



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos

**Efeito de métodos de extração nos atributos químicos,
estruturais e reológicos de frutanos derivados de raízes de
Arctium lappa L.**

ANNECLER RECH DE MARINS

Maringá

2023

ANNECLER RECH DE MARINS

**Efeito de métodos de extração nos atributos químicos,
estruturais e reológicos de frutanos derivados de raízes de
Arctium lappa L.**

Tese apresentada ao programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

Maringá

2023

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

M339e

Marins, Annecler Rech de

Efeito de métodos de extração nos atributos químicos, estruturais e reológicos de frutanos derivados de raízes de *Arctium lappa* L. / Annecler Rech de Marins. -- Maringá, PR, 2023.

57 f. : figs., tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Andresa Carla Feihmann.

Coorientadora: Profa. Dra. Raquel Gutierrez Gomes.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2023.

1. Bardana (*Arctium lappa* L.) - Atividades biológicas. 2. Bardana (*Arctium lappa* L.) - Polissacarídeos. 3. Bardana (*Arctium lappa* L.) - Características estruturais. 4. Bardana (*Arctium lappa* L.) - Métodos de extração. I. Feihmann, Andresa Carla, orient. II. Gomes, Raquel Gutierrez, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.

CDD 23.ed. 664

Síntique Raquel Eleutério - CRB 9/1641

ANNECLER RECH DE MARINS

**“EFEITO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO NOS ATRIBUTOS QUÍMICOS,
ESTRUTURAIS E REOLÓGICOS DE FRUTANOS DERIVADOS DE RAÍZES
DE ARCTIUM LAPPA L.”**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, para obtenção do grau de Doutor em Ciência de Alimentos.



Profa. Dra. Raquel Guttierres Gomes



Profa. Dra. Ana Paula Quites Larrosa



**Profa. Dra. Renata Dinnies Santos
Salem**



Profa. Dra. Marcela de Rezende Costa



**Profa. Dra. Andresa Carla Feihmann
Orientadora**

Orientadora

Andresa Carla Feihmann

Co-orientadora

Raquel Guttierres Gomes

BIOGRAFIA

Annecler Rech de Marins nasceu em 13 de setembro de 1993 na cidade de Francisco Beltrão – PR. Possui graduação em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Ponta Grossa e Mestrado pelo programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá. Tem experiência na indústria nas áreas de gestão de pessoas, controle de qualidade e produção. Na pesquisa atua principalmente nos seguintes temas: desenvolvimento e obtenção de produtos prebióticos e probióticos, alimentos funcionais, compostos bioativos, produtos cárneos e produtos lácteos.

Dedico

*A Deus, em primeiro lugar na minha vida, por permitir essa conquista.
Ao meu companheiro Cleverson pelo amor e paciência.
Aos meus pais Lourdes e Tertuliano pelos ensinamentos, pelas oportunidades, pelo apoio
incondicional e por serem meus maiores exemplos.
As minhas irmãs Aracéli e Thalissa pelo auxílio e compreensão.
A minha família como um todo, meu sobrinho Mateus e meu cunhado Secco.
Ao meu amigo Adrian pela oportunidade de tê-lo tido em minha vida, por sempre e para sempre
estar comigo.
A todos os meus amigos, em especial minhas amigas Pâmela e Renata, pelo suporte e apoio.*

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Professora Dra. Andresa Carla Feihmann, pela orientação, dedicação, por ter compartilhado seus conhecimentos, por acreditar nesse trabalho e tornar possível sua concretização.

À minha co-orientadora, Professora Dra. Raquel Guttieres Gomes, pelo apoio incondicional, conhecimentos passados e disponibilidade em ajudar sempre.

À Me. Susana Cotrim e a professora Dra. Regina e todo o laboratório LABIPROS (Laboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais e Sintéticos).

À Universidade Estadual de Maringá, juntamente com todos os professores do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos e demais colaboradores, pelo auxílio e por compartilharem seus conhecimentos.

Ao PPC (Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos) e toda sua estrutura, por me possibilitarem ingressar nessa pós-graduação.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo fomento e pelo investimento em mim e nessa pesquisa.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente estiveram contribuindo para que tudo isso fosse possível.

APRESENTAÇÃO

Esta Tese de doutorado está apresentada na forma de dois artigos científicos:

Métodos de extração, composição e atividade biológica dos polissacarídeos de *Arctium lappa* L. – *Short review*

Annecler Rech de Marins, Talita Aparecida Ferreira de Campos, Raquel Guttierres Gomes, Andresa Carla Feihrmann, Ivanor Nunes do Prado
Publicado em Research, Society and Development, Qualis C, Impact Factor: 1.78.

Efeito de métodos de extração nos atributos químicos, estruturais e reológicos de frutanos derivados de raízes de *Arctium lappa* L.

Annecler Rech de Marins, Susana Tavares Cotrim Ribeiro, Mariana Carla de Oliveira, Lúcio Cardozo Filho, Arildo José Braz de Oliveira, Regina Aparecida Correia Gonçalves, Raquel Guttierres Gomes, Andresa Carla Feihrmann
Publicado em Carbohydrate Polymers, Qualis A1, Impact Factor: 11.2.

RESUMO GERAL

Introdução

Arctium lappa L. é uma planta comestível e com propriedades medicinais, que pertence à família Asteraceae, sendo comumente conhecida como bardana (Yosri et al., 2023), cultivada em diversos países. Em sua composição os polissacarídeos se destacam como componentes majoritários, associados aos efeitos benéficos à saúde (Chang et al., 2009; Zhang et al., 2019). A literatura apresenta dados sobre a avaliação da capacidade anti-inflamatória de frutanos da bardana (Wang et al., 2019; Zhang et al., 2020), além da sua atividade antioxidante e propriedades prebióticas (Li et al., 2008, 2021; Tian et al., 2019).

Os frutanos são definidos como misturas heterogêneas, de frutose e glicose, com diferentes graus de polimerização e diversas estruturas químicas. Esses carboidratos são divididos em grupos com base em suas ligações, ou seja, inulina, levanos, frutanos ramificados (graminanos), neosérie da inulina e neosérie de levanos (Cotrim Ribeiro et al., 2022; Verma et al., 2021). Os carboidratos não digeríveis são considerados prebióticos sendo os frutanos, juntamente com os galactanos, os únicos que possuem efeitos comprovados em estudos em humanos (Pohlentz et al., 2022; Scott et al., 2020).

O frutano tipo inulina vêm sendo cada vez mais utilizado na tecnologia de alimentos (Barros e Franco, 2022; Konar et al., 2018; Ngamlerst et al., 2023; Sirbu e Arghire, 2017). Com a tendência da busca por alimentos naturais e funcionais, que oferecem benefícios ao hospedeiro, visando um envelhecimento saudável, e consequente aumento do número de consumidores conscientes nos últimos anos, tem-se enfatizado compostos naturais que ofereçam benefício à saúde humana (Akal, 2022).

Compostos como os frutanos, podem ser considerados um aditivo multi-funcional, sendo o conhecimento de novas fontes, bem como os melhores métodos para sua obtenção, fundamentais para ampliar a gama de produtos alimentícios nos quais podem ser aplicados (Romano et al., 2018).

Objetivos

O objetivo desse estudo foi apontar alguns métodos de extração, a composição de monossacarídeo, as características estruturais e atividades biológicas de ALPS, para que essas informações de forma condensada facilitem a definição de estudos futuros. E também caracterizar e avaliar como diversos métodos de extração – infusão convencional em temperatura ambiente, quente e ultrassom – afetam a estrutura e as propriedades reológicas, com foco na identificação das características funcionais com maior potencial para processamento industrial e tecnológico.

Material e métodos

Foi realizada uma revisão integrativa, sendo analisados trabalhos que abordavam os métodos de extração, a composição de monossacarídeos, as características estruturais e atividade biológica dos ALPS, os estudos foram escolhidos por meio da análise dos títulos, revisões e respectivos resumos. Foram descartadas as publicações repetidas e artigos não relevantes.

Para a avaliação e caracterização dos diferentes métodos de extração a bardana fresca foi obtida em feira local na cidade de Maringá- Paraná, a bardana foi higienizada, utilizando água corrente e então descascada manualmente.

O frutano da bardana foi extraído conforme descrito por Zhang et al. (2016), com pequenas modificações. Bardana fresca foi homogeneizada em liquidificador industrial, com água destilada na proporção 1:15 (p/v), por 5 min a temperatura ambiente (25 °C).

A mistura foi filtrada com tela de poliéster e o extrato foi coletado. Para a precipitação do frutano foram adicionados 3 volumes de etanol P.A. ao extrato, sendo essa solução mantida em refrigeração a 6 °C por 24 h. Após o repouso, o conteúdo passou por uma centrifugação a 3000×g por 20 minutos e a fração precipitada foi coletada.

Para a extração a quente, a bardana fresca foi fatiada, e a extração a quente realizada sob refluxo com água destilada 1:15 (p/v) a 100 °C/ 2 h, esse procedimento foi repetido três vezes. O extrato aquoso foi evaporado em um rotaevaporador (Fisatom, modelo 801, São Paulo, SP, Brasil) e os frutanos foram precipitados com 3 volumes de etanol P.A., e mantidos em refrigeração (6 °C) por 24 h. A fração precipitada foi obtida por centrifugação a 3000×g por 20 minutos (Caleffi et al., 2015).

Para extração assistida por ultrassom a bardana fresca foi fatiada e submetida a extração por ultrassom Ultronique (modelo QR500), na frequência fixa de 20 kHz, equipado com uma sonda de titânio de 13 mm de diâmetro e uma célula envidraçada com volume de 250 mL conectada a um banho termostático (Quimis, modelo Q214M2). Sendo a água utilizada como solvente (1:15 p/v), uma potência ultrassônica de 158 W, tempo de extração de 83 minutos e temperatura de 50 °C (Jiang et al., 2019). Ao extrato obtido foram adicionados 3 volumes de etanol P.A para precipitação dos frutanos, sendo essa solução mantida por 24 h sob refrigeração (6 °C). As frações sobrenadante e precipitado foram obtidas por centrifugação a 3000×g por 20 min.

As frações precipitadas obtidas pelos três diferentes métodos foram liofilizadas obtendo assim as frações EPRT, EPH e EPU, respectivamente e posteriormente foram pesadas para obtenção do rendimento.

As análises colorimétricas em espectrofotômetro Varian® Cary 1E (Palo Alto, CA, EUA), foram utilizadas para determinar o teor de carboidratos nas frações em triplicata. A análise de Ressonância magnética nuclear (RMN) foi realizada através do espectrômetro Bruker Avance III HD (Billerica, MA, EUA), operou a 500,13 MHz para o núcleo de hidrogênio e 125,77 MHz para o núcleo de carbono obtendo os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C.

Para a espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), os precipitados liofilizados das raízes de bardana foram analisados por um espectrômetro Bruker Vertex 70v FTIR (Bruker Optik GmbH, Ettlingen, DEU). Cada medida foi uma média de 128 espectros de 4000 a 400 cm⁻¹ na proporção de 0,02 g de amostra pra 0,2 g de KBr (10%). Na análise de difração de raios-X (DRX) a estrutura amorfa ou cristalina das frações liofilizadas obtidas da extração das raízes de bardana foi analisada utilizando um difratômetro de raio-X (Shimadzu, Modelo 7000) que operou com tensão de 40 kV e corrente de 30 mA Foi realizada a análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando um microscópio eletrônico de varredura (Super Scan SS-550 Shimadzu), utilizando resoluções micrométricas de 20 µm e tensão de aceleração de 15 kV. A reometria oscilatória das frações precipitadas não liofilizadas a 8, 16 e 32 °C foi obtida em um reômetro com tensão controlada (MARS II, Hacke Thermo Fisher Scientific Inc., Newington, Alemanha) e geometria de placa - placa de aço paralela (60 mm, separados por uma distância 0,052 mm). Usando RheoWin 4.10.0000 (Haake®), os parâmetros reológicos dinâmicos, módulo de armazenamento (G''), módulo de perda (G'), viscosidade dinâmica (η') e tangente de perda (tan δ) foram calculados (De Souza Ferreira et al., 2017). Os dados foram submetidos à análise descritiva, análise de variância e teste Tukey, a 5% de significância, onde os diferentes tratamentos foram considerados efeitos fixos, com auxílio do software R versão 1.2.5019 (R Core Team, 2016).

Resultados e discussão

Diversos estudos apontaram os diferentes rendimentos e composições de polissacarídeos extraídos de *Arctium lappa* L., bem como sua importância e foco na funcionalidade, devido a presença de antioxidantes, capacidade prebiótica e também a capacidade espessante. A revisão dos diferentes tipos de extração que podem ser adotados, bem como a apresentação das propriedades estruturais dos ALPS e da atividade biológica pode ser vantajoso para pesquisas futuras de modo a facilitar a escolha do método a ser adotado no processo de extração.

Com relação as técnicas de extração dos frutanos da bardana, os diferentes métodos mostraram efeitos significativos sobre o rendimento da fração precipitado. O rendimento do precipitado obtido pela extração a quente foi significativamente maior que da extração a temperatura ambiente e por ultrassom ($P < 0.05$). O aumento da temperatura de extração tem uma influência positiva no rendimento dos polissacarídeos, uma vez que aumenta a sua capacidade de solubilidade (Masmoudi et al., 2008; Miao et al., 2011). O espectro RMN de ^1H do frutano de bardana apresentou picos característicos entre δ_{H} 3.67 e 5.45 que são atribuídos a inulina, sendo identificados os sinais de um próton de glicose e dos prótons de frutose (T. Barclay et al., 2012), o que é corroborado ao realizar a comparação com o δ_{H} 3.68 a 5.45 observados para inulina padrão (INU). O espectro RMN ^{13}C (Fig. 2) dos precipitados também foi consistente ao espectro da inulina padrão, não apresentando grandes variações nos desvios. As correlações de EPRT, EPH, EPU foram altamente similares com as observadas para INU. Esses resultados indicam o prevaletimento do composto nos precipitados, sendo consistente com os resultados estimados de teor de inulina superior a açúcares redutores para os mesmos. O valor de DP inferior do precipitado do extrato obtido por ultrassom pode ser relacionado a força de cavitação que degrada parcialmente a cadeia de inulina (Lingyun et al., 2007).

Na análise de FTIR apresentaram-se bandas de absorção em diferentes áreas, sendo característicos de frutanos. A região rica em bandas (900 a 1450 cm^{-1}) é atribuída essencialmente à ligação glicosídica C-O-C, chamada zona de impressão digital, onde é encontrada a banda característica de inulina 937/ cm^{-1} atribuída ao resíduo $\alpha\text{-D-Glcp}$ na cadeia de carboidrato. Em DRX os picos principais apresentados em 2θ foram: 11.63°, 15.85°, 18.42° e 21.35°, sendo consistentes com outros estudos. Os picos de EPH foram mais intensos e estreitos que os demais precipitados indicando que a obtenção da fração através do extrato a quente com o uso de refluxo pode fornecer uma maior perfeição da rede cristalina (Cao & Tan, 2005).

As microestruturas observadas para as frações EPRT, EPH e EPU foram similares, com uma superfície levemente rugosa, sendo que EPH apresentou uma forma mais esferoide. Na reologia os precipitados apresentaram características viscoelásticas. Foram observados impactos na viscosidade aparente e nos módulos G' e G'' dos precipitados EPU, que podem ser relacionados com a quebra da cadeia de inulina, com conseqüente baixo grau de polimerização e peso molecular dessa fração.

Conclusão

Os resultados mostraram que os diferentes métodos observados na revisão podem auxiliar na escolha no momento de obtenção de polissacarídeos. Com relação aos métodos testados a extração a quente pode ser mais eficaz e ao mesmo tempo menos destrutiva para obtenção de frutano tipo inulina da raiz de bardana. Esses resultados dão suporte para uma seleção de método, visando um composto que possui maior potencial para aprimoramento das características de textura de produtos alimentícios.

