistry and nutrition**, v. 43, n. 3, p. 167-174, 2008.

SRIVASTAVA, Manjoosha; KAPOOR, V. P. Seed galactomannans: an overview. **Chemistry & Biodiversity**, v. 2, n. 3, p. 295-317, 2005.

STANHOPE, Kimber L. et al. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. **The Journal of clinical investigation**, v. 119, n. 5, p. 1322-1334, 2009.

STANHOPE, Kimber L. et al. A dose-response study of consuming high-fructose corn

syrup-sweetened beverages on lipid/lipoprotein risk factors for cardiovascular disease in young adults. **The American journal of clinical nutrition**, v. 101, n. 6, p. 1144-1154, 2015.

STEPHEN, Alistair M. **Food polysaccharides and their applications**. CRC press, 1995.

STEINBÜCHEL, A.; DE BAETS, S.; VANDAMME, E. J. **Biopolymers**, Vol. 6. Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes. 2002.

THOM, Thomas et al. Heart disease and stroke statistics--2006 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. **Circulation**, v. 113, n. 6, p. e85, 2006.

TAPIE, N. et al. Determination of galactose and mannose residues in natural galactomannans using a fast and efficient high-performance liquid chromatography/UV detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1181, n. 1, p. 45-50, 2008.

TAVARES, R. O. **Galactomanana de Adenantha pavonina L. Aplicação para o isolamento de lectinas galactose-específicas**. 1998. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, Brasil.

TOWNSEND, Nick et al. Cardiovascular disease in Europe—epidemiological update 2015. **European heart journal**, p. ehv428, 2015.

VAN HORN, Linda; ERNST, Nancy. A summary of the science supporting the new National Cholesterol Education Program dietary recommendations: what dietitians should know. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 101, n. 10, p. 1148-1154, 2001.

VENDRUSCOLO, Cristina W. et al. Physicochemical and mechanical characterization of galactomannan from Mimosa scabrella: Effect of drying method. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 1, p. 86-93, 2009.

WILSON, Peter WF et al. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. **Circulation**, v. 97, n. 18, p. 1837-1847, 1998.

WU, Jianjun et al. Mechanisms underlying the effect of polysaccharides in the treatment of type 2 diabetes: A review. **Carbohydrate polymers**, v. 144, p. 474-494, 2016

ZHENG, Quan. et al. Optimization for ultrasound-assisted extraction of polysaccharides with chemical composition and antioxidant activity from the *Artemisia sphaerocephala* Krasch seeds. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 856-866, 2016.

ANEXO A – Recibo de pedido de patente de produto ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI)



28/11/2016 870160070692
11:59
00.000.2.2.16.0914602.0

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2016 027846 5

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: Universidade Federal do Maranhão

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 06279103000119

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Av. dos Portugueses, 1966 - Cidade Universitária, Bacanga

Cidade: São Luis

Estado: MA

CEP: 65080-805

País: Brasil

Telefone: (98) 32728710

Fax:

Email: nit-dapi@ufma.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 28/11/2016 às 11:59, Petição 870160070692

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de PÃES ENRIQUECIDOS COM GALACTOMANANA

Utilidade (54):

Resumo: A presente invenção diz respeito a pães enriquecidos com galactomanana os quais contêm galactomanana de *Adenanthera pavonina* Linn. como substituinte do óleo na formulação da massa dos pães, visando o aumento no consumo diário de fibra solúvel para melhora do perfil glicêmico da população, inclusive diabéticos. Os pães enriquecidos com galactomanana da presente invenção é um alimento funcional que pode contribuir ainda para o controle da saciedade, controle glicêmico, controle do perfil lipídico e melhora do trânsito intestinal.

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 28/11/2016 às 11:59, Petição 870160070692

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 6**Nome:** DANIELE GOMES CASSIAS RODRIGUES**CPF:** 80355579391**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Enfermeiro de nível superior, nutricionista, farmacêutico e afins**Endereço:** Rua Boa Esperança, nº 102, bl: 09, Apto: 204, Turu**Cidade:** São Luís**Estado:** MA**CEP:** 65066-190**País:** BRASIL**Telefone:** (98) 327 28530**Fax:****Email:** danicassias@yahoo.com.br**Inventor 2 de 6****Nome:** MARILENE OLIVEIRA DA ROCHA BORGES**CPF:** 22729860215**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Enfermeiro de nível superior, nutricionista, farmacêutico e afins**Endereço:** Rua Osires, nº 6, Edifício EL Greco, AP: 602, Jardim Renascença**Cidade:** São Luís**Estado:** MA**CEP:** 65075-775**País:** BRASIL**Telefone:** (98) 992 224445**Fax:****Email:** morborges@yahoo.com.br**Inventor 3 de 6****PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 28/11/2016 às 11:59, Petição 870160070692

Nome: ANA PATRÍCIA FONTES DA SILVA

CPF: 60636495302

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Enfermeiro de nível superior, nutricionista, farmacêutico e afins

Endereço: Rua: São Francisco, quadra: 14, nº 10, Santa Clara

Cidade: São Luís

Estado: MA

CEP: 65058-652

País: BRASIL

Telefone: (98) 981 169072

Fax:

Email: patriciafontes.ana@gmail.com

Inventor 4 de 6

Nome: ERIKA MEIRE DOS SANTOS MARTINS

CPF: 06039136367

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Enfermeiro de nível superior, nutricionista, farmacêutico e afins

Endereço: Rua: São Benedito, nº 45, João Paulo.

Cidade: São Luís

Estado: MA

CEP: 65041-360

País: BRASIL

Telefone: (98) 981 865716

Fax:

Email: erikasmartins@hotmail.com

Inventor 5 de 6

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 28/11/2016 às 11:59, Petição 870160070692

Nome: THANARA DA CONCEIÇÃO DA SILVA

CPF: 05142603354

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Enfermeiro de nível superior, nutricionista, farmacêutico e afins

Endereço: Rua: São Benedito, nº 320ª, São Bernardo

Cidade: São Luís

Estado: MA

CEP: 65056-200

País: BRASIL

Telefone: (98) 988 620008

Fax:

Email: thanara.csilva@hotmail.com

Inventor 6 de 6

Nome: DARAH DE LOURDES COSTA LINDOSO

CPF: 06066411306

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Estudante de Graduação

Endereço: Rua: 05, casa 04, Vila Noronha, Cohab Anil 3

Cidade: São Luís

Estado: MA

CEP: 65062-090

País: BRASIL

Telefone: (98) 982 459171

Fax:

Email: darahcrispim@hotmail.com

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome
Relatório Descritivo	1 RelatórioPatenteDaniele2016.pdf
Reivindicação	2 ReivindicaçõesPatenteDaniele2016Final.pdf
Resumo	3 ResumoPatenteDaniele2016.pdf
Comprovante de pagamento de GRU 200	comprovante de pagamento.pdf

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 28/11/2016 às 11:59, Petição 870160070692

ANEXO B – Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS- CEUA CIAEP:01.0341.2014

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**Efeito da galactomanana de *Adenanthera pavonina linn. (carolina)* no tratamento de diabetes mellitus tipo 2**", registrada com o nº **23115.003583/2016-12**, sob a responsabilidade de Daniele Gomes Cassias Rodrigues que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado **Aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA- UFMA) da Universidade Federal do Maranhão em reunião de 07/06/2016.

FINALIDADE	() ENSINO (X) PESQUISA () EXTENSÃO
Vigência da autorização	2 ANOS (02/01/2016 à 31/01/2018)
Espécie/linhagem/raça	<i>Rattus norvegicus albinus</i> (rato) / Wistar
Nº de animais	74
Peso/Idade	250-300g / 10-11 semanas
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central da UFMA

Lucilene Amorim Silva

Profa. Dra. Lucilene Amorim Silva
Presidente da Comissão de Ética no uso de
animais-CEUA UFMA

ANEXO C – Normas para submissão de artigo ao periódico *Carbohydrate Polymers* – Elsevier

CARBOHYDRATE POLYMERS

A Journal Devoted to Scientific and Technological Aspects of Industrially Relevant Polysaccharides

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Carbohydrate Polymers is a major journal within the field of glycoscience, and covers the study and exploitation of polysaccharides which have current or potential application in areas such as bioenergy, bioplastics, biomaterials, biorefining, chemistry, drug delivery, food, health, nanotechnology, packaging, paper, pharmaceuticals, medicine, oil recovery, textiles, tissue engineering and wood, and other aspects of glycoscience.

The role of the well-characterized carbohydrate polymer must be the major proportion of the work reported, not a peripheral topic. At least one named carbohydrate polymer must be cited and be the main focus of the paper and its title. Research must be innovative and advance scientific knowledge.