Palavras-chave: Bardana; inulina; reologia; RMN; FTIR; DRX.

GENERAL ABSTRACT

Introduction

Arctium lappa L. is an edible plant with medicinal properties, which belongs to the Asteraceae family, and is commonly known as burdock (Yosri et al., 2023), cultivated in several countries. In its composition, polysaccharides stand out as the main components, associated with beneficial health effects (Chang et al., 2009; Zhang et al., 2019). The literature presents data on the evaluation of the anti-inflammatory capacity of burdock fructans (Wang et al., 2019; Zhang et al., 2020), in addition to their antioxidant activity and prebiotic properties (Li et al., 2008, 2021; Tian et al., 2019).

Fructans are defined as heterogeneous mixtures of fructose and glucose, with different degrees of polymerization and different chemical structures. These carbohydrates are divided into groups based on their linkages, i.e., inulin, levans, branched fructans (graminans), inulin neoseries, and levan neoseries (Cotrim Ribeiro et al., 2022; Verma et al., 2021). Non-digestible carbohydrates are considered prebiotics, with fructans, together with galactans, being the only ones that have proven effects in human studies (Pohlentz et al., 2022; Scott et al., 2020).

Inulin-type fructan has been increasingly used in food technology (Barros and Franco, 2022; Konar et al., 2018; Ngamlerst et al., 2023; Sirbu and Arghire, 2017). With the tendency to search for natural and functional foods that offer benefits to the host, aiming for healthy aging, and the consequent increase in the number of conscious consumers in recent years, natural compounds that offer benefits to human health have been emphasized (Akal, 2022).

Compounds such as fructans can be considered a multi-functional additive, with knowledge of new sources, as well as the best methods for obtaining them, being fundamental to expanding the range of food products in which they can be applied (Romano et al., 2018).

Aims

The objective of this study was to point out some extraction methods, the monosaccharide composition, the structural characteristics and biological activities of ALPS, so that this information in a condensed form facilitates the definition of future studies. And also characterize and evaluate how different extraction methods – conventional infusion at room temperature, hot and ultrasound – affect the structure and rheological properties, with a focus on identifying the functional characteristics with the greatest potential for industrial and technological processing.

Material and methods

An integrative review was carried out, analyzing works that addressed extraction methods, monosaccharide composition, structural characteristics and biological activity of ALPS. The studies were chosen through analysis of titles, reviews and respective abstracts. Repeated publications and non-relevant articles were discarded.

For the evaluation and characterization of the different extraction methods, fresh burdock was obtained from a local fair in the city of Maringá- Paraná, the burdock was sanitized using running water and then peeled manually.

Burdock fructan was extracted as described by Zhang et al. (2016), with minor modifications. Fresh burdock was homogenized in an industrial blender, with distilled water in a ratio of 1:15 (w/v), for 5 min at room temperature (25 °C). The mixture was filtered through a polyester screen and the extract was collected. For fructan precipitation, 3 volumes of P.A. ethanol were added to the extract, and this solution was

kept in refrigeration at 6 °C for 24 h. After resting, the content was centrifuged at 3000×g for 20 minutes and the precipitate fraction was collected.

For hot extraction, fresh burdock was sliced, and hot extraction was carried out under reflux with distilled water 1:15 (w/v) at 100 °C/2 h, this procedure was repeated three times. The aqueous extract was evaporated in a rotary evaporator (Fisatom, model 801, São Paulo, SP, Brazil) and the fructans were precipitated with 3 volumes of ethanol P.A., and kept in refrigeration (6 °C) for 24 h. The precipitated fraction was obtained by centrifugation at 3000×g for 20 minutes (Caleffi et al., 2015).

For ultrasound-assisted extraction, fresh burdock was sliced and subjected to Ultrasonic ultrasound extraction (model QR500), at a fixed frequency of 20 kHz, equipped with a 13 mm diameter titanium probe and a glass cell with a volume of 250 mL connected to a thermostatic bath (Quimis, model Q214M2). With water used as solvent (1:15 w/v), an ultrasonic power of 158 W, extraction time of 83 minutes and temperature of 50 °C (Jiang et al., 2019). To the extract obtained, 3 volumes of P.A ethanol were added to precipitate the fructans, and this solution was kept for 24 h under refrigeration (6 °C). The supernatant and precipitate fractions were obtained by centrifugation at 3000×g for 20 min.

The precipitated fractions obtained by the three different methods were lyophilized, thus obtaining the EPRT, EPH and EPU fractions, respectively, and were subsequently weighed to obtain the yield.

Colorimetric analyzes on a Varian® Cary 1E spectrophotometer (Palo Alto, CA, USA) were used to determine the carbohydrate content in triplicate fractions. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) analysis was performed using the Bruker Avance III HD spectrometer (Billerica, MA, USA), operated at 500.13 MHz for the hydrogen nucleus and 125.77 MHz for the carbon nucleus obtaining the spectra ¹H and ¹³C NMR.

For Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, freeze-dried precipitates from burdock roots were analyzed by a Bruker Vertex 70v FTIR spectrometer (Bruker Optik GmbH, Ettlingen, DEU). Each measurement was an average of 128 spectra from 4000 to 400 cm⁻¹ in a proportion of 0.02 g of sample to 0.2 g of KBr (10%). In the X-ray diffraction (XRD) analysis, the amorphous or crystalline structure of the freeze-dried fractions obtained from the extraction of burdock roots was analyzed using an X-ray diffractometer (Shimadzu, Model 7000) that operated with a voltage of 40 kV and current of 30 mA Scanning electron microscopy (SEM) analysis was performed using a scanning electron microscope (Super Scan SS-550 Shimadzu), using micrometric resolutions of 20 μm and an acceleration voltage of 15 kV. Oscillatory rheometry of non-lyophilized precipitated fractions at 8, 16 and 32 °C was obtained in a voltage-controlled rheometer (MARS II, Hacke Thermo Fisher Scientific Inc., Newington, Germany) and plate geometry - parallel steel plate (60 mm, separated by a distance of 0.052 mm). Using RheoWin 4.10.0000 (Haake®), the dynamic rheological parameters, storage modulus (G''), loss modulus (G'), dynamic viscosity (η') and loss tangent (tan δ) were calculated (De Souza Ferreira et al., 2017). The data were subjected to descriptive analysis, analysis of variance and Tukey test, at 5% significance, where the different treatments were considered fixed effects, with the aid of the software R version 1.2.5019 (R Core Team, 2016).

Results and discussion

Several studies have highlighted the different yields and compositions of polysaccharides extracted from *Arctium lappa* L., as well as their importance and focus on functionality, due to the presence of antioxidants, prebiotic capacity and also thickening capacity. The review of the different types of extraction that can be adopted,

as well as the presentation of the structural properties of ALPS and biological activity can be advantageous for future research in order to facilitate the choice of the method to be adopted in the extraction process.

Regarding the techniques for extracting fructans from burdock, the different methods showed significant effects on the yield of the precipitate fraction. The yield of precipitate obtained by hot extraction was significantly higher than that from extraction at room temperature and by ultrasound ($P < 0.05$). Increasing the extraction temperature has a positive influence on the yield of polysaccharides, as it increases their solubility capacity (Masmoudi et al., 2008; Miao et al., 2011). The ^1H NMR spectrum of burdock fructan showed characteristic peaks between δH 3.67 and 5.45 that are attributed to inulin, with the signals of a glucose proton and fructose protons being identified (T. Barclay et al., 2012), which is corroborated when comparing with the δH 3.68 to 5.45 observed for standard inulin (INU). The ^{13}C NMR spectrum (Fig. 2) of the precipitates was also consistent with the spectrum of standard inulin, without showing large variations in deviations. The correlations of EPRT, EPH, EPU were highly similar to those observed for INU. These results indicate the prevalence of the compound in the precipitates, being consistent with the estimated results of higher inulin content than reducing sugars for them. The lower DP value of the extract precipitate obtained by ultrasound may be related to the cavitation force that partially degrades the inulin chain (Lingyun et al., 2007).

In the FTIR analysis, absorption bands were presented in different areas, being characteristic of fructans. The band-rich region (900 to 1450 cm^{-1}) is essentially attributed to the C-O-C glycosidic bond, called the fingerprint zone, where the characteristic band of inulin 937/ cm^{-1} is found, attributed to the α -D-Glcp residue in the chain. of carbohydrate. In XRD, the main peaks presented in 2θ were: 11.63° , 15.85° , 18.42° and 21.35° , being consistent with other studies. The EPH peaks were more intense and narrower than the other precipitates, indicating that obtaining the fraction through hot extract using reflux can provide greater perfection of the crystalline network (Cao & Tan, 2005).

The microstructures observed for the EPRT, EPH and EPU fractions were similar, with a slightly rough surface, with EPH presenting a more spheroidal shape. In rheology, the precipitates showed viscoelastic characteristics. Impacts were observed on the apparent viscosity and modulus G' and G'' of the EPU precipitates, which can be related to the breakage of the inulin chain, with a consequent low degree of polymerization and molecular weight of this fraction.

Conclusion

The results showed that the different methods observed in the review can help in choosing when obtaining polysaccharides. Regarding the methods tested, hot extraction may be more effective and at the same time less destructive for obtaining inulin-type fructan from burdock root. These results support method selection, targeting a compound that has the greatest potential for improving the textural characteristics of food products.

Keywords: Burdock; inulin; rheology; NMR; FTIR; DRX.

Métodos de extração, composição e atividade biológica dos polissacarídeos de *Arctium lappa* L. – Short review

Annecler Rech de Marins^a, Talita Aparecida Ferreira de Campos^a, Raquel Guttierrez Gomes^b, Andresa Carla Feihmann^a, Ivanor Nunes do Prado^a

^aPostgraduate Program in Food Science - State University of Maringa - CEP: 87020-900 - Maringá - PR - Brazil.

^bPosgraduate Program in Food Engineering - State University of Maringa - CEP:87020-900 - Maringa - PR - Brazil.

Resumo

Desde o final do século XX a população exibe preocupações relacionadas com a saúde, surgindo então uma tendência pela busca de alimentos mais saudáveis com foco nos alimentos funcionais. Pesquisas tem destacado ingredientes que quando incorporados ao alimento o tornam funcional, aliado aos benefícios dessa aplicação nas características do produto final. Os polissacarídeos são exemplos de ingredientes funcionais e que podem colaborar com a textura dos produtos alimentícios, uma vez que demonstram bons efeitos emulsificantes e espessantes. Os polissacarídeos da bardana (ALPS), uma planta perene que possui um alto valor medicinal, foram avaliados em alguns estudos quanto ao seu potencial como ingrediente benéfico para a saúde, porém poucos estudos avaliam sua funcionalidade para futuras aplicações como espessante. Assim essa revisão teve como objetivo apresentar os diferentes métodos de extração, a composição dos monossacarídeos, as características estruturais e atividades biológicas de ALPS com o intuito de fornecer informações de forma condensada para definição de estudos futuros.

Palavras-chave: *Arctium lappa* L.; Polissacarídeos; Característica estrutural; Atividade biológica.

Abstract

Since the end of the 20th century, the population exhibits health-related concerns, resulting in a trend towards the search for healthier foods with a focus on functional foods. Research has highlighted ingredients that when incorporated into the food make it functional, together with the benefits of this application in the characteristics of the final product. Polysaccharides are examples of functional ingredients that can collaborate with the texture of food products, as they demonstrate good emulsifying and thickening effects. Burdock polysaccharides (ALPS), a perennial plant that has a high medicinal value, have been evaluated in some studies for their potential as a beneficial ingredient for health, but few studies have evaluated their functionality for future applications as a thickener. Thus, this review aimed to present the different extraction methods, the composition of monosaccharides, the structural characteristics and biological activities of ALPS in order to provide information in a condensed way for future studies.

Keywords: *Arctium lappa* L.; Polysaccharides; Structural feature; Biological activity.

1. Introdução

Desde o início da civilização humana, as plantas têm sido utilizadas para fins terapêuticos. No final do século XX com o enriquecimento da maioria da população dos países desenvolvidos, juntamente com preocupações relacionadas à saúde surgiu a busca por alimentos denominados de alimentos funcionais ou nutracêuticos, visando um envelhecimento saudável (Chan et al., 2011; Souza et al., 2021). Como consequência se torna interessante pesquisa sobre ingredientes que quando incorporados ao alimento o tornam funcional, aliado aos benefícios dessa aplicação nas características do produto final. Nesse sentido, destacam-se os polissacarídeos de origem vegetal, que são biopolímeros naturais, apresentam atividades biológicas e estão amplamente distribuídos nas células das plantas, e que também demonstram bons efeitos emulsificantes e espessantes. Podem ser aplicados como estabilizantes em produtos emulsionados, o que os torna um atrativo para a indústria de alimentos por serem um recurso natural (Chen et al., 2021; Shao et al., 2020).

Arctium lappa L., comumente conhecida como bardana, é uma planta perene que pertence à família Asteraceae e se encontra cultivada em diversos países. Possui composição rica em nutrientes, porém o que chama mais a atenção é o valor medicinal com destaque a tratamento de infecções, problemas de pele e dores de garganta, onde utilizam a raiz seca ou seus extratos (Chan et al., 2011; Zhang et al., 2019). Além dos polifenóis, do ácido clorogênico, proteínas, vitaminas, aminoácidos, minerais e ácidos graxos insaturados que compõe a bardana os polissacarídeos se destacam como maiores componentes, sendo relacionados com os efeitos benéficos à saúde (Chang et al., 2009; Zhang et al., 2019).

Estudos avaliaram a capacidade anti-inflamatória dos polissacarídeos da *Arctium lappa* L. (ALPS) (Zhang et al., 2019; Zhang et al., 2020), além da atividade antioxidante e manutenção da microbiota intestinal (Jiang et al., 2019; Wang et al.,

2019; Zhang et al., 2019). Li et al. (2019) ao realizar extração de um heteropolissacarídeo da raiz da bardana observou que esse componente apresentou propriedades elásticas, sendo considerado um fluido pseudoplástico, além disso foi observada uma forte atividade anti-constipação in vivo.

Em resumo, perante as pesquisas que demonstram as atividades benéficas dos ALPS, assim como poucos estudos que avaliam sua capacidade de aplicação, se torna importante uma referência científica para a extração e utilização de ALPS. Assim, o objetivo dessa revisão foi apontar alguns métodos de extração, a composição monossacarídeo, as características estruturais e atividades biológicas de ALPS, para que essas informações de forma condensada facilitem a definição de estudos futuros. Para a realização dessa revisão uma pesquisa bibliográfica abrangente foi realizada utilizando as palavras-chave “*Arctium lappa* L.” e “polissacarídeo”, sendo utilizados artigos das principais bases de dados científicas.

2. Metodologia

O presente estudo trata-se de uma revisão integrativa (Souza et al., 2017) das bases de dados Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), Direct-Elsevier, SciVerse Scopus e PubMed sobre os polissacarídeos da *Arctium lappa* L. Foram analisados trabalhos que abordavam os métodos de extração, a composição de monossacarídeos, as características estruturais e atividade biológica dos ALPS, sendo que os estudos foram escolhidos por meio da análise dos títulos, revisões e respectivos resumos. Foram descartadas as publicações repetidas e artigos não relevantes. Os descritores utilizados foram: *Arctium lappa* L. e polissacarídeos, empregando estes termos em inglês.

Quadro 1. Artigos relacionados aos polissacarídeos da Bardana nas bases de dados utilizadas nesse estudo.

Palavra-chave	Capes	Direct-	SciVerse	PubMed	Total
----------------------	--------------	----------------	-----------------	---------------	--------------

	Elsevier		Scopus		
<i>Arctium lappa</i> L.	10	8	21	27	66
polissacarídeos					

Fonte: Autores.