Characterization For all polysaccharides, including those obtained from a supplier, essential structural information which will affect their behavior in the subsequent work should be given, along with a description of how that information was ascertained. Examples of such essential information include molecular weight, mannuronate/guluronate ratio for alginates, degree of esterification for pectin, degree of deacetylation for chitosan. Editors are unlikely to send papers for formal review with a statement such as "sodium alginate was purchased from XXX Inc." unless additional information is supplied. For papers involving synthesis, polysaccharide derivatives must also be wellcharacterized. For papers describing identity or application of newly-discovered polysaccharides, purity and monosaccharide composition are essential; some molecular size and linkage information is highly desirable.

Hypotheses Nearly all scientific papers benefit from inclusion of a statement of hypothesis. Such statements should be concise, declarative, and should describe the one or more key hypotheses upon which the manuscript is based were intended to confirm or refute. Inclusion of a hypothesis statement makes it simple to contrast the hypothesis with the most relevant previous literature and point out what the authors feel is distinct about the current hypothesis (novelty). It also permits the authors to describe why they feel it would be important to prove the hypothesis correct (significance).

Topics of interest to the journal:

- structure-property relationships
- analytical methods
- chemical, enzymatic and physical modifications
- biosynthesis
- natural functions
- interactions with other materials

Topics not of interest to the journal:

- papers focusing on biological, physiological and pharmacological aspects of non-carbohydrate molecules attached to, or mixed with, carbohydrate polymers, unless the polysaccharide has a relevant and specific role.
- papers on the materials science of biocomposites where there is no mention of any specific carbohydrate polymer, or the role of the carbohydrate polymer is not the major proportion of the study.
- papers focusing on polyalkanoates, polylactic acid, or lignin.
- routine studies of extraction yields without characterisation of the extracted polysaccharide under the different conditions.
- routine studies of complexation of a drug with a single cyclodextrin.
- studies of newly discovered natural polysaccharides or new polysaccharidederivatives where the
- structure of the polysaccharide is unknown.

- papers on the production and isolation of enzymes which act on polysaccharides (studies on the mode of action of an enzyme on a polysaccharide are within the journal scope)
- papers where the degree of polymerization of the saccharide chain is less than four.

Aims and Scope

Types of paper

Original full-length research papers should contain material that has not been previously published elsewhere, except in a preliminary form. These papers should not exceed 6000 words of text (including references) and generally not more than eight figures/tables. The same information should not be repeated in a figure and a table.

Review papers will be accepted in areas of topical interest and will normally emphasise literature published over the previous five years. They should not exceed 12,000 words (not including references) and should contain no more than 8 figures and 6 Tables. The same information should not be repeated in a figure and a table.

Contact details for submission

Contributors must submit their articles electronically via the Elsevier Editorial System <http://ees.elsevier.com/carbpol>. This is the only method of submission, and facilitates processing of your article.

Review process

A peer review system is used to ensure high quality of papers accepted for publication. The Editors will reject papers without formal review when it is deemed that the paper is 1) on a topic outside the scope of the Journal, 2) lacking technical merit, 3) of narrow regional scope and significance, 4) does not advance scientific knowledge, or 5) is poorly written. Previous publication of a paper on a particular topic does not guarantee publication of subsequent papers in that area, as the Aims and Scope of the journal are regularly updated. Please see the Current Aims and Scope before you submit. Any revised papers returned later than three months after being sent the reviewers' comments will be treated as a new submission. When

submitting a revised paper authors must list all of the reviewer's comments and indicate how they have responded to the comment, and where in the paper they have made appropriate revisions.

Resubmitted Manuscripts

It is the author's choice whether or not to resubmit a rejected manuscript to the journal. The expectation of the journal and its editors is that any resubmission will be the result of significant rewriting and perhaps additional experimentation as required to address all prior reviewer and editor concerns. Authors resubmitting previously rejected manuscripts are required to; 1) identify the manuscript as a resubmitted manuscript in the cover letter to the editor, including identification of the prior title and manuscript number, 2) address all reviewer concerns from the final reviews of the previous, rejected manuscript, and 3) include a "Response to Reviewers" document that includes those reviews from the previous version and your responses to those reviews; clearly identify what are reviewer comments and what are your responses, often the use of color is a convenient way to do so. You will also be requested to indicate this status during the submission process in EES.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information pages on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication.

Human and animal rights

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans; Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals. Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed. All animal experiments should comply with the ARRIVE guidelines and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, EU Directive

2010/63/EU for animal experiments, or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed.

- **Plagiarism and Ethical Concerns**

By submitting this manuscript, the authors agree that text, equations, or figures from previously published articles or books have been clearly identified in full and their origin clearly explained in the adjacent text, with appropriate references given at the end of the paper. Duplication of text is rarely justified, even with diligent referencing. Exceptions may be made for descriptions of standard experimental techniques, or other standard methods used by the author in the investigation; but an appropriate citation is mandatory. Authors who duplicate material from their own published work in a new article, without clearly identifying the repeated material and its source as outlined above, are self-plagiarising.

If an author is found to have plagiarized content from another author or submits a duplicate publication the paper will be rejected without review. These actions may result in sanctions such as retraction of the article (along with the publication of a corrective notice with a direct link to the original article explaining the reason for the retraction) and a possible ban on future publications from the author. In addition, the scientific community at large, including the author's work place, may be notified about the case and the decision reached. Committing plagiarism or submitting a duplicate publication can have a negative impact on an author's scientific career.

Declaration of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. More information.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or

academic thesis or as an electronic preprint, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' section of our ethics policy for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service CrossCheck.

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see more information on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative

works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases.

For open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (more information). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license.

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. *Funding body agreements and policies* Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the Open Access Publication Fee. Details of existing agreements are available online.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.
- An open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our universal access programs.
- No open access publication fee payable by authors.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards. For open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution (CC BY)

Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The open access publication fee for this journal is **USD 2600**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <https://www.elsevier.com/openaccesspricing>

Green open access Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our green open access page for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes

freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form.

This journal has an embargo period of 12 months.

Elsevier Publishing Campus

The Elsevier Publishing Campus (www.publishingcampus.com) is an online platform offering free lectures, interactive training and professional advice to support you in publishing your research. The College of Skills training offers modules on how to prepare, write and structure your article and explains how editors will look at your paper when it is submitted for publication. Use these resources, and more, to ensure that your submission will be the best that you can make it.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop.

Submission

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, source files containing the accepted revisions are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail.

Reviewers

Authors are required to submit with their articles, the names, complete affiliations (spelled out), country and contact details (including current and valid (preferably business) e-mail address) of three potential reviewers. Email addresses and reviewer

names will be checked for validity. Your potential reviewers should not be from your institute, and at least two should be from a different country. Authors should not suggest reviewers with whom they have collaborated within the past two years. Your submission will be rejected if these are not supplied. Names provided may be used for other submissions on the same topic. Reviewers must have specific expertise on the subject of your article and/or the techniques employed in your study. Briefly state the appropriate expertise of each reviewer. Do not select a referee only because they have expertise on polysaccharides, this is not specific enough. Authors cited in your paper can be useful reviewers.

PREPARATION

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor. Pages must be numbered, and lines must be numbered consecutively throughout the manuscript.

Article structure

(The abstract is not included in section numbering; see specific instructions below.)

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in

section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results. Do not anticipate your results, or provide a chronicle of the works done.

Hypotheses

Nearly all scientific papers benefit from inclusion of a statement of hypothesis. Such statements should be concise, declarative, and should describe the one or more key hypotheses upon which the manuscript is based were intended to confirm or refute. Inclusion of a hypothesis statement makes it simple to contrast the hypothesis with the most relevant previous literature and point out what the authors feel is distinct about the current hypothesis (novelty). It also permits the authors to describe why they feel it would be important to prove the hypothesis correct (significance).

Material and methods (or experimental)

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Results

A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature. Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and

Discussion section. The Conclusion should not be a summary, but should illustrate the advances and claims of innovative aspects of the research work done.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- **Title.** Concise, attractive and informative. The title should not exceed 120 characters excluding spaces and should make clear the focus of the paper and the fact that the focus is within the scope of the journal. Specifically name the carbohydrate polymer or group of carbohydrate polymers that is the main focus of the research. Because titles are used in information-retrieval systems, avoid abbreviations and formulae, avoid general terms when specific ones are available, avoid strings of names. Check for syntax and spelling. If your paper is a review paper, please include the word "review" somewhere in the title.

- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and **the e-mail address of each author**. Authors must provide and use an email address unique to themselves and not shared with another author registered in EES, or a department. Institutional email addresses, rather than personal email addresses such as gmail, are strongly preferred for all authors who are affiliated to an institution; this is particularly important for the corresponding author.

- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of reviewing and publication, also post-publication. **Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-**

mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.