3. Extração de polissacarídeos da bardana

Os polissacarídeos são macromoléculas compostas por um grande número de resíduos de monossacarídeos e são ligados uns aos outros por ligações glicosídicas (Delattre et al., 2011). A literatura aponta que foram estudados os parâmetros para extrações dos polissacarídeos brutos ou isolados da bardana, avaliando a melhor proporção solvente:amostra e o binômio tempo e temperatura ideal. Para tanto foram utilizados diferentes métodos de extração como o convencional, uso de refluxo, ultrassom, micro-ondas e uso de enzimas. Além dos fatores já apontados utilizados para a extração, também foram levados em consideração na escolha das melhores condições e metodologias, a degradação dos polissacarídeos que consiste na perda de peso molecular, perda de atividade biológica, entre outros. Dentre os vários métodos utilizados para realizar a extração de ALPS de *Arctium lappa* L. (Tabela 1), o mais comum é a extração convencional que utiliza a água quente como solvente.

3.1. Extração convencional e com refluxo

A extração convencional é uma das mais utilizadas, sendo aplicada até os dias atuais (Li et al., 2021; Shanshan et al., 2021); porém, apesar de ser considerada fácil é ineficiente quando comparada com outros métodos (Shen et al., 2021). Nesse tipo de extração o solvente mais utilizado é a água, e a proporção entre amostra e solvente varia desde diluições baixas até bem altas como na ordem de 1:40. Outra grande variação nesse tipo de extração é o tempo aplicado (Tabela 1). Milani et al. (2011) ao extraírem

inulina das raízes de bardana realizaram uma comparação do método convencional com a extração por ultrassom e observaram que o rendimento foi 49,38% melhor quando utilizado ao ultrassom.

Tabela 1. Métodos de extração de polissacarídeos brutos ou isolados da *Arctium lappa* L.

Fresca/ Seca	Método de extração	Proporção amostra: solvente (p:v)	Temperatura (°C)	Tempo	Número extrações	Processo de separação	Rendimento	Referências
Seca	Refluxo	1:20	100	1h	3	Acetona	12,4%	Olennikov & Tankhaev (2011)
Seca	Convencional	1:5	80	2h	3	Etanol	n.i.	Fu (2009)
Fresca	Micro-ondas/ Ultrassom	1:15	n.i	60s	1	Filtração	9,9%	Lou et al. (2009)
Fresca	70% etanol Refluxo	1:20	25	72h	1	Filtração	8,21%	Lee et al. (2010)
			85	3h			9,87%	
Seca	Convencional Ultrassom	1:15	68,5	40min	1	Centrifugação	12,3%	Milani et al. (2011)
			36,7	25min			24,3%	
Seca	Ultrassom	1:30	80	30min	3	Etanol	8,6%	D'yakova et al. (2015)
Seca	Convencional	n.i.*	80	2h	1	Resinas macroporosas	4,4%	Wang et al. (2019)
Fresca	Enzimático		50	8h	1	Filtração	3,7%	Tian et al. (2019)
Seca	Ultrassom	1:31	50	83min	1	Etanol	8,2%	Jiang et al. (2019)
Seca	Convencional	1:40	85	n.i.	2	Etanol	1,75%	Li et al. (2019)
Seca	Convencional	1:10	n.i.	1,5h	2	Etanol	4,6%	Li et al. (2021)
Seca	Convencional	1:20	100	5h	1	Etanol	n.i.	Shanshan et

								al. (2021)	
Seca	Ultrassom	1:35	55,4	36,6min	1	Centrifugação	12,46%	Esmaeili et al. (2021)	

*n.i.: não informado.

Fonte: Autores.

A metodologia com refluxo ocorre da mesma forma que a convencional, com a diferença que evita que o extrato seja perdido durante o aquecimento. Lee et al. (2010) obtiveram um rendimento maior ao usar o refluxo ao invés de extração com etanol 70%, além do que o tempo com o refluxo (3h), é bem menor quando comparado a extração com solvente (72h).

3.2. Extração ultrassônica e por micro-ondas

O ultrassom usa a cavitação para realizar a intensa mistura física e não gera energia térmica, enquanto os micro-ondas fornecem aquecimento rápido; porém, não distribui o calor de forma homogênea. Assim, a combinação dessas duas técnicas leva à uma complementação, fazendo com que suas limitações sejam supridas, acelerando o processo de extração (Lianfu & Zelong, 2008; Martinez-Guerra & Gude, 2014).

Lou et al. (2009) ao combinarem as técnicas de ultrassom e micro-ondas para obtenção de inulina, o rendimento foi de 9,9% do polissacarídeo em 60 segundos de extração. Já Jiang et al. (2019) ao adotarem a técnica de ultrassom obtiveram frações polissacarídicas compostas de manose, glicose, frutose e galactose com um rendimento de 8,2%, em um tempo de 82 vezes maior de extração. Esmaeili et al. (2021) realizaram a recuperação de 12,46% de inulina do extrato da raiz de *Arctium lappa* L., no entanto foi necessário um tempo de 36,6 minutos para a extração utilizando somente o ultrassom.

3.3. Extração enzimática

O uso de enzimas possui algumas vantagens tais como: não necessita do uso de solventes e altas temperaturas, sendo o rendimento alto e o processo muito eficiente,

além de alta especificidade e preservação das atividades biológicas (Fournière et al., 2021; Li et al., 2022). Tian et al. (2019) afirmaram que um processo enzimático altamente eficiente pode ser dividido nas seguintes etapas: a) inativação da enzima endógena; b) pré-tratamento com tanase; c) tratamentos simultâneos com endo-inulinase e outras três glicosidases. Nesse estudo utilizando enzimas para o processo de extração o rendimento foi de 3,7% de frutanos.

4. Composição de monossacarídeos

A determinação da composição dos polissacarídeos pode ser realizada pela sua hidrólise em monossacarídeos e posterior detecção desses monossacarídeos e os derivados que foram liberados, (D. Liu et al., 2021). Nos estudos dos ALPS as técnicas mais utilizadas para essa determinação são a cromatografia gasosa e a cromatografia líquida de alta eficiência. Os estudos que realizam a extração de polissacarídeos brutos ou porções de polissacarídeos da bardana encontram na composição dos ALPS, em sua maioria, frutose, glicose, galactose, manose, arabinose e ramnose (Jiang et al., 2019; Li et al., 2021; Wang et al., 2019).

Zhang et al. (2020) ao extraírem e purificarem um ALPS solúvel em álcali observaram que esse heteropolissacarídeo era composto por ramnose, arabinose, xilose, glicose e galactose em uma razão molar de 1,2: 4,4: 0,9: 0,9: 2,6, sendo a arabinose o monossacarídeo principal. Carlotto et al. (2016) ao avaliarem a estrutura química e atividade biológica de ALPS obtiveram como composição principalmente arabinose (7,5%) e galactose (12,8%) como monossacarídeos neutros, além de ácidos urônicos (21,0%). Já o frutano de bardana isolado e purificado por Fu (2009) apresentou em sua composição frutose e glicose na razão molar de 14:1.

5. Características estruturais

O peso molecular influencia na viscosidade do componente, pois a viscosidade de

uma solução com estrutura altamente ramificada é geralmente menor do que moléculas lineares com o mesmo peso molecular, assim quanto maior o peso molecular melhor as propriedades reológicas (Chen et al., 2021; Ma et al., 2018).

Jiang et al. (2019) encontraram diferentes peso moleculares para diferentes frações de polissacarídeos (60.000 Da, 178.000 Da e 218.000 Da) no processo de extração com ultrassom. Uma possível explicação para isso é que os polissacarídeos são geralmente extraídos com água quente devido a solubilidade em água e precipitados com etanol pela insolubilidade com esse solvente, portanto, frações com diferentes tamanhos moleculares médios podem ser obtidas se utilizadas diferentes concentrações de etanol na precipitação. Outros estudos também apresentam pesos moleculares variados de ALPS, desde 4072 Da, 5120 Da, até valores mais altos e próximos aos encontrados por Jiang et al. (2019), como 120.000 Da (Li et al., 2019; Wang et al., 2019; Zhang et al., 2020).

O processo de extração também influencia na estrutura dos ALPS. Lou et al. (2009) observaram que houve mais destruição na microestrutura da raiz da bardana ao usar o processo ultrassom/micro-ondas, uma vez que nessa extração se aplica a cavitação por agitação intensa do ultrassom juntamente com o aquecimento e expansão do micro-ondas. Assim ocorre a ruptura das paredes celulares e a migração de compostos para fora das células, causando mais danos à parede celular em comparação com a extração convencional.

Características reológicas encontradas por Li et al. (2019) ao extrair pectina da raiz de *Arctium lappa* L. (ALP-2) utilizando a extração convencional, demonstraram que com o aumento da concentração de ALP-2 a viscosidade sofre um aumento. Outro destaque foi que apresentou menor viscosidade em altas temperaturas e em valores baixos de pH (2). Em altas frequências apresentou comportamento elástico e em baixas

frequências comportamento viscoso. Esse tipo de produto pode ser utilizado pela indústria de alimentos com o apelo funcional, e também devido a característica espessante atuar na viscosidade de alimentos.

6. Atividades biológicas

A atividade antitússica, que se refere a alguns tipos de fármacos utilizados no reflexo da tosse, foi observada em inulina e polissacarídeos brutos de *Arctium lappa* L. (Tabela 2). Esse tipo de inulina mostrou-se ser igualmente ativa para o tratamento de tosse, como algumas preparações sintéticas não narcóticas usadas na prática clínica (Kardošová et al., 2003; Sutovska et al., 2007). A atividade prebiótica in-vivo da inulina de bardana também foi avaliada, sendo observada que as propriedades prebióticas da mesma podem promover a saúde, uma vez que a modulação da flora intestinal por oligossacarídeos prebióticos aumentam os níveis de probióticos, que são bactérias intestinais benéficas (Li et al., 2008).

A aterosclerose é uma condição geralmente observada em pacientes diabéticos, que pode levar a complicações com risco de vida, assim Chen et al. (2020) e Li et al. (2019) avaliaram os efeitos regulatórios de polissacarídeos extraídos de *Arctium lappa* L. sobre o metabolismo lipídico em ratos com diabetes tipo 1 e tipo 2. Os ALPS foram capazes de regular eficazmente o metabolismo lipídico reduzindo o risco da ocorrência desse distúrbio.

Tabela 2. Atividades biológicas de diferentes tipos de polissacarídeos da *Arctium lappa* L.

Porção	Tipo extração	Tipo ALPS	Atividade	Referências
Raízes	Convencional	Inulina	Antitússica e Imunológica	Kardošová et al. (2003)
n.i.	n.i.*	Polissacarídeos	Antitússica	Sutovska et al. (2007)
Raízes	Convencional	Inulina	Prebiótica	Li et al. (2008)

Folhas	Convencional	Frações Polissacarídeos	Anti-edematogênica	Carlotto et al., (2016)
Raízes	Ultrassom	Frações Polissacarídeos	Antioxidante	Jiang et al. (2019)
n.i.	Convencional	Fração Polissacarídeos	Anti-inflamatória	Wang et al. (2019)
Raízes	Convencional	Pectina	Anti-constipação	Li et al. (2019)
Raízes	Convencional	Polissacarídeos	Antioxidante e regulação do metabolismo lipídico	Li et al. (2019)
Raízes	Convencional	Polissacarídeos	Regulação lipídico	metabolismo Chen et al. (2020)
Raízes	Convencional	Polissacarídeos	Anti-inflamatória	Zhang et al. (2020)
Raízes	Convencional	Frações Polissacarídeos	Antioxidante	Li et al. (2021)
Raízes	Convencional	Polissacarídeos	Imunológica	Liu et al. (2021)

* n.i.: não informado.

Fonte: Autores.

Li et al. (2021) avaliaram a capacidade antioxidante de frações do polissacarídeo bruto da bardana (ALP-1, ALP-2, ALP-3, ALP-4), e encontraram informações que destacaram seu potencial para atuarem como antioxidantes em alimentos, como a alta capacidade antioxidante no modelo de célula HepG2 induzida por H₂O₂ e no modelo de peixe-zebra induzido por MET, além dos efeitos de alívio superiores no dano oxidativo que ocorreram em ALP-4 in vitro e ALP-1 in vivo.

7. Conclusão

Diversos estudos apontam a importância dos componentes presentes na *Arctium lappa* L. como foco na funcionalidade, devido a presença de antioxidantes, capacidade prebiótica e também a capacidade espessante. Concluímos então que uma revisão dos diferentes tipos de extração que podem ser adotados, bem como a apresentação das propriedades estruturais dos ALPS e da atividade biológica pode ser vantajoso para

pesquisas futuras de modo a facilitar a escolha do método a ser adotado no processo de extração. Sugere-se que futuros estudos analisem essas funcionalidades dos polissacarídeos da bardana em conjunto, afim de identificar as melhores opções de aplicação, aumentando o uso dessa raiz e o uso de ingredientes naturais.

Referências

- Carlotto, J., Souza, L. M., Baggio, C. H., Werner, M. F. de P., Maria-Ferreira, D., Sasaki, G. L., Iacomini, M., & Cipriani, T. R. (2016). Polysaccharides from *Arctium lappa* L.: Chemical structure and biological activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, *91*, 954–960. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.033>.
- Chan, Y.-S., Cheng, L.-N., Wu, J.-H., Chan, E., Kwan, Y.-W., Lee, S. M.-Y., Leung, G. P.-H., Yu, P. H.-F., & Chan, S.-W. (2011). A review of the pharmacological effects of *Arctium lappa* (burdock). *Inflammopharmacology*, *19*(5), 245–254. <https://doi.org/10.1007/s10787-010-0062-4>.
- Chang, H.-J., Huang, W.-T., Tsao, D.-A., Huang, K.-M., Lee, S.-C., Lin, S.-R., Yang, S.-C., & Yeh, C.-S. (2009). Identification and authentication of burdock (*Arctium lappa* Linn) using PCR sequencing. *Fooyin Journal of Health Sciences*, *1*(1), 28–32. [https://doi.org/10.1016/S1877-8607\(09\)60005-9](https://doi.org/10.1016/S1877-8607(09)60005-9).
- Chen, H., Zeng, J., Wang, B., Cheng, Z., Xu, J., Gao, W., & Chen, K. (2021). Structural characterization and antioxidant activities of *Bletilla striata* polysaccharide extracted by different methods. *Carbohydrate Polymers*, *266*, 118149. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118149>.
- Chen, M., Xu, J., Wang, Y., Wang, Z., Guo, L., Li, X., & Huang, L. (2020). *Arctium lappa* L. polysaccharide can regulate lipid metabolism in type 2 diabetic rats through the SREBP-1/SCD-1 axis. *Carbohydrate Research*, *494*, 108055. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2020.108055>.
- Chen, X., Wang, Z., & Kan, J. (2021). Polysaccharides from ginger stems and leaves: Effects of dual and triple frequency ultrasound assisted extraction on structural characteristics and biological activities. *Food Bioscience*, *42*, 101166. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01159-3>.
- D'yakova, N. A., Samylina, I. A., Slivkin, A. I., Gaponov, S. P., & Myndra, A. A. (2015). Development and validation of an express method for assay of water-soluble polysaccharides in common burdock (*Arctium lappa* L.) Roots. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, *49*(9), 620–623. <https://doi.org/10.1007/s11094-015-1340-7>.
- Delattre, C., Fenoradosa, T. A., & Michaud, P. (2011). Galactans: an overview of their most important sourcing and applications as natural polysaccharides. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *54*(6), 1075–1092. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132011000600002>.
- Esmaili, F., Hashemiravan, M., Eshaghi, M. R., & Gandomi, H. (2021). Optimization of aqueous extraction conditions of inulin from the *Arctium lappa* L. roots Using ultrasonic irradiation frequency. *Journal of Food Quality*, *2021*. <https://doi.org/10.1155/2021/5520996>.
- Fournière, M., Bedoux, G., Lebonvallet, N., Leschiera, R., Goff-Pain, L., Bourgougnon,

- N., & Latire, T. (2021). Poly-and oligosaccharide *Ulva* sp. Fractions from enzyme-assisted extraction modulate the metabolism of extracellular matrix in human skin fibroblasts: Potential in anti-aging dermo-cosmetic applications. *Marine Drugs*, *19*(3), 156. <https://doi.org/10.3390/MD19030156>.
- Fu, Y.-L. (2009). Isolation, purification, and structural elucidation of a fructan from *Arctium lappa* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, *3*(3), 171–173.
- Jiang, Y., Yu, J., Li, Y., Wang, L., Hu, L., Zhang, L., & Zhou, Y. (2019). Extraction and antioxidant activities of polysaccharides from roots of *Arctium lappa* L. *International Journal of Biological Macromolecules*, *123*, 531–538. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.087>.
- Kardošová, A., Ebringerová, A., Alföldi, J., Nosál'ová, G., Fraňová, S., & Hřibálová, V. (2003). A biologically active fructan from the roots of *Arctium lappa* L., var. *Herkules*. *International Journal of Biological Macromolecules*, *33*(1–3), 135–140. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(03\)00079-5](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(03)00079-5).
- Lee, N. Y., Lee, J. W., & Jo, C. (2010). Effects of γ -irradiation on the biological activity of burdock (*Arctium lappa* L.) extracts. *Food Science and Biotechnology*, *19*(1), 165–173. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0023-0>.
- Li, D., Kim, J. M., Jin, Z., & Zhou, J. (2008). Prebiotic effectiveness of inulin extracted from edible burdock. *Anaerobe*, *14*(1), 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2007.10.002>.
- Li, H.-Y., Yi, Y.-L., Guo, S., Zhang, F., Yan, H., Zhan, Z.-L., Zhu, Y., & Duan, J.-A. (2022). Isolation, structural characterization and bioactivities of polysaccharides from *Laminaria japonica*: A review. *Food Chemistry*, 131010. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131010>.
- Li, K., Zhu, L., Li, H., Zhu, Y., Pan, C., Gao, X., & Liu, W. (2019). Structural characterization and rheological properties of a pectin with anti-constipation activity from the roots of *Arctium lappa* L. *Carbohydrate Polymers*, *215*, 119–129. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.051>.
- Li, L., Qiu, Z., Dong, H., Ma, C., Qiao, Y., & Zheng, Z. (2021). Structural characterization and antioxidant activities of one neutral polysaccharide and three acid polysaccharides from the roots of *Arctium lappa* L.: A comparison. *International Journal of Biological Macromolecules*, *182*, 187–196. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.177>.
- Li, X., Zhao, Z., Kuang, P., Shi, X., Wang, Z., & Guo, L. (2019). Regulation of lipid metabolism in diabetic rats by *Arctium lappa* L. polysaccharide through the PKC/NF- κ B pathway. *International Journal of Biological Macromolecules*, *136*, 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.057>.
- Lianfu, Z., & Zelong, L. (2008). Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes. *Ultrasonics Sonochemistry*, *15*(5), 731–737. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2007.12.001>.
- Liu, D., Tang, W., Yin, J.-Y., Nie, S.-P., & Xie, M.-Y. (2021). Monosaccharide composition analysis of polysaccharides from natural sources: Hydrolysis condition and detection method development. *Food Hydrocolloids*, 106641. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106641>.
- Liu, Y.-G., Hao, C., Shi, S., Dang, K., Huang, X., Zhao, Z., & Shi, X. (2021). Transcriptome analysis of the immunomodulation by *Arctium lappa* L. polysaccharides in the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* against *Aeromonas*

- hydrophila. *Aquaculture*, 534, 736255. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736255>.
- Lou, Z., Wang, H., Wang, D., & Zhang, Y. (2009). Preparation of inulin and phenols-rich dietary fibre powder from burdock root. *Carbohydrate Polymers*, 78(4), 666–671. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.05.029>.
- Ma, F., Wang, D., Zhang, Y., Li, M., Qing, W., Tikkanen-Kaukanen, C., Liu, X., & Bell, A. E. (2018). Characterisation of the mucilage polysaccharides from *Dioscorea opposita* Thunb. with enzymatic hydrolysis. *Food Chemistry*, 245, 13–21. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.080>.
- Martinez-Guerra, E., & Gude, V. G. (2014). Synergistic effect of simultaneous microwave and ultrasound irradiations on transesterification of waste vegetable oil. *Fuel*, 137, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.07.087>.
- Milani, E., Koocheki, A., & Golimovahhed, Q. A. (2011). Extraction of inulin from Burdock root (*Arctium lappa*) using high intensity ultrasound. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(8), 1699–1704. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02673.x>.
- Moro, T. M. A., & Clerici, M. T. P. S. (2020). Burdock (*Arctium lappa* L) roots as a source of inulin-type fructans and other bioactive compounds: Current knowledge and future perspectives for food and non-food applications. *Food Research International*, 141, 109889. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109889>.
- Olennikov, D. N., & Tankhaev, L. M. (2011). A quantitative assay for total fructans in burdock (*Arctium* spp.) roots. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 37(7), 893–898. <https://doi.org/10.1134/S1068162011070181>.
- Shanshan, W., Meigui, H., Chunyang, L., Zhi, C., Li, C., Wuyang, H., Ying, L., & Jin, F. (2021). Fabrication of ovalbumin-burdock polysaccharide complexes as interfacial stabilizers for nanostructured lipid carriers: Effects of high-intensity ultrasound treatment. *Food Hydrocolloids*, 111, 106407. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107172>.
- Shao, P., Feng, J., Sun, P., Xiang, N., Lu, B., & Qiu, D. (2020). Recent advances in improving stability of food emulsion by plant polysaccharides. *Food Research International*, 137, 109376. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109376>.
- Shen, S., Zhou, C., Zeng, Y., Zhang, H., Hossen, M. A., Dai, J., Li, S., Qin, W., & Liu, Y. (2021). Structures, physicochemical and bioactive properties of polysaccharides extracted from *Panax notoginseng* using ultrasonic/microwave-assisted extraction. *LWT*, 154, 112446. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112446>.
- Souza, E. R. L., Gomes, N. M. L., Cruz, J. H. A., Santos, J. F. D., & Oliveira Filho, A. A. (2021). Propriedades farmacológicas do Sesquiterpeno α -Bisabolol: uma breve revisão. *Archives of Health Investigation*, 10(1), 18–23. <https://doi.org/10.21270/archi.v10i1.3183>.
- Sousa, L. M. M. S., Marques-Vieira, C. M. A., Severino, S. S., & Antunes, A. V. (2017). Metodologia de revisão integrativa da literatura em enfermagem.
- Sutovska, M., Nosalova, G., Franova, S., & Kardosova, A. (2007). The antitussive activity of polysaccharides from *Althaea officinalis* L., var. *Robusta*, *Arctium lappa* L., var. *Herkules*, and *Prunus persica* L., Batsch. *Bratislavské Lekárske Listy*, 108(2), 93–99.
- Tian, K., Wang, J., Zhang, Z., Cheng, L., Jin, P., Singh, S., Prior, B. A., & Wang, Z.-X. (2019). Enzymatic preparation of fructooligosaccharides-rich burdock syrup with

- enhanced antioxidative properties. *Electronic Journal of Biotechnology*, 40, 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2019.04.009>.
- Wang, Y., Zhang, N., Kan, J., Zhang, X., Wu, X., Sun, R., Tang, S., Liu, J., Qian, C., & Jin, C. (2019). Structural characterization of water-soluble polysaccharide from *Arctium lappa* and its effects on colitis mice. *Carbohydrate Polymers*, 213, 89–99. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.171>.
- Zhang, N., Wang, Y., Kan, J., Wu, X., Zhang, X., Tang, S., Sun, R., Liu, J., Qian, C., & Jin, C. (2019). In vivo and in vitro anti-inflammatory effects of water-soluble polysaccharide from *Arctium lappa*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 135, 717–724. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.171>.
- Zhang, X., Zhang, N., Kan, J., Sun, R., Tang, S., Wang, Z., Chen, M., Liu, J., & Jin, C. (2020). Anti-inflammatory activity of alkali-soluble polysaccharides from *Arctium lappa* L. and its effect on gut microbiota of mice with inflammation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 154, 773–787. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.111>.

Efeito de métodos de extração nos atributos químicos, estruturais e reológicos de frutanos derivados de raízes de *Arctium lappa* L.

Annecler Rech de Marins^a, Susana Tavares Cotrim Ribeiro^b, Mariana Carla de Oliveira^b, Arildo José Braz de Oliveira^b, Regina Aparecida Correia Gonçalves^b, Raquel Guttierres Gomes^c, Andresa Carla Feihmann^{a,c}

^aPostgraduate Program in Food Science - State University of Maringa - CEP: 87020-900 - Maringá - PR - Brazil.

^bDepartment of Pharmacy, Graduate Program in Pharmaceutical Sciences, Biotechnology Laboratory of Natural and Synthetic Products (LABIPROS), State University of Maringá, Av. Colombo, 5790, Maringá 87020-900, Paraná, Brazil

^cPosgraduate Program in Food Engineering - State University of Maringa - CEP: 87020-900 - Maringa - PR - Brazil.

Resumo

O foco deste estudo foi a avaliação de como as técnicas de extração impactam os atributos químicos, estruturais e reológicos dos frutanos extraídos das raízes de *Arctium lappa* L. Foram utilizados três procedimentos distintos de extração, utilizando água como solvente, extração por infusão realizada em temperatura ambiente (25 °C por 5 min), extração térmica empregando refluxo (100 °C por 2 h) e extração assistida por ultrassom (50 °C por 83 min. com saída de 158 W). A caracterização química por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e análises colorimétricas revelaram a obtenção de frutanos do tipo inulina (rendimento 83%). O grau de polimerização (DP) foi o mais baixo para a extração assistida por ultrassom (14,38), seguido pelas técnicas de extração em temperatura ambiente (20,41) e térmica (21,14). Nenhuma das técnicas de extração pareceu modificar a estrutura molecular dos compostos isolados. Nas análises de difração de raios X (XRD) e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), padrões de cristalização distintos foram observados para as técnicas de extração térmica e à temperatura ambiente, embora todas as frações exibissem consistentemente bandas características de frutano do tipo inulina. Avaliações reológicas indicaram uma natureza viscoelástica das frações, com aquelas extraídas termicamente demonstrando maior viscosidade. Este estudo mostra que a escolha do método de extração pode influenciar as características estruturais dos frutanos do tipo inulina derivados da raiz da bardana.

Palavras-chave: Bardana; inulina; reologia; RMN; FTIR; DRX.

Abstract

The focus of this study was the evaluation of how extraction techniques impact the chemical, structural, and rheological attributes of fructans extracted from *Arctium lappa* L. roots. Three distinct extraction procedures were used, utilizing water as solvent, infusion extraction conducted at ambient temperature (25 °C for 5 min), thermal extraction employing reflux (100 °C for 2 h), and ultrasound-assisted extraction (50 °C for 83 min. with a 158 W output). Chemical characterization by Nuclear Magnetic Resonance (NMR) and colorimetric analyses revealed the obtaining of inulin-type fructans (yield 83 %). The degree of polymerization (DP) was found to be the lowest

for ultrasound-assisted extraction (14.38), followed by the room-temperature (20.41) and thermal (21.14) extraction techniques. None of the extraction techniques appeared to modify the molecular structure of the isolated compounds. In X-ray diffraction (XRD) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) analyses, distinct crystallization patterns were observed for the room-temperature and thermal extraction techniques, though all fractions consistently exhibited characteristic bands of inulin-type fructan. Rheological assessments indicated a viscoelastic nature of the fractions, with those extracted thermally demonstrating a greater viscosity. This study shows that the choice of extraction method can influence the structural characteristics of inulin-type fructans derived from the burdock root.

Keywords: Burdock; inulin; rheology; NMR; FTIR; DRX.

1. Introdução

Arctium lappa L. comumente conhecida como bardana e pertencente à família Asteraceae, é uma planta medicinal comestível cultivada globalmente (Yosri et al., 2023). A sua composição consiste predominantemente em polissacarídeos associados a efeitos benéficos à saúde (Chang et al., 2009; N. Zhang et al., 2019). Vários estudos avaliaram o potencial anti-inflamatório dos frutanos de bardana (Y. Wang et al., 2019; X. Zhang et al., 2020), bem como suas propriedades antioxidantes e prebióticas (D. Li et al., 2008; L. Li et al., 2021; Tian et al., 2019). K. Li et al. (2019) descobriram propriedades funcionais e elásticas em um heteropolissacarídeo extraído da raiz de bardana.

Os frutanos são caracterizados como misturas heterogêneas de frutose e glicose, apresentando diversos graus de polimerização (DP) e estruturas químicas. Eles são classificados com base em suas ligações em grupos como inulina, levanos, frutanos ramificados (graminanos), inulina neossérie e levana. neossérie (Cotrim Ribeiro et al., 2022; Verma et al., 2021). Eles consistem em ligações β -(2 \rightarrow 1) e/ou β -(2 \rightarrow 6) frutose e terminam com uma unidade de glicose (Tran et al., 2022; Verma et al., 2021).

Frutanos e galactanos são carboidratos não digeríveis conhecidos como prebióticos, com efeitos demonstrados em estudos humanos (Pohlentz et al., 2022; Scott et al., 2020). Esses biopolímeros vegetais naturais exibem efeitos emulsificantes e

espessantes juntamente com suas atividades biológicas. A tecnologia de alimentos utiliza frequentemente frutanos do tipo inulina de alto ou baixo peso molecular (Mw) (Barros & Franco, 2022; Konar et al., 2018; Ngamlerst et al., 2023; Sirbu & Arghire, 2017), destacando sua aplicação como estabilizadores naturais em diversos produtos e aumentando sua atratividade para a indústria alimentícia (Chen et al., 2021; X. Lou et al., 2022; Shao et al., 2020).

A tendência atual aponta para alimentos naturais e funcionais que oferecem benefícios à saúde e contribuem para um envelhecimento saudável. Com o aumento de consumidores preocupados com a saúde, o estudo de compostos naturais, como os frutanos, que melhoram a textura dos alimentos, proporcionam um efeito estabilizador e oferecem benefícios à saúde, aumentou (Akal, 2022). Portanto, compreender novas fontes de frutanos e suas propriedades estruturais e reológicas é crucial para expandir sua aplicação em diversos produtos alimentícios (Romano et al., 2018).

Diversas metodologias são utilizadas para obter esses compostos, sendo comumente utilizada a extração por infusão convencional (L. Li et al., 2021; Shanshan et al., 2021). Apesar de sua simplicidade, pode não produzir tempo de extração e eficiência ideais em comparação com outros métodos (Shen et al., 2022). Outros métodos de extração, como a extração por ultrassom, que aproveita os efeitos de cavitação para exposição e migração de compostos, ou a extração por micro-ondas, que promove rápido aquecimento e expansão, são empregados para obter rendimentos mais elevados e tempos de extração mais curtos (Lianfu & Zelong, 2008; Z. Lou et al., 2009; Martinez guerra & Gude, 2014). Estudos anteriores concentraram-se na obtenção de frutanos, purificando-os através de extensos processos químicos e físicos, e caracterizando-os quimicamente para obter elevados rendimentos de compostos puros. No entanto, diferentes condições de extração podem produzir carboidratos com

diferentes propriedades químicas e físicas (Pourfarzad et al., 2015a).

Os métodos de extração empregados podem influenciar as características estruturais e, posteriormente, tecnológicas dos compostos obtidos. Os estudos disponíveis na literatura sobre extração de polissacarídeos de raízes de bardana não caracterizaram as estruturas moleculares dos frutanos e o rendimento percentual sem extensos processos de purificação. Além disso, foi determinado o comportamento reológico dos frutanos para diferentes processos de extração. Este estudo tem como objetivo extrair um frutano do tipo inulina da raiz de bardana *Arctium lappa* L. sem passar por extensos processos de purificação. O estudo irá caracterizar e avaliar como diversos métodos de extração – infusão convencional em temperatura ambiente, quente e ultrassom – afetam a estrutura e as propriedades reológicas, com foco na identificação das características funcionais com maior potencial para processamento industrial e tecnológico.