- ***Present/permanent address.*** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required, and should be a maximum of 150 words in length. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. Numerical values for the most important findings should be reported. An abstract is often presented separately from the article in databases, so it must be able to stand alone. For this reason, vague terms and references should be avoided. Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view example Highlights on our information site.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Chemical compounds

You can enrich your article by providing a list of chemical compounds studied in the article. The list of compounds will be used to extract relevant information from the NCBI PubChem Compound database and display it next to the online version of the article on ScienceDirect. You can include up to 10 names of chemical compounds in the article. For each compound, please provide the PubChem CID of the most relevant record as in the following example: Glutamic acid (PubChem CID:611). Please position the list of compounds immediately below the 'Keywords' section. It is strongly recommended to follow the exact text formatting as in the example below: Chemical compounds studied in this article Ethylene glycol (PubChem CID: 174); Plitidepsin (PubChem CID: 44152164); Benzalkonium chloride (PubChem CID: 15865). More information.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field or approved by learned societies in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article. Abbreviations, except for very common terms (e.g. DNA, NMR), should not be used in the title of the paper.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y . In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.

- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<https://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

Do not exceed a total of 8 figures in your research paper.

Carbohydrate Polymers requires authors to include tables and figures in the body of the article at the appropriate position, not at the end of the article.

References

Citation in text

All citations in the text should refer to:

1. Single author: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication (Smith, 2003);

2. Two authors: both authors' names and the year of publication (Smith & Jones, 2004);
3. Three, four or five authors: all authors names and year of publication (Smith, Jones, & Brown, 2005). For all subsequent citations of this work use et al. (Smith et al., 2005).
4. Six or more authors: first author's name followed by et al. and the year of publication (Black et al., 2007).

Citations may be made directly or parenthetically. Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically. Examples: "as demonstrated (Allan, 1996a, b, 1999; Allan & Jones, 1995; Allen et al., 1994). Kramer et al. (2000) have recently shown..."

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley and Zotero, as well as EndNote. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following

link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/carbohydrate-polymers>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plugins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference style

Text: Citations in the text should follow the referencing style used by the American Psychological Association.

List: references should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J. A. J., & Lupton, R. A. (2010). The art of writing a scientific article. *Journal of Scientific Communications*, 163, 51–59.

Reference to a book:

Strunk, W., Jr., & White, E. B. (2000). *The elements of style*. (4th ed.). New York: Longman, (Chapter 4).

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G. R., & Adams, L. B. (2009). How to prepare an electronic version of your article. In B. S. Jones, & R. Z. Smith (Eds.), *Introduction to the electronic age* (pp. 281–304). New York: E-Publishing Inc.

Video data

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to

submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary material

Supplementary material can support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Please note that such items are published online exactly as they are submitted; there is no typesetting involved (supplementary data supplied as an Excel file or as a PowerPoint slide will appear as such online). Please submit the material together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. If you wish to make any changes to supplementary data during any stage of the process, then please make sure to provide an updated file, and do not annotate any corrections on a previous version. Please also make sure to switch off the 'Track Changes' option in any Microsoft Office files as these will appear in the published supplementary file(s). For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages.

Data in Brief

Authors have the option of converting any or all parts of their supplementary or additional raw data into one or multiple Data in Brief articles, a new kind of article that houses and describes their data. Data in Brief articles ensure that your data, which is

normally buried in supplementary material, is actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and publicly available to all upon publication. Authors are encouraged to submit their Data in Brief article as an additional item directly alongside the revised version of their manuscript. If your research article is accepted, your Data in Brief article will automatically be transferred over to *Data in Brief* where it will be editorially reviewed and published in the new, open access journal, *Data in Brief*. Please note an open access fee is payable for publication in *Data in Brief*. Full details can be found on the Data in Brief website. Please use this template to write your Data in Brief.

Database linking

Elsevier encourages authors to connect articles with external databases, giving readers access to relevant databases that help to build a better understanding of the described research. Please refer to relevant database identifiers using the following format in your article: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN). More information and a full list of supported databases.

AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and examples are available. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

Interactive plots

This journal enables you to show an Interactive Plot with your article by simply submitting a data file. Full instructions.

Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail addresses for all authors
- Full postal address
- Phone numbers

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors. If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for

proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's Webshop. Corresponding authors who have published their article open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

AUTHOR INQUIRIES

Track your submitted article

Track your accepted article

You are also welcome to contact the Elsevier Contact Center.

Do not contact the editors - they do not have access to this information and will not be able to help you.