2. Material e métodos

2.1 Materiais

A bardana fresca foi obtida em um mercado popular de uma propriedade rural em Maringá, Paraná, Brasil, em agosto de 2022 e foi utilizada para extração de frutanos neste estudo. Todos os produtos químicos eram de grau analítico e foram adquiridos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA) ou da Fisher Scientific (Mississauga, ON, Canadá).

2.2 Extração de frutanos das raízes de *Arctium lappa* L.

A bardana foi armazenada sob refrigeração (8 °C) e higienizada em água corrente e depois descascada manualmente antes das extrações em temperatura ambiente (25 °C) quente e assistida por ultrassom (Fig. 1).

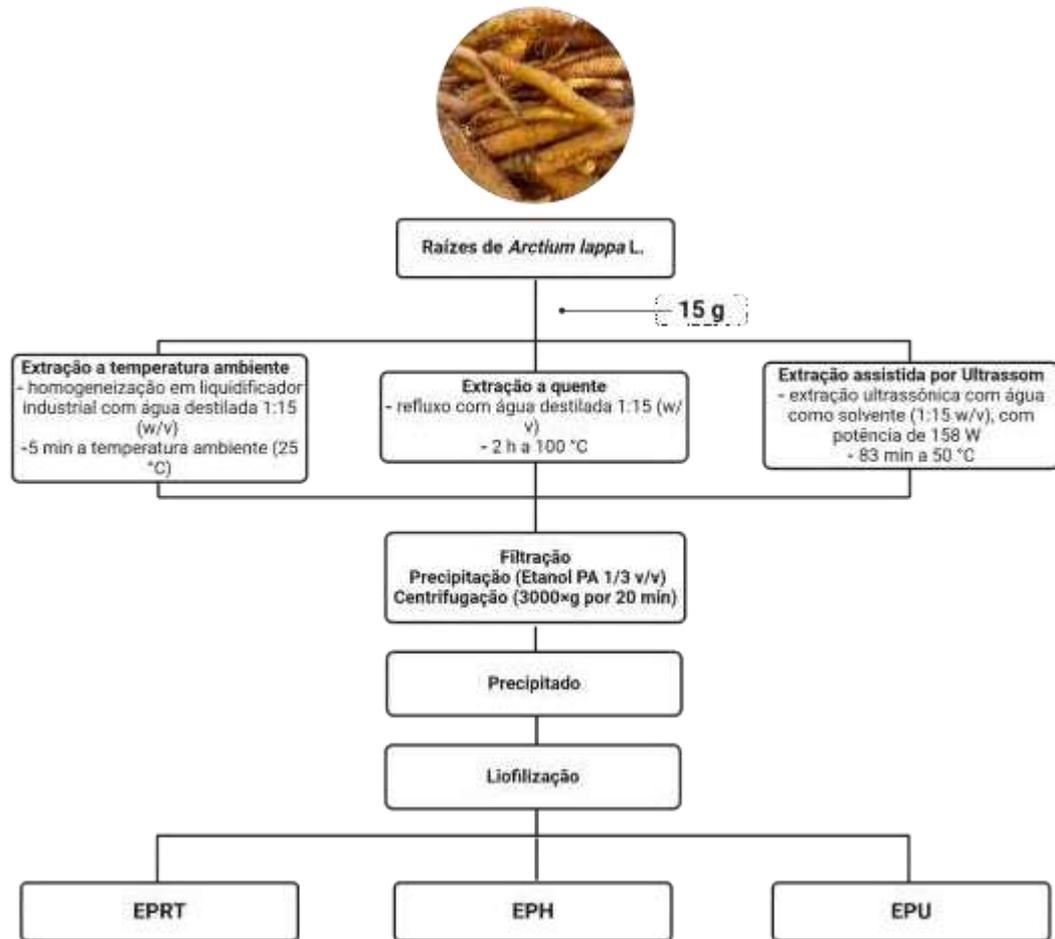


Figura 1. Metodologia de extração utilizada para obtenção de frutanos das raízes de *Arctium lappa L.*

2.2.1. Extração por infusão à temperatura ambiente

O frutano de bardana foi extraído conforme descrito por Z. Zhang et al. (2016), com pequenas modificações. A bardana fresca foi homogeneizada em liquidificador industrial com água destilada na proporção de 1:15 (p/v) por 5 min em temperatura ambiente (25 °C). A mistura foi filtrada através da tela de poliéster e o extrato foi coletado. Para a precipitação do frutano, foram adicionados 3 volumes de etanol PA ao extrato, e esta solução foi mantida sob refrigeração a 6 °C por 24 h. Após, o conteúdo foi centrifugado a 3000×g por 20 min, e a fração precipitada foi coletada. A mesma foi submetida ao processo de liofilização (EPRT) e pesada para cálculo do rendimento.

2.2.2. Extração a quente

A extração a quente foi realizada sob refluxo com água destilada 1:15 (p/v) a 100

°C/2 h, e esse procedimento foi repetido três vezes para posterior extração dos compostos. O extrato aquoso foi evaporado em rotaevaporador (Fisatom, modelo 801, São Paulo, SP, Brasil), e os frutanos foram precipitados com três volumes de etanol PA e mantidos sob refrigeração (6 °C) por 24 h. A fração precipitada foi centrifugada a 3000×g por 20 min (Caleffi et al., 2015). Após a liofilização, o precipitado de extração a quente (EPH) foi obtido e pesado para cálculo do rendimento.

2.2.3. Extração assistida por ultrassom

A bardana fresca foi submetida à extração ultrassônica por Ultronique (modelo QR500) em frequência fixa de 20 kHz, equipada com sonda de titânio de 13 mm de diâmetro e célula de vidro com volume de 250 mL conectada a banho termostático (Quimis, modelo Q214M2). Água foi utilizada como solvente (1:15 p/v), com potência ultrassônica de 158 W, tempo de extração de 83 min e temperatura de 50 °C (Jiang et al., 2019). Para a precipitação dos frutanos foram adicionados 3 volumes de etanol PA, e esta solução foi mantida por 24 h sob refrigeração (6 °C). As frações sobrenadante e precipitado foram obtidas por centrifugação a 3000xg por 20 min. O precipitado (EPU) foi liofilizado e pesado para obtenção do rendimento.

2.3. Análises colorimétricas

O teor de carboidratos foi determinado por análise colorimétrica em espectrofotômetro Varian[®] Cary 1E (Palo Alto, CA, EUA), em triplicata. O teor de açúcar total e o teor de inulina foram determinados pelo método fenol-ácido sulfúrico (Dubois et al., 1956). O teor de açúcares redutores livres foi obtido pelo ensaio da hidrazida do ácido p-hidroxibenzóico (PAHBAH) (Lever, 1972), e o teor de frutose pelo método do resorcinol (Ashwell, 1957).

2.4. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Amostras das frações de frutanos liofilizadas (10 mg) foram solubilizadas em 700

μL de óxido de deutério 99,9% (D_2O) (Cambridge Isotope Laboratories, Inc., Tewksbury, MA, EUA), mantidas em estufa a $45\text{ }^\circ\text{C}$. /24 h para troca de hidrogênio e posteriormente liofilizado. Então foram ressolubilizados em $700\ \mu\text{L}$ de D_2O e submetidos à análise. Utilizando um espectrômetro Bruker Avance III HD (Billerica, MA, EUA), operou em $500,13\ \text{MHz}$ para o núcleo de hidrogênio e $125,77\ \text{MHz}$ para o núcleo de carbono obtendo os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . A inulina padrão da Orafti® GR (~92%, pó granulado, $\text{PM} = 1.500\ \text{Da} - 2.500\ \text{Da}$, peso molecular médio ≥ 10 , Beneo-Orafti, Bélgica) também foi analisada. Os desvios químicos foram comparados com esta amostra padrão e dados da literatura.

Os valores de DP foram obtidos usando a equação (1), e os espectros de RMN de ^1H calculando a razão média entre as integrais dos sinais de hidrogênio da frutose (H3-Fru e H4-Fru) e a integral do sinal de hidrogênio anomérico da glicose (H1' - Glc) (Caleffi et al., 2015). As integrais de prótons foram calculadas usando o pacote de software MestReNova 6.1.

$$DP = \frac{\int \text{ sinal H3 - Fru} + \int \text{ sinal H4 - Fru}}{\int \text{ signal H1' - Glc} \times 2} \quad \text{Equação (1)}$$

O peso molecular estimado foi obtido a partir da equação (2) utilizando o grau de polimerização (Y. Li et al., 2019).

$$Mw = 162DP + 180 \quad \text{Equação (2)}$$

2.5. Espectroscopia infravermelha por transformada de Fourier (FTIR)

Os precipitados liofilizados de raízes de bardana foram analisados num espectrômetro Bruker Vertex 70v FTIR (Bruker Optik GmbH, Ettlingen, DEU). Cada medição foi a média de 128 espectros de $4.000\ \text{a}\ 400\ \text{cm}^{-1}$ na proporção de $0,02\ \text{g}$ de amostra para $0,2\ \text{g}$ de KBr (10%).

2.6. Difração de raios X (XRD)

A estrutura amorfa ou cristalina das frações liofilizadas obtidas da extração da raiz

de bardana foi analisada utilizando um difratômetro de raios X (Shimadzu, Modelo 7000) operando com tensão de 40 kV e corrente de 30 mA. As varreduras foram realizadas na faixa 2θ de 10 a 80°, com tamanho de passo de 0,5°/min e modo de passo de 1 segundo.

2.7. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As micrografias foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura (Super Scan SS-550 Shimadzu), utilizando resoluções micrométricas de 20 μm e tensão de aceleração de 15 kV para avaliar as características morfológicas dos precipitados liofilizados.

2.8. Propriedades reológicas

O reômetro oscilatório das frações precipitadas não liofilizadas a 8, 16 e 32 °C foi analisado usando um reômetro controlado por voltagem (MARS II, Hacke Thermo Fisher Scientific Inc., Newington, Alemanha) e geometria da placa - placa de aço paralela (60 mm, separados por uma distância de 0,052 mm). As frações foram aplicadas na placa e por 1 min a placa foi deixada em repouso até atingir o equilíbrio antes da análise.

Após a determinação da região viscoelástica linear (LVR) de cada sistema, as frações foram submetidas, em triplicata, à varredura de frequência de 0,1 a 10,0 Hz em tensão constante. Utilizando o RheoWin 4.10.0000 (Haake®), foram calculados os parâmetros reológicos dinâmicos, módulo de armazenamento (G''), módulo de perda (G'), viscosidade dinâmica (η') e tangente de perda ($\tan \delta$) (De Souza Ferreira et. al., 2017).

2.9. Análise estatística

Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância utilizando um modelo linear geral, onde os diferentes métodos foram tratados como efeito fixo e a

replicação como efeito aleatório. Diferenças significativas foram analisadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) e expressas como erro padrão da média. A análise estatística foi realizada no software R, versão 1.2.5019 (R Core Team, 2016).

3 Resultados e discussão

3.1 Extração e análise colorimétrica

As técnicas de extração de frutanos da bardana mostraram efeitos significativos no rendimento da fração precipitada. A Tabela 1 mostra os valores de rendimento e teores de carboidratos.

Tabela 1. Rendimento de extração e teores totais e redutores de açúcar, inulina e frutose de precipitados de *Arctium lappa*.

Precipitados	Rendimento* (%)	Açúcar total (%)	Açúcar redutor (%)	Inulina (%)	Frutose (%)
EPRT	2.60±0.02 ^b	86.86±3.11 ^a	7.26±0.25 ^b	83.33±2.88 ^a	73.47±2.26 ^a
EPH	5.99±0.40 ^a	81.77±2.99 ^{ab}	8.73±0.11 ^a	79.42±2.90 ^a	70.00±0.46 ^a
EPU	1.59±0.01 ^c	77.64±1.92 ^b	5.33±0.05 ^c	78.03±2.36 ^a	70.24±1.09 ^a

^{a-c} Valores médios na mesma coluna seguidos por letras diferentes indicam uma diferença significativa $P < 0.05$. Abreviações: EPRT, precipitado do extrato obtido em temperatura ambiente; EPH, precipitado do extrato obtido a quente; EPU, precipitado do extrato obtido por ultrassom. *Base úmida.

O rendimento do precipitado derivado da extração a quente foi significativamente superior àquele obtido nas extrações à temperatura ambiente e ultrassônica ($P < 0,05$), reafirmando o impacto positivo do aumento da temperatura de extração no rendimento de polissacarídeos através do aumento da solubilidade (Masmoudi et al., 2008; Miao et al., 2011). Notavelmente, o rendimento da extração a quente (EPH) foi duas e três vezes maior que as extrações à temperatura ambiente (EPRT) e ultrassônica (EPU), respectivamente. Comparado ao frutano extraído da raiz de bardana por hidrólise por enzimas endógenas (Tabela 2), o EPH apresentou maior rendimento de extração. N. Lee et al. (2010) obtiveram maiores percentuais de extrato de bardana, porém, os autores

não realizaram o processo de precipitação, o que justifica esse maior rendimento de massa em relação aos nossos resultados.

A suposição predominante na literatura atual sugere que a extração de frutanos via ultrassom é mais eficiente que os métodos convencionais (Chemat et al., 2017; García-Villalba et al., 2023; Sánchez-Madrugal et al., 2017). Porém, isso não se refletiu em nosso estudo, quando comparado com o uso simultâneo de ultrassom e micro-ondas, Tabela 2. Milani et al. (2011) sugerem que o rendimento de inulina da raiz de *Arctium lappa* L. aumenta exponencialmente com o aumento da amplitude, implicando que o menor rendimento observado em nosso estudo pode ter resultado do uso de amplitudes mais baixas.

Tabela 2. Compilação da literatura de diferentes métodos de extração de compostos de raízes frescas de *Arctium lappa*.

Parte da planta	Método de extração	Extrair compostos	Rendimento de extração (%)	Referência
Raízes (frescas)	Ultrassom/microondas simultâneos, água, 1:15, 60s	Inulina	9,9%	Z. Lou et al. (2009)
Raízes (frescas)	Infusão convencional, 5 vezes de agitações, etanol 70%, 1:20, temperatura ambiente, 72h	Extrato de bardana em pó	8,21%	N.Lee et al. (2010)
	Refluxo, água, 1:20, 85 °C, 3h		9,8%	
Raízes (frescas)	Hidrólise por enzimas endógenas, 50 °C, 24h	Frutano	3,7%	Tian et al. (2019)
	Infusão convencional, água, 1:15, temperatura ambiente (25 °C), 5min		2,6%	
Raízes (frescas)	Refluxo, água, 1:15, 100 °C, 2h	Frutano tipo inulina	5,9%	Este papel
	Ultrassônico, 158 W, água, 1:15, 50 °C, 83min		1,59%	

O teor total de açúcar nas frações extraídas oscilou entre 86,86% e 77,64%, composto por açúcares redutores (8,73% a 5,33%) e frutose (73,47% a 70,00%). Apesar das variações significativas no teor de outros açúcares, as proporções de inulina e frutose não diferiram significativamente entre os precipitados.

As estimativas do conteúdo de inulina para EPRT, EPH e EPU foram 83,33%, 79,42% e 78,03%, respectivamente, resultado semelhante ao obtido por G. Lee et al. (2015) ao avaliarem as alterações físico-químicas e antioxidantes durante os processos de secagem da bardana. Embora os níveis de açúcar redutor tenham sido maiores para EPH - possivelmente devido à hidrólise de frutanos relacionada à temperatura (Blecker et al., 2002) - o teor de frutose e inulina não apresentou diferenças significativas em comparação com outras frações.

3. 2. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Espectros de RMN unidimensionais (^1H , ^{13}C) e bidimensionais (HMBC) servem para elucidar as propriedades estruturais dos polissacarídeos (R. Wang et al., 2022). No espectro de RMN de ^1H (Fig. 2) do frutano de bardana, foram observados picos característicos variando entre δ_{H} 3,67 e 5,45, que podem ser atribuídos à inulina. Esta atribuição foi apoiada pelos sinais identificados de um hidrogênio de glicose e de frutose, com base em sua blindagem relativa em comparação com o tetrametilsilano (TMS) (T. Barclay et al., 2012). Estas observações foram ainda corroboradas pela comparação com a faixa de δ_{H} 3,68 a 5,45 observada para a inulina padrão (INU). Da mesma forma, o espectro de RMN de ^{13}C (Fig. 3) dos precipitados alinhou-se com o espectro da inulina padrão, com desvios insignificantes.

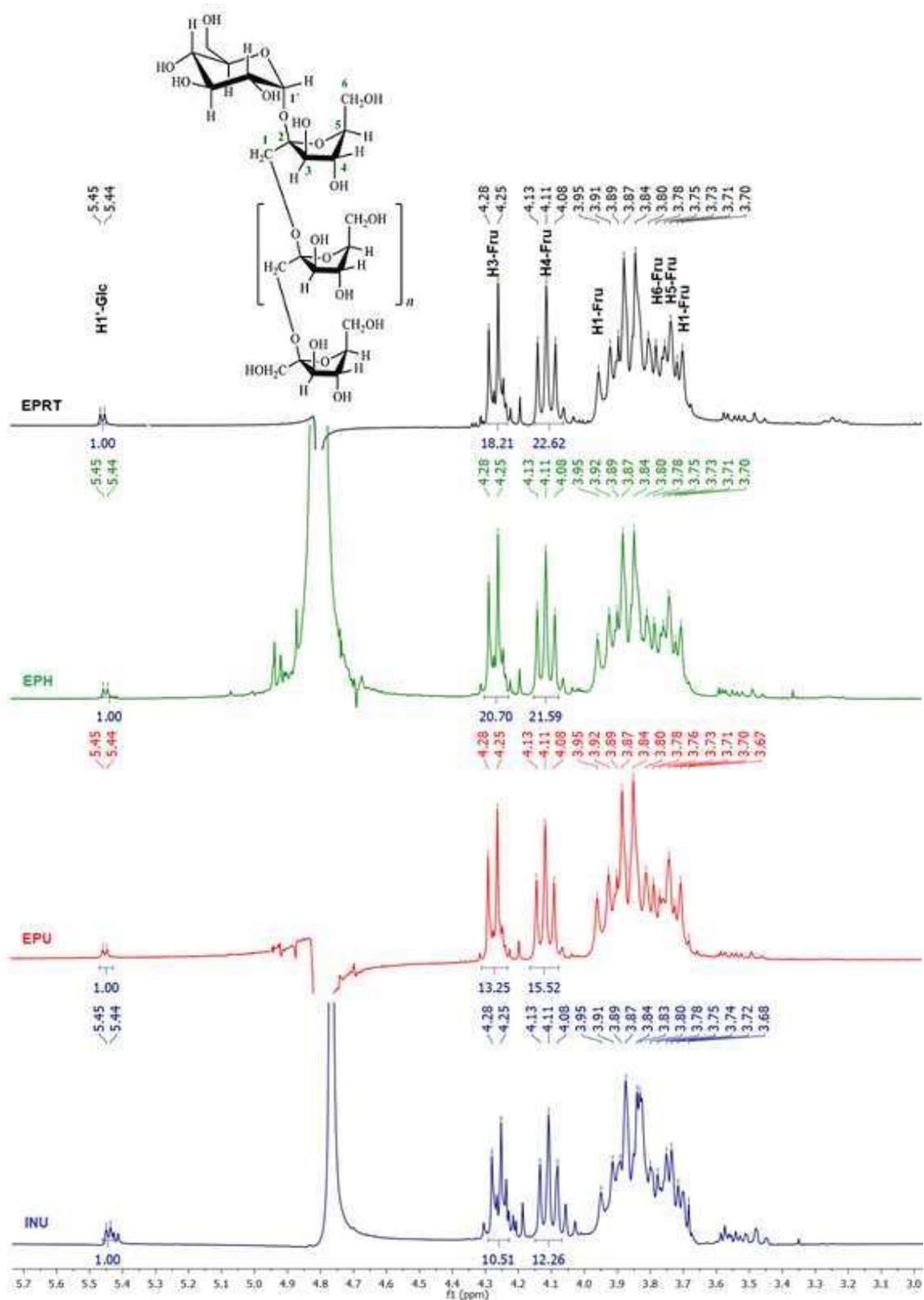


Figura 2. Espectro de ^1H RMN (500,13 MHz, D_2O) dos precipitados de *Arctium lappa* e inulina (Orafit[®] GR). Abreviaturas: EPRT: precipitado do extrato obtido à temperatura ambiente (preto); EPH: precipitado do extrato obtido a quente (verde); EPU: precipitado do extrato obtido por ultrassom (vermelho); INU, inulina padrão (azul).

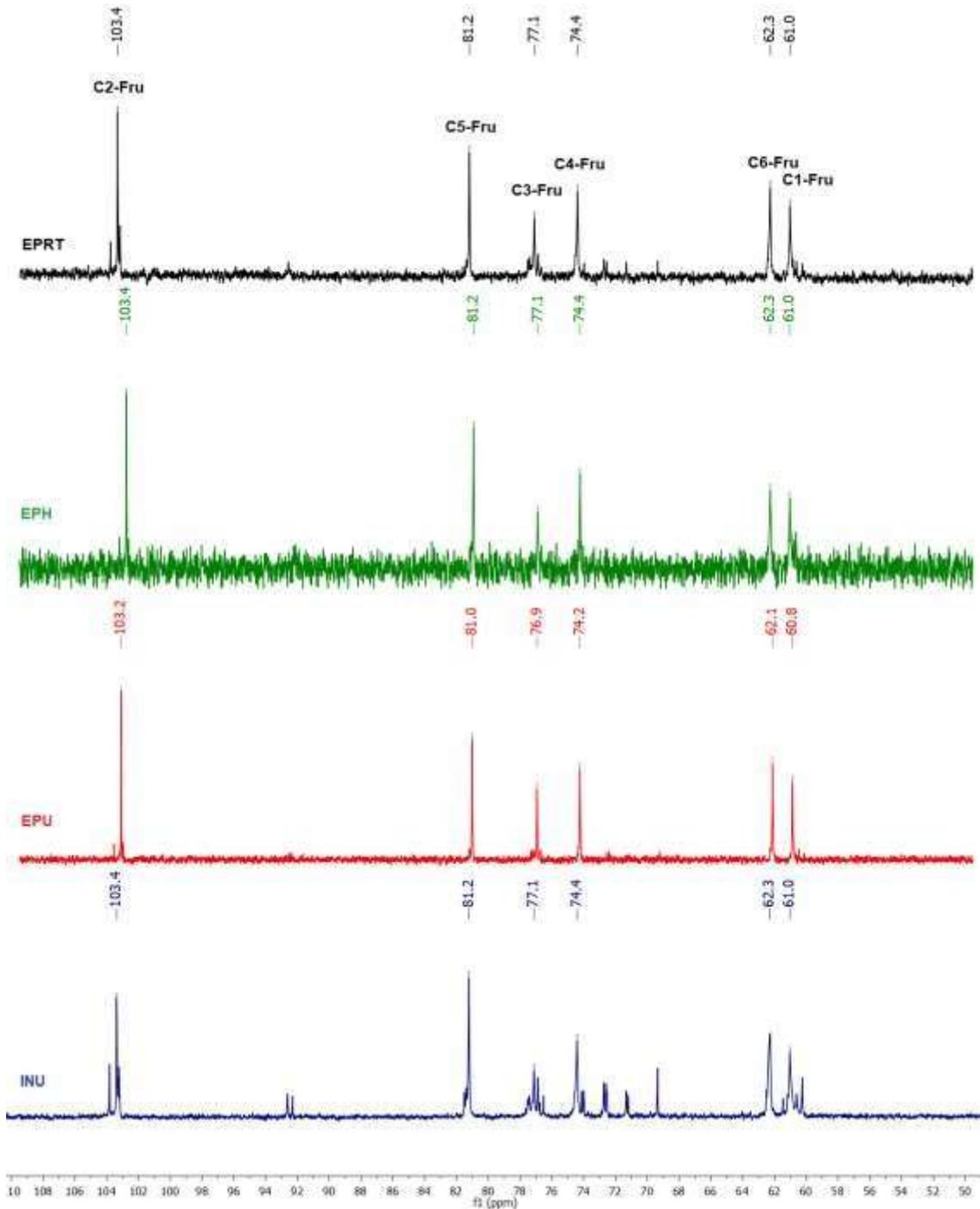


Fig. 3. Espectro de RMN de ^{13}C (500.13 MHz, D_2O) dos precipitados de *Arctium lappa* e inulina (Orafti® GR). Abreviaturas: EPRT: precipitado do extrato obtido à temperatura ambiente (preto); EPH: precipitado do extrato obtido a quente (verde); EPU: precipitado do extrato obtido por ultrassom (vermelho); INU, inulina padrão (azul).

O desvio químico δ_{H} 5,44 ($J = 3,8$ Hz) para H1' do resíduo de α -D-glicopirranose (α -D-glip) espelhou os valores encontrados nos compostos de referência (δ_{H} 5,15 a

5,44) conforme relatado por Fu et al. (2018) e López et al. (2003). A localização do sinal na região anomérica e sua baixa intensidade podem se correlacionar com a quantidade de glicose, justificando assim a atribuição (Cotrim Ribeiro et al., 2022). A constante de acoplamento deste sinal a 3,6 Hz sugere ainda uma configuração α da glicose (L. Li et al., 2021).

Picos adicionais em $\delta_{\text{H}} 4,28$ ($J = 8,5$ Hz) e $\delta_{\text{H}} 4,11$ ($J = 8,1$ Hz) correspondem a H3-Fru e H4-Fru, respectivamente, já que o duplete e o tripleto observados são estimulados pelos hidrogênios ligados aos carbonos adjacentes. Na região entre $\delta_{\text{H}} 3,67$ e $\delta_{\text{H}} 3,95$, os sinais estão associados a H1-Fru, H5-Fru e H6-Fru, conforme designado por HMBC (Fig. 3), e estão de acordo com os dados descritos por Cotrim Ribeiro et al. (2022). Além disso, as mudanças químicas deste estudo correspondem muito às do ALP-1, um polissacarídeo purificado da bardana identificado por L. Li et al. (2021) e Y. Wang et al. (2019).

Os valores do grau de polimerização (DP), calculados pela razão média das integrais do sinal H3-Fru e H4-Fru para a integral do sinal H1'-Glc, produziram valores de 20,41, 21,14, 14,39 e 11,38 para EPRT, EPH, EPU e INU, respectivamente. Em comparação com o valor DP de INU, os precipitados EPRT e EPH demonstraram valores mais elevados, um achado ecoado na literatura anterior (Caleffi et al., 2015; Cotrim Ribeiro et al., 2022; Kardošová et al., 2003; Rubel et al., 2014). Esses resultados elucidam o impacto do processo de extração ultrassônica no DP, conforme Pourfarzad et al. (2015 a) sugeriram que fortes efeitos de cavitação poderiam fragmentar a cadeia de frutanos, reduzindo assim o comprimento médio da cadeia. Este efeito também foi observado nos pesos moleculares estimados, com valor notavelmente baixo obtido para a fração EPU (2511 Da), enquanto valores mais elevados foram apresentados por EPH (3604 Da) e EPRT (3486 Da). O peso molecular (M_w) do INU de 2023 Da está dentro

da faixa fornecida pelo fabricante.

O espectro de RMN de ^{13}C revelou sinais na região de frequência mais baixa, característicos de carbonos de anéis de açúcar ligados a oxigênio (δ_{C} 60,8 a 81,2), com os sinais mais altos pertencentes aos carbonos anoméricos (δ_{C} 103,2 e 103,4) (Caleffi et al., 2015; Xu et al., 2016). Estes últimos foram atribuídos ao C2-Fru do resíduo β -D-frutofuranose (β -D-fruf) do frutano (Lopez et al., 2003). Os sinais em δ_{C} 61,0 e δ_{C} 62,3 corresponderam aos sinais do grupo metílico, C1-Fru e C6-Fru, respectivamente, enquanto δ_{C} 74,4, δ_{C} 77,1 e δ_{C} 81,2 foram atribuídos ao grupo metino (C4-Fru, C3 -Fru e C5-Fru) (Caleffi et al., 2015).

Não foram detectados sinais ^{13}C para a glicose, que está presente apenas nas terminações da cadeia e, portanto, em quantidade comparativamente baixa em relação à frutose (Petkova et al., 2021). Ao comparar os espectros de RMN de ^{13}C de Liu et al. (2014) e Petkova et al. (2021), as mudanças químicas deste estudo foram consistentes tanto com o frutano ALP-1 quanto com a inulina, polissacarídeos extraídos da bardana.

O espectro bidimensional de HMBC contribui para a atribuição de deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C , e suas sequências e correlações. Conforme observado na Figura 4, todos os mapas (AD) apresentam correlação entre H-1 e C-2, sem picos cruzados indicando a correlação H-6/C-2. Isto sugere o estabelecimento de uma ligação β (2 \rightarrow 1) entre os resíduos de frutose, constituindo uma estrutura linear simples e alinhando-se com a estrutura do tipo inulina (Cérantola et al., 2004; Sun et al., 2020).

As correlações para EPRT, EPH e EPU foram altamente semelhantes às observadas para INU. Estes resultados destacam a dominância do composto nos precipitados, sendo consistente com o maior teor estimado de inulina sobre os açúcares redutores para todas as frações. O menor valor de DP do precipitado da ultrassonicação pode ser atribuído à força de cavitação que degrada parcialmente a cadeia de inulina

(Lingyun et al., 2007).