ANEXO D – Normas para submissão de artigo ao periódico *Nutrition – Elsevier*

NUTRITION

The International Journal of Applied and Basic Nutritional Sciences

GUIDE FOR AUTHORS

Your Paper Your Way

We now differentiate between the requirements for new and revised submissions. You may choose to submit your manuscript as a single Word or PDF file to be used in the refereeing process. Only when your paper is at the revision stage, will you be requested to put your paper in to a 'correct format' for acceptance and provide the items required for the publication of your article.

To find out more, please visit the Preparation section below.

INTRODUCTION

Nutrition provides an international forum for professionals interested in the **applied and basic** biomedical **nutritional sciences, and publishes papers both of clinical interest and of scientific import**. Investigators are encouraged to submit papers in the disciplines of nutritionally related biochemistry, genetics, immunology, metabolism, molecular and cell biology, neurobiology, physiology, and pharmacology. Papers on nutrition-related plant or animal sciences which are not of direct relevance to man, whereas occasionally of interest are not the main focus of the Journal. *Nutrition* publishes a wide range of articles, which includes original investigations, review articles, rapid communications, research letters, case reports and special category manuscripts. Manuscripts must be prepared in accordance with the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" developed by the International Committee of Medical Journal Editors (*N Engl J Med* 1991;324:424-428). All submissions are peer reviewed.

Original Investigation (3000-5000 words including tables, figures and references)

Original investigations are considered full-length applied (human) or basic (bench work) research reports. They cover topics relevant to clinical and basic studies

relevant to man in the following areas nutritionally related biochemistry, genetics, immunology, metabolism, molecular and cell biology, neurobiology, physiology, and pharmacology. Studies in adult and pediatric populations are welcome. The work presented in the manuscript must be original; studies confirming previous observations will be considered. Other considerations of a paper's publishability are its importance to the science, the soundness of the experimental design, the validity of methods, the appropriateness of the conclusions and the quality of presentation.

Rapid Communication (1000-3000 words including tables, figures and references)

Papers representing concise and original studies of scientific importance are considered. In the cover letter the author should justify the request for Rapid Communication. The review process is 10 days, authors are allowed one revision if accepted, and the final version of the paper appears in the next available issue of the journal.

Research Letter (up to 1000 words, including up to 10 references and 1 figure or table)

A Research Letter contains new data or a clinical observation, in a format that allows for rapid publication.

Review Article (up to 5000 words including tables, figures and references)

In-depth, comprehensive state of the art reviews on a nutritional topic are welcomed. Reviews may be invited by the Editor or may be unsolicited viewpoints.

Case Report (up to 2500 words including tables figures, and references) Case Reports include case studies of 4 or fewer patients that describe a novel situation or add important insights into mechanisms, diagnosis or treatment of a disease.

Editorial (up to 1000 words including tables, figures and references)

Editorials express opinions on current topics of interest, or provide comments on papers published in *Nutrition* or other journals. Editorials are generally solicited by one of the Editors.

Correspondence (Letter to the Editor) (1000 words including tables, figures and references)

Opinion pieces concerning papers published in *Nutrition* are particularly welcomed and all submissions are subject to editing. Letters commenting on past-published papers are sent to the corresponding author for a response. Letters are selected for their relevance and originality; not all letters submitted can be published.

Meeting Proceedings (up to 2500 words including tables, figures and references)

Reports of meeting proceedings are synopses of scientific meetings of interest to *Nutrition's* audience. Authors should e-mail the Editor to solicit potential interest 8 weeks prior to conference. Collections of abstracts representing the proceedings of organizational meetings are not subjected to customary peer review. It is the view of the Editorial Board that it is of service to the nutrition community to present such material as promptly as possible.

Hypothesis (up to 3000 words including tables, figures and references)

Novel insights into a significant questions or clinical issues are welcome, and will be peer reviewed. As the definition of "hypothesis" suggests, articles of this type should be, although they lack direct experimental evidence, closely tied to empirical data and lead to testable predictions.

Special Article (up to 5000 words including tables, figures and references)

Associated with a particular special event, invitation or announcement; for example, the annual John M. Kinney Awards papers.

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- Relevant declarations of interest have been made
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our Support Center.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information pages on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication.

CONDITIONS OF PUBLICATION — ETHICAL AND LEGAL CONSIDERATIONS

All material submitted to *Nutrition*, for any section of the journal, is considered for publication on the understanding that authors (including all coauthors) agree to *Nutrition's* publication policies as stated in this section of the Guidelines to Authors.