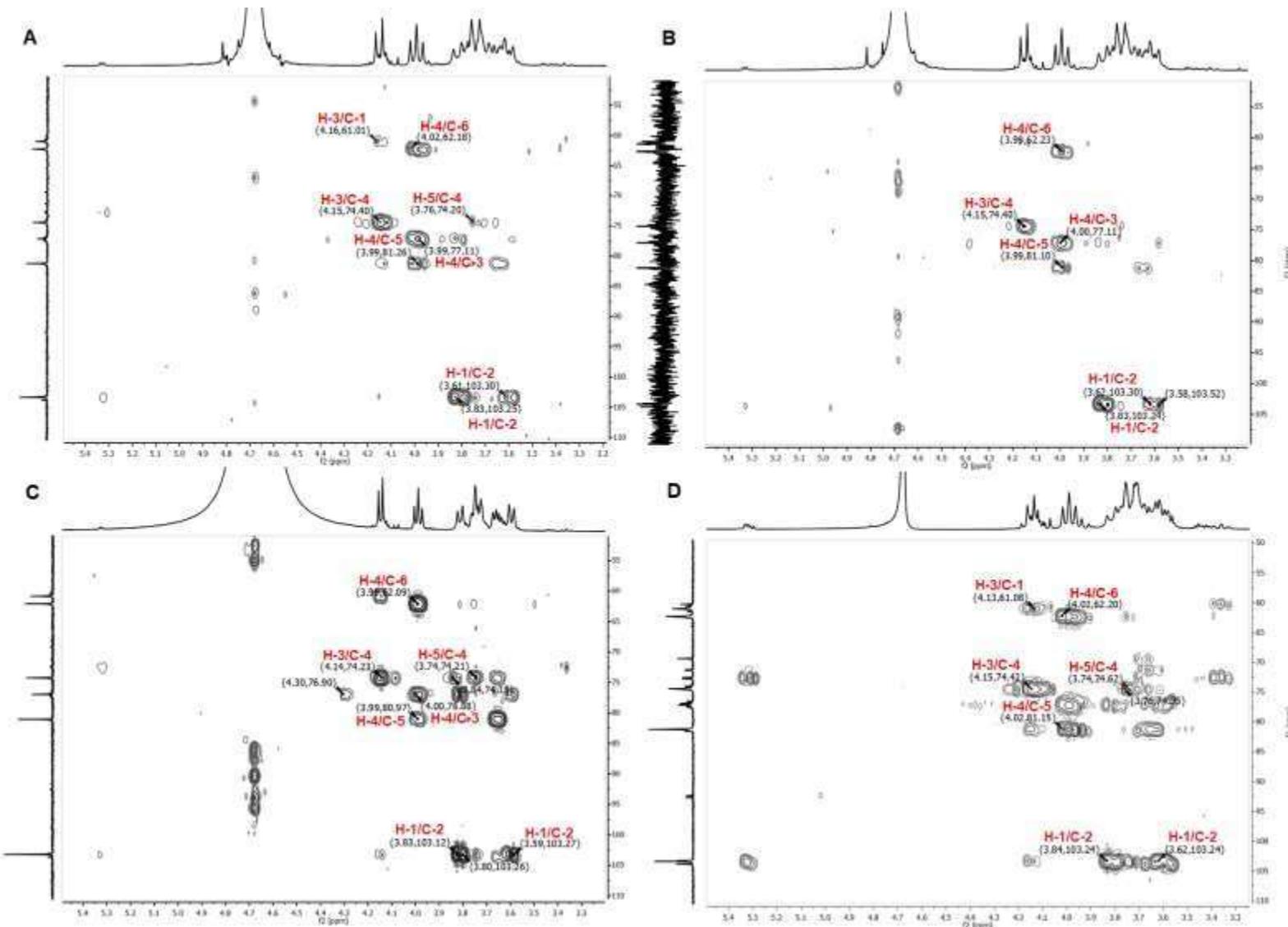


Figura 4. Mapa de correlação HMBC dos precipitados de *Arctium lappa* e inulina (Orafti® GR).

Abreviaturas: EPRT: precipitado do extrato obtido à temperatura ambiente (A); EPH: precipitado do extrato obtido a quente (B); EPU: precipitado do extrato obtido por ultrassom (C); INU, inulina padrão (D).

3.3. Espectroscopia infravermelha por transformada de Fourier (FTIR)

A análise de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), uma técnica que fornece *insights* sobre mudanças moleculares relacionadas às interações dipolares, como a formação ou quebra de pontes de hidrogênio, foi realizada por Romano et al. (2018). Conforme representado na Figura 5A, o espectro infravermelho apresenta bandas de absorção em várias regiões, indicativas de frutanos.

Uma região de banda densa (900 a 1450 cm^{-1}) está principalmente associada à ligação glicosídica COC, constituindo a zona de impressão digital, onde a banda única de inulina de 937 cm^{-1} , atribuível ao resíduo α -D-Glcp na cadeia de carboidratos, é discernido (Petkova et al., 2018; Romano et al., 2018).

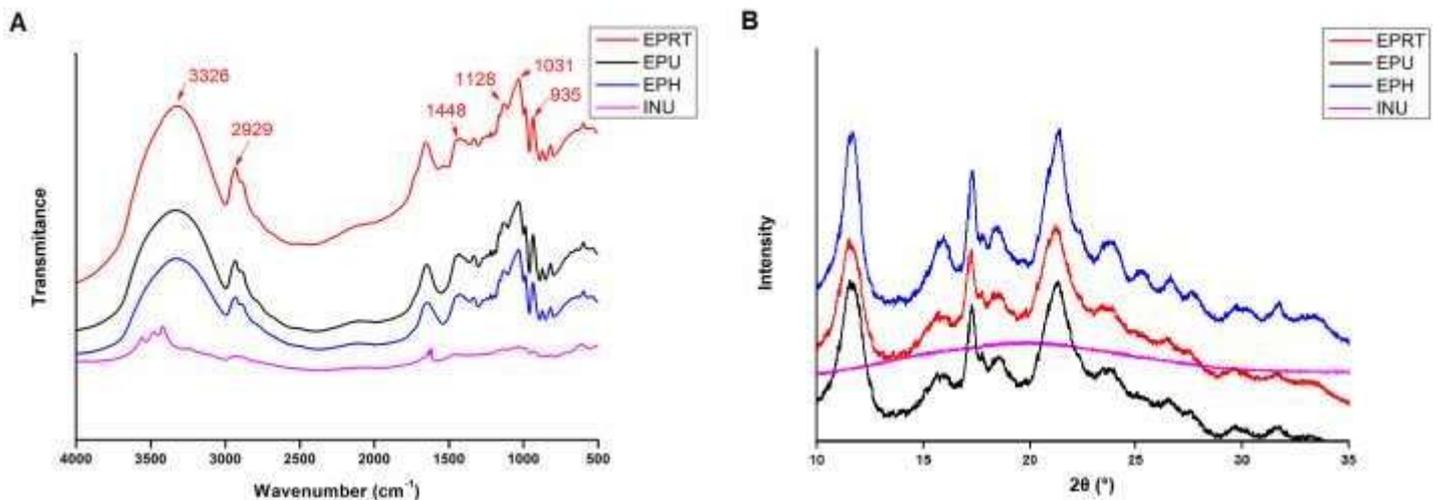


Figura 5. (A) Espectro FTIR dos precipitados de *Arctium lappa*. (B) Padrão de difração de raios X da fração obtida dos diferentes extratos de bardana. Abreviaturas: EPRT: precipitado do extrato obtido à temperatura ambiente (vermelho); EPH: precipitado do extrato obtido a quente (azul); EPU: precipitado do extrato obtido por ultrassom (preto); INU, inulina padrão (rosa).

O estiramento entre 1500-900 cm^{-1} é típico do estiramento CC do anel piranose, abrangendo as bandas de 1031 cm^{-1} , 1128 cm^{-1} e 1448 cm^{-1} , conforme previamente estabelecido na literatura (TG Barclay et al., 2016; Petkova et al., 2018). Comparações com estudos sobre estruturas variadas de frutanos obtidas da raiz de bardana revelaram características de atribuição semelhantes (L. Li et al., 2021; Liu et al., 2014).

Devido a uma estrutura tridimensional organizada, as moléculas do estado cristalino resultam em bandas mais estreitas, dada a sua rotação restrita. Por outro lado, as moléculas de inulina na fase amorfa giram livremente, criando um estado desordenado caracterizado por bandas largas no espectro (Romano et al., 2018). A fração EPU apresenta bandas marginalmente mais largas que a EPRT, alinhando-a com

INU, que possui menor grau de polimerização (DP) e maior solubilidade (Petkova et al., 2018). Isto é congruente com a proximidade do DP da EPU com a inulina padrão, conforme identificado através de RMN. No entanto, deve notar-se que todos os precipitados apresentam estruturas menos amorfas do que a inulina padrão.

Apolinário et al. (2017) identificaram a banda de estiramento mais ampla, situada em uma região diferente em 3326 cm^{-1} , como indicativa de grupos hidroxila de carboidratos (-OH). A banda em 2929 cm^{-1} é descrita às vibrações de estiramento de ligações simples CH (abrangendo grupos CH, CH₂). Um pico de absorção fraco em torno de 1603 cm^{-1} , ausente na inulina pura, pode ser decorrente de alguma impureza, pois os precipitados não foram purificados (Apolinário et al., 2017). Nenhum dos precipitados apresentou alterações nas posições das bandas de absorção características em comparação com os dados da literatura, sugerindo que os processos de extração não alteraram os grupos funcionais frutanos (X. Lou et al., 2022).

3.4. Difração de raios X (XRD)

O difratograma revelou a cristalização das frações precipitadas e da inulina padrão através de padrões de difração de raios X (Fig. 5B). A identificação de pico para EPRT, EPH e EPU sugeriu a presença de fases amorfas e cristalinas, alinhando-se com o alto grau de polimerização encontrado nos precipitados (Kawai et al., 2011). Os picos críticos observados em 2θ incluíram: $11,63^\circ$, $15,85^\circ$, $18,42^\circ$ e $21,35^\circ$, consistente com estudos anteriores (X. Lou et al., 2022; Saavedra-Leos et al., 2014). Porém, a inulina padrão (INU) não apresentou picos, denotando sua estrutura amorfa.

Os picos de EPH foram mais estreitos e intensos que os demais precipitados, indicando que uma rede cristalina perfeita pode ser alcançada pela obtenção da fração através do extrato quente utilizando refluxo (Cao & Tan, 2005). Uma diminuição na intensidade do pico foi observada da primeira ($2\theta = 10$) para a segunda região ($2\theta = 20$)

em todas as frações, em linha com as observações de X. Lou et al. (2022). A menor cristalinidade observada na EPU pode ser atribuída à destruição de pontes de hidrogênio nas moléculas de inulina por ultrassom em intensidades de sonicação mais baixas (X. Lou et al., 2022). Um peso molecular (Mw) mais elevado foi associado a uma maior perfeição do cristal, sugerindo que quanto menor o Mw, mais fraco e menor poderia ser o cristal (T. Barclay et al., 2016). Mesmo quando comparado ao INU, o precipitado de EPU exibiu uma estrutura mais cristalina.

3.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os precipitados derivados das raízes de *Arctium lappa* foram analisados utilizando microscopia eletrônica de varredura para discernir suas características morfológicas, conforme representado na Figura 6. Uma análise comparativa das microestruturas para as frações EPRT, EPH e EPU revelou propriedades análogas. Estes precipitados apresentaram superfícies marginalmente rugosas, com a fração EPH manifestando uma forma esferóide mais pronunciada. Uma característica comum entre todos os precipitados foi a presença de aglomerados, como pode ser comprovado pela análise.



Fig. 6. Micrografias dos precipitados de *Arctium lappa*. (A) EPRT: precipitado do extrato obtido à temperatura ambiente; (B) EPH: precipitado do extrato obtido a quente; (C) EPU: precipitado do extrato obtido por ultrassom.

A extração de frutanos de *Atractylodis macrocephalae* em solução alcalina resultou em uma estrutura agrupada em formato esferóide com superfície rugosa (X. Li

et al., 2023). Este comportamento resulta da ação do tipo de reagente utilizado, que interage com a superfície da parede do produto.

O frutano seco por aspersão da raiz de *Eremurus spectabilis* resultou em partículas de pequeno diâmetro, formato esférico ou oval e superfície lisa. Microfraturas e rupturas foram observadas na superfície das partículas obtidas pelo método de extração assistida por ultrassom, possivelmente devido ao efeito mecânico da cavitação. Resultados semelhantes foram descritos por Pourfarzad et al. (2015a, b).

3.6 Propriedades reológicas

As propriedades reológicas dos precipitados de *Arctium lappa*, influenciadas por diversas técnicas de extração, foram investigadas. Uma varredura de frequência foi realizada nas temperaturas de 8, 16 e 32 °C para examinar os impactos dos métodos de extração na robustez das frações em diferentes temperaturas. Os módulos de armazenamento (G') e perda (G'') associados estão representados na Figura 7.

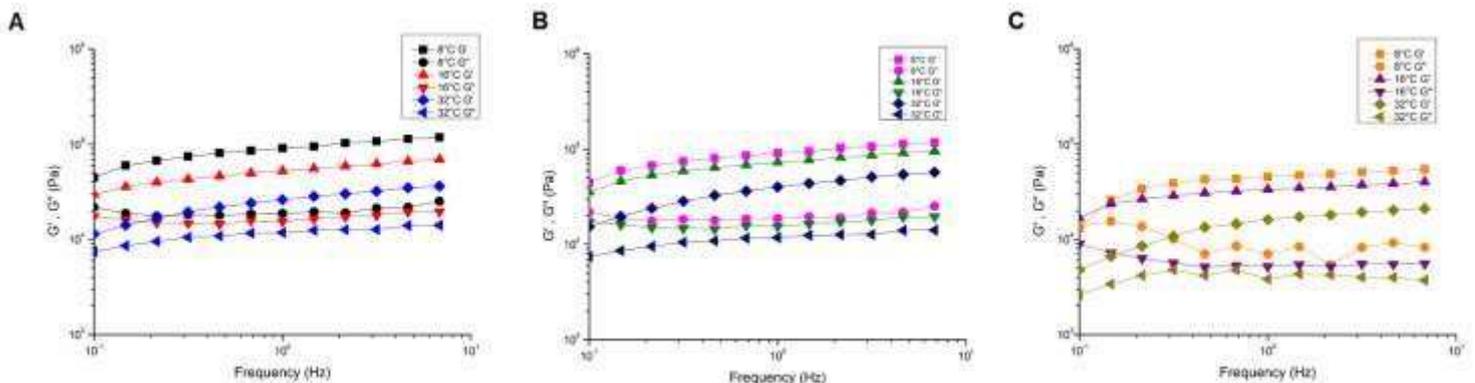


Figura 7. Varreduras de frequência dos precipitados de *Arctium lappa*. (A) EPRT: precipitado do extrato obtido à temperatura ambiente; (B) EPH: precipitado do extrato obtido a quente; (C) EPU: precipitado do extrato obtido por ultrassom. Os desvios padrão foram omitidos para maior clareza; entretanto, o coeficiente de variação das análises replicadas foi de <10% em todos os casos.

Em todas as faixas de temperatura, o módulo G' excedeu o módulo G'' para EPTR, EPH e EPU. Este comportamento indica que as frações possuem propriedades

viscoelásticas, com o módulo elástico dominando. Isso sugere que após a deformação, as amostras tendem a reverter para seus estados iniciais (X. Lou et al., 2022).

Uma fraca dependência de frequência foi observada para G' e G'' em todos os precipitados ao longo da varredura, indicativo de uma estrutura frágil semelhante a um gel (Monroy et al., 2018). De acordo com Kou et al. (2018), uma perda maior o módulo impede a deformação; assim, G' significa a tensão necessária para induzir a deformação da unidade. Os valores do módulo de perda foram elevados para as frações EPH e EPRT em comparação com EPU, implicando maior resistência e elasticidade. Este efeito é consistente com os resultados de as análises estruturais (FTIR e XRD), onde estes precipitados apresentam uma forma mais cristalina e rígida (X. Lou et al., 2022).

O módulo G'' , representando a transformação da energia do gel em calor durante a deformação, também apresentou valores mais elevados para os precipitados EPH e EPTR, refletindo sua natureza viscosa (Kou et al., 2018). O elevado valor do módulo de armazenamento também pode ser atribuído a uma viscosidade potencialmente mais elevada em EPH e EPTR, dado que valores mais elevados de DP e subsequentemente de M_w podem influenciar significativamente as propriedades viscoelásticas do composto maioritário das frações.

Em relação à temperatura, todas as frações a 8 °C exibiram os valores máximos de G' e G'' , seguidas de 16 °C e 32 °C e a 8 °C, EPH e EPRT apresentaram valor máximo idêntico de G' de $1,18 \times 10^5$ Pa. O aumento da temperatura diminui a interação coesiva entre as moléculas, reduzindo a resistência ao fluxo do fluido, justificando os maiores valores de módulo obtidos em temperaturas mais baixas (Rodríguez-González et al., 2019). Porém, a 16 °C, o EPH registrou valor máximo de $9,5 \times 10^4$ Pa, enquanto EPRT alcançou apenas $6,2 \times 10^4$ Pa. Estas observações sugerem que as frações apresentam maior viscosidade a temperaturas reduzidas. Em relação à EPU, seu maior valor de G' a

8 °C foi de apenas $5,4 \times 10^4$ Pa, significativamente inferior ao de EPH e EPRT. Além de fragmentar a cadeia da inulina (RMN), o ultrassom de baixa intensidade também pode alterar a força da ligação de hidrogênio, rompendo a estrutura e possivelmente enfraquecendo a EPU (X. Lou et al., 2022).