In the event of non-compliance with these conditions of publication, including issues that surface after a contribution is published, *Nutrition's* rights include: sending a notice of failure to comply to authors' employers and funding agencies; and/or informing readers via a published correction/retraction; the latter is linked to the original contribution via electronic indexing and becomes part of the formal published record.

Research/publication misconduct is a serious breach of ethics. Such misconduct includes:

- i) Redundant or duplicate publication by same author(s),
- ii) Publication in another source by the same author(s) without acknowledgement or permission from the publisher, or
- iii) Plagiarism or self-plagiarism (publication of material without acknowledging original author source).
- iv) Fabrication of data, not substantiable via review of research records.

Should such publications occur, editorial action would be taken. In certain cases, secondary publication is justifiable and even beneficial; however, such circumstances should be prospectively discussed with and agreed upon by the Editor-In-Chief.

Nutrition will not accept a submission of work previously reported in large part in a published article (duplicate) or that is contained in another paper submitted or accepted for publication in *Nutrition* or elsewhere.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or

other funding. If there are no conflicts of interest then please state this: 'Conflicts of interest: none'. More information.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' section of our ethics policy for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service CrossCheck.

Authorship

Corresponding Author: One author is designated the corresponding author (not necessarily the senior author) who will be approached to clarify any issues, such as those pertaining to materials and methods, or technical comments. If *Nutrition* receives feedback from its readers concerning the published paper, the corresponding author will be contacted. It is this author's responsibility to inform all coauthors of such matters to ensure they are dealt with promptly.

The corresponding author must affirm in the cover letter at the time of submission that:

1. None of the material in the manuscript is included in another manuscript, has been published previously, or is currently under consideration for publication elsewhere. This includes symposia proceedings, transactions, books, articles published by invitation, and preliminary publications of any kind except an abstract of less than 250 words. If there is any question concerning potential overlap, the related material must be included for evaluation.

2. Ethical guidelines were followed by the investigator in performing studies on humans or animals and should be described in the paper. The approval of the institutional review board of either animal or human ethics committee must be cited in the Methods.

3. Each author must have participated sufficiently in the work to take public responsibility for the content of the paper and must approve of the final version of the manuscript. Authorship should be based on substantive contributions to each of the following: conception and design of the study; generation, collection, assembly, analysis and/or interpretation of data; and drafting or revision of the manuscript; approval of the final version of the manuscript. Authors are required to include a statement in the Acknowledgements to specify the actual contribution of each coauthor under the above headings.

4. If requested, the authors will provide the data or will cooperate fully in obtaining and providing the data on which the manuscript is based for examination by the editors or their assignees

Changes to Authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

Changes to author names after acceptance are strongly discouraged and can be accepted only in compelling circumstances.

Before the accepted manuscript is published in an online issue Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of

any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

After the accepted manuscript is published in an online issue: Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

Reporting clinical trials

Randomized controlled trials should be presented according to the CONSORT guidelines. At manuscript submission, authors must provide the CONSORT checklist accompanied by a flow diagram that illustrates the progress of patients through the trial, including recruitment, enrollment, randomization, withdrawal and completion, and a detailed description of the randomization procedure. The CONSORT checklist and template flow diagram are available online.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see more information on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement. Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases. For open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (more information). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license.

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information.

Elsevier supports responsible sharing Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the Open Access Publication Fee. Details of existing agreements are available online.

After acceptance, open access papers will be published under a noncommercial license. For authors requiring a commercial CC BY license, you can apply after your manuscript is accepted for publication.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.
- An open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our universal access programs.
- No open access publication fee payable by authors.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The open access publication fee for this journal is **USD 2500**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our green open access page for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. Find out more.

This journal has an embargo period of 12 months.

Elsevier Publishing Campus

The Elsevier Publishing Campus (www.publishingcampus.com) is an online platform offering free lectures, interactive training and professional advice to support you in publishing your research. The College of Skills training offers modules on how to prepare, write and structure your article and explains how editors will look at your

paper when it is submitted for publication. Use these resources, and more, to ensure that your submission will be the best that you can make it.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Submit your article

All new manuscripts must be submitted through Nutrition's online submission and review Web site <http://ees.elsevier.com/nut/>.

Referees

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our Support site. Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

PREPARATION

NEW SUBMISSIONS

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts your files to a single PDF file, which is used in the peer-review process. As part of the Your Paper Your Way service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document,

in any format or layout that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately.

Authors please note: We please ask you to use line numbering throughout the manuscript text, to facilitate clear and rapid peer review

References

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct.

Formatting requirements

There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions. If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes. Divide the article into clearly defined sections.

Figures and tables embedded in text

Please ensure the figures and the tables included in the single file are placed next to the relevant text in the manuscript, rather than at the bottom or the top of the file.

REVISED SUBMISSIONS

Use of word processing software Regardless of the file format of the original submission, at revision you must provide us with an editable file of the entire article. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. The electronic text should be

prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier). See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Subdivision - unnumbered sections

Divide your article into clearly defined sections. Each subsection is given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line. Subsections should be used as much as possible when cross-referencing text: refer to the subsection by heading as opposed to simply 'the text'.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

This should include 1) title of paper (**use no abbreviations, limit: 120 characters with spaces**), 2) running head of fewer than 55 characters with spaces, 3) full names of all authors with highest academic degree(s); 4) affiliations of all authors; 4) role of each author in the work (see Authorship); 5) a word count for the entire manuscript (including figures and tables), and the number of figures and tables, 4) the complete mailing address (including telephone, fax, and e-mail address of the corresponding author for e-mailing of proofs and reprint requests).

Abstracts should be no more than **250 words**. The structured abstract for an original investigation should be organized as follows:

Objective: The abstract should begin with a clear statement of the precise objective or question addressed in the paper. If a hypothesis was tested, it should be stated.

Research Methods & Procedures: The basic design of the study and its duration should be described. The methods used should be stated, the statistical data/methods provided and referenced.

Results: The main results of the study should be given in narrative form. Measurements or other information that may require explanation should be defined. Levels of statistical significance should be indicated, including other factors crucial to the outcome of the study.

Conclusion(s): State only conclusions that are directly supported by the evidence and the implications of the findings.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site. Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements: Illustration Service.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view example Highlights on our information site.

Keywords

5—7 key words or phrases should be provided which should be selected from the body of the text and not duplicate title words.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgments

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the

title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y . In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Preferred fonts: Arial (or Helvetica), Times New Roman (or Times), Symbol, Courier.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Indicate per figure if it is a single, 1.5 or 2-column fitting image.
- For Word submissions only, you may still provide figures and their captions, and tables within a single file at the revision stage.
- Please note that individual figure files larger than 10 MB must be provided in separate source files. A detailed guide on electronic artwork is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalized, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.

TIFF (or JPG): Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPG): Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low.
- Supply files that are too low in resolution.
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

Illustration services

Elsevier's WebShop offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, Cross-Ref and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

A DOI can be used to cite and link to electronic articles where an article is in-press and full citation details are not yet known, but the article is available online. A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of*

Geophysical Research, <http://dx.doi.org/10.1029/2001JB000884i>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. This identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley and Zotero, as well as EndNote. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/nutrition>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plugins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

[1] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. J Sci Commun 2010;163:51–9.

Reference to a book:

[2] Strunk Jr W, White EB. The elements of style. 4th ed. New York: Longman; 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[3] Mettam GR, Adams LB. How to prepare an electronic version of your article. In: Jones BS, Smith RZ, editors. Introduction to the electronic age, New York: E-Publishing Inc; 2009, p. 281–304.

Reference to a website:

[4] Cancer Research UK. Cancer statistics reports for the UK, <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>; 2003 [accessed 13.03.03].

Reference to a dataset:

[dataset] [5] Oguro M, Imahiro S, Saito S, Nakashizuka T. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, Mendeley Data, v1; 2015. <http://dx.doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Note shortened form for last page number. e.g., 51–9, and that for more than 6 authors the first 6 should be listed followed by 'et al.' For further details you are referred to 'Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals' (J Am Med Assoc 1997;277:927–34) (see also Samples of Formatted References).

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations.

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages. Note: since video and

animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary material

Supplementary material can support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Please note that such items are published online exactly as they are submitted; there is no typesetting involved (supplementary data supplied as an Excel file or as a PowerPoint slide will appear as such online). Please submit the material together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. If you wish to make any changes to supplementary data during any stage of the process, then please make sure to provide an updated file, and do not annotate any corrections on a previous version. Please also make sure to switch off the 'Track Changes' option in any Microsoft Office files as these will appear in the published supplementary file(s). For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages.

AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and examples are available. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing

provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors. If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's Webshop. Corresponding authors who have published their article open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the Elsevier Support Center to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also check the status of your submitted article or find out when your accepted article will be published.