A Figura 8 apresenta o gráfico de viscosidade dinâmica (η') para as diversas frações a 8, 16 e 32 °C. Consistente com os módulos G' e G'' , cada fração demonstrou maior viscosidade em temperaturas mais baixas, e entre as frações, EPH apresentou maior viscosidade.

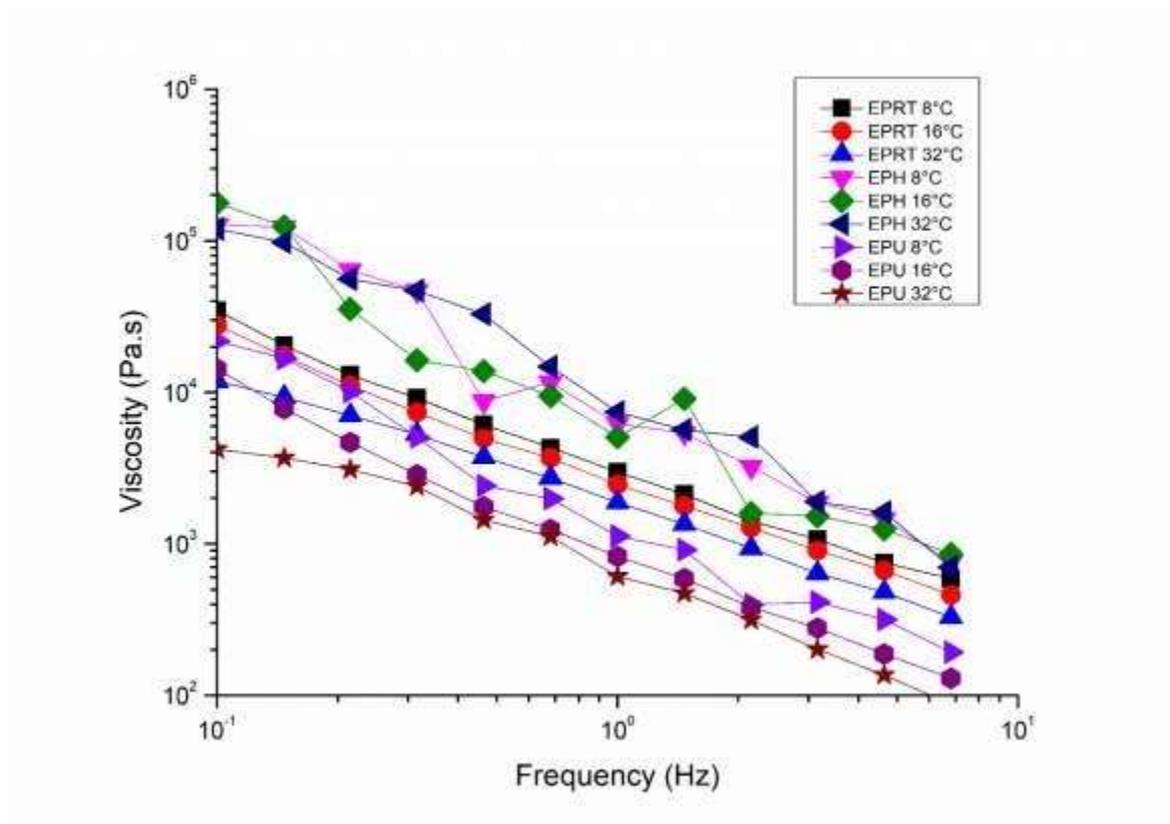


Fig. 8. Viscosidade dinâmica dos precipitados de *Arctium lappa*. EPRT: precipitado do extrato obtido à temperatura ambiente; EPH: precipitado do extrato obtido a quente; EPU: precipitado do extrato obtido por ultrassom. Os desvios padrão foram omitidos para maior clareza; entretanto, o coeficiente de variação das análises replicadas foi de <10% em todos os casos.

Variações na viscosidade do EPH foram relacionadas às mudanças de temperatura. A fração apresentou viscosidade aumentada a 16 °C em frequências mais

baixas, mas uma viscosidade mais alta foi observada a 8 °C à medida que a frequência aumentava. EPRT apresentou maiores valores de η' a 8 °C, enquanto EPU a 8 e 16 °C apresentou melhor viscosidade em frequências mais baixas do que EPRT a 32 °C. A ligeira diferença observada pode ser porque o precipitado apresentou resistência reduzida em frequências mais baixas e temperaturas mais altas, independentemente da extração. No entanto, o impacto do ultrassom na viscosidade da EPU tornou-se aparente com o aumento da frequência. O processo de extração por ultrassom induziu a despolimerização da inulina, gerando um composto de menor PM de baixa viscosidade (Lingyun et al., 2007; X. Lou et al., 2022).

À medida que os valores de frequência aumentaram em todas as temperaturas, os valores de η' de EPU foram inferiores aos de todos os outros precipitados, provavelmente devido ao menor grau de polimerização. Esses resultados estão alinhados com a superioridade da consistência de EPRT e EPH previamente observada a partir dos valores de G' e G'' .

4. Conclusão

Em conclusão, o estudo obteve com sucesso um frutano do tipo inulina com percentagens estimadas significativas de inulina e grau de polimerização (DP). Notavelmente, descobriu-se que as técnicas de extração empregadas influenciam potencialmente os atributos estruturais e reológicos do composto resultante. Nenhuma dessas metodologias alterou significativamente sua estrutura química, conforme confirmado pelos espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), que se alinham estreitamente com a literatura sobre frutanos do tipo inulina.

Uma observação digna de nota foi que a cristalinidade relativa dos precipitados sofreu um impacto negativo devido à extração assistida por ultrassom de baixa potência.

Os precipitados, do ponto de vista reológico, apresentaram propriedades viscoelásticas. As influências na viscosidade aparente, bem como nos módulos G' e G'' dos precipitados de EPU, foram observadas e supõe-se que estejam correlacionadas com a fragmentação da cadeia de inulina, o que levou a uma consequente redução no DP e no peso molecular desta fração.

A extração a quente surgiu como um método potencialmente mais eficaz e menos destrutivo, para obtenção de frutanos do tipo inulina a partir da raiz de bardana, sendo recomendada para aplicações que visam este composto como melhorador de propriedades tecnológicas. Estes resultados fornecem informações valiosas, apoiando a seleção de uma metodologia de extração para derivar um composto com potencial superior para melhorar as características texturais de produtos alimentícios, sendo as aplicações em produtos lácteos probióticos considerado uma tendência emergente. Portanto, este estudo contribui com uma base robusta para pesquisas futuras e apresenta um avanço significativo na otimização das técnicas de extração de inulina.

Reconhecimento

Autores gostaria de _ agradecer o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ); a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); e COMCAP/ UEM.

Referências

- Akal, C. (2022). Utilização de fibra alimentar como estabilizador em laticínios: β - glucanos e frutanos do tipo inulina. *Jornal de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05651-6>
- Apolinário, AC, de Carvalho, EM, de Lima Damasceno, BPG, da Silva, PCD, Converti, A., Pessoa, A., & da Silva, JA (2017). Extração, isolamento e caracterização de inulina de *Agave troncos de sisalana* . *Culturas e produtos industriais*, 108, 355–362. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.045>

- Ashwell, G. (1957). *Análise colorimétrica de açúcares Methods in Enzymology* (3ª ed.), 73-105.
- Barclay, TG, Rajapaksha, H., Thilagam, A., Qian, G., Ginic -Markovic, M., Cooper, PD, Gerson, A., & Petrovsky, N. (2016). Caracterização física e modelagem in silico da conformação do polímero de inulina durante a formação de partículas adjuvantes de vacina. *Polímeros de carboidratos*, 143, 108–115. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.01.062>
- Barclay, T., Ginic -Markovic, M., Cooper, P., & Petrovsky, N. (2016). Inulina – um polissacarídeo versátil com múltiplos usos farmacêuticos e químicos alimentares. *Jornal de Excipientes e Produtos Químicos Alimentares*, 1 (3), 1132.
- Barclay, T., Ginic -Markovic, M., Johnston, MR, Cooper, PD, & Petrovsky, N. (2012). Análise da hidrólise da inulina utilizando espectroscopia de RMN de 1H em tempo real. *Pesquisa de carboidratos*, 352, 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2012.03.001>
- Barros, JH e Franco, CM (2022). Alterações na reologia, qualidade e envelhecimento de pães brancos enriquecidos com inulina de polimerização média. *Ciência e Tecnologia Alimentar Internacional*, 28 (1), 32–39. <https://doi.org/10.1177/1082013221991259>
- Blecker, C., Fougnyes, C., Van Herck, J.-C., Chevalier, J.-P., & Paquot, M. (2002). Estudo cinético da hidrólise ácida de diversas amostras de oligofrutose. *Jornal de Química Agrícola e Alimentar*, 50 (6), 1602–1607. <https://doi.org/10.1021/jf010905b>
- Caleffi, ER, Krausová, G., Hyršlová, I., Paredes, LLR, dos Santos, MM, Sasaki, GL, Gonçalves, RAC, & de Oliveira, AJB (2015). Isolamento e atividade prebiótica de frutanos do tipo inulina extraídos de raízes de *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen. *Jornal Internacional de Macromoléculas Biológicas*, 80, 392–399. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.06.053>
- Cao, Y. e Tan, H. (2005). Estudo de estruturas cristalinas de materiais celulósicos hidrolisados enzimáticos por difração de raios X. *Tecnologia Enzimática e Microbiana*, 36 (2–3), 314–317. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2004.09.002>
- Cérantola, S., Kervarec, N., Pichon, R., Magné, C., Bessieres, M.-A., & Deslandes, E. (2004). Caracterização por RMN de frutooligossacarídeos do tipo inulina como os principais carboidratos solúveis em água de *Matricaria maritima* (L.). *Pesquisa de carboidratos*, 339 (14), 2445–2449. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2004.07.020>
- Chang, HJ, Huang, WT, Tsao, DA, Huang, KM, Lee, SC, Lin, SR, Yang, SC e Yeh, CS (2009). Identificação e autenticação de bardana (*Arctium lappa* Linn) usando sequenciamento de PCR. *Fooyin Journal of Health Sciences*, 1 (1), 28–32. [https://doi.org/10.1016/S1877-8607\(09\)60005-9](https://doi.org/10.1016/S1877-8607(09)60005-9)
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., & Abert-Vian, M. (2017). Extração assistida por ultrassom de alimentos e produtos naturais. Mecanismos, técnicas, combinações, protocolos e aplicações. Uma revisão. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsench.2016.06.035>
- Chen, X., Wang, Z. e Kan, J. (2021). Polissacarídeos de caules e folhas de gengibre: Efeitos da extração assistida por ultrassom de dupla e tripla frequência nas características estruturais e atividades biológicas. *Biociência Alimentar*, 42, 101166. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101166>
- Cotrim Ribeiro, ST, Oliveira da Silva, TF, Castro, JC, Pereira Cabral, MR, Alves de Abreu Filho, B., Braz de Oliveira, AJ, & Correia Gonçalves, RA (2022). Caracterização

- química e bioatividades de frutanos de *Pfaffia* raízes de *glomerata*. *Carboidratos Bioativos e Fibra Alimentar*, 27, 100303. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2021.100303>
- De Souza Ferreira, SB, Da Silva, JB, Borghi-Pangoni, FB, Junqueira, MV, & Bruschi, ML (2017). Correlação linear entre propriedades reológicas, mecânicas e mucoadesivas de blendas poliméricas de polícarbófilos para aplicações biomédicas. *Jornal do Comportamento Mecânico de Materiais Biomédicos*, 68, 265–275. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.02.016>
- Dubois, M., Gilles, KA, Hamilton, JK, Rebers, PT, & Smith, F. (1956). Método colorimétrico para determinação de açúcares e substâncias relacionadas. *Química Analítica*, 28, 350–356.
- Fu, Y.-P., Li, L.-X., Zhang, B.-Z., Paulsen, BS, Yin, Z.-Q., Huang, C., Feng, B., Chen, X.-F., Jia, R.-R., Song, X., Ni, X.-Q., Jing, B., Wu, F., & Zou, Y.-F. (2018). Caracterização e atividade prebiótica *in vitro* de frutano tipo inulina de *Codonopsis* raízes de *pilosula*. *Polímeros de carboidratos*, 193, 212–220. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.065>
- García-Villalba, WG, Rodríguez-Herrera, R., Ochoa-Martínez, LA, Rutiaga-Quiñones, OM, López, MG, Gallegos-Infante, JA, Bermúdez-Quiñones, G., & González-Herrera, SM (2023). Estudo comparativo de quatro métodos de extração de frutanos (agavinas) de *Agave durangensis*: Tratamento térmico, ultrassom, micro-ondas e ultrassom-microondas simultâneos. *Química Alimentar*, 415, 135767. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135767>
- Jiang, Y. yuan, Yu, J., Li, Y. bo, Wang, L., Hu, L., Zhang, L., & Zhou, Y. Hong. (2019). Extração e atividades antioxidantes de polissacarídeos de raízes de *Arctium lappa* L. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123, 531–538. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.087>
- Kardošová, A., Ebringerová, A., Alföldi, J., Nosál'ová, G., Fraňová, S., & Hříbalová, V. (2003). Um frutano biologicamente ativo das raízes de *Arctium lappa* L., var. Hércules. *Jornal Internacional de Macromoléculas Biológicas*, 33 (1–3), 135–140. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(03\)00079-5](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(03)00079-5)
- Kawai, K., Fukami, K., Thanatuksorn, P., Viriyarattanasak, C., & Kajiwara, K. (2011). Efeitos do teor de umidade, peso molecular e cristalinidade na temperatura de transição vítrea da inulina. *Polímeros de carboidratos*, 83 (2), 934–939. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.09.001>
- Konar, N., Palabiyik, I., Toker, OS, Polat, DG, Kelleci, E., Pirouzian, HR, Akcicek, A., & Sagdic, O. (2018). Chocolate branco probiótico convencional e sem açúcar: Efeito da inulina DP em diversas propriedades de qualidade e viabilidade de probióticos. *Jornal de Alimentos Funcionais*, 43, 206–213. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.016>
- Kou, X., Luo, D., Li, Y., Xu, B., Zhang, K., Li, P., Li, X., Han, S., & Liu, J. (2018). Efeito da inulina com diferentes graus de polimerização nas propriedades texturais e reológicas do amido de trigo - Efeito da inulina nas propriedades do gel do amido. *Jornal Internacional de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 53 (11), 2576–2585. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13852>
- Lee, G., Son, Y., Jeon, Y., Kang, H. e Hwang, I. (2015). Mudanças nas propriedades físico-químicas e características sensoriais da bardana (*Arctium lappa*) durante repetidos procedimentos de vaporização e secagem. *Jornal Coreano de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 47 (3), 336–344. <https://doi.org/10.9721/KJFST.2015.47.3.336>

- Lee, NY, Lee, JW e Jo, C. (2010). Efeitos da irradiação γ na atividade biológica de extratos de bardana (*Arctium lappa* L.). *Ciência Alimentar e Biotecnologia*, 19 (1), 165–173. <https://doi.org/0.1007/s10068-010-0023-0>.
- Alavanca, M. (1972). Uma nova reação para determinação colorimétrica de carboidratos. *Bioquímica Analítica*, 47 (1), 273–279. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(72\)90301-6](https://doi.org/10.1016/0003-2697(72)90301-6)
- Li, D., Kim, JM, Jin, Z. e Zhou, J. (2008). Eficácia prebiótica da inulina extraída da bardana comestível. *Anaeróbio*, 14 (1), 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2007.10.002>
- Li, K., Zhu, L., Li, H., Zhu, Y., Pan, C., Gao, X., & Liu, W. (2019). Caracterização estrutural e propriedades reológicas de uma pectina com atividade anticonstipação das raízes de *Arctium lappa* L. *Carbohydrate Polymers*, 215 (janeiro), 119–129. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.051>
- Li, L., Qiu, Z., Dong, H., Ma, C., Qiao, Y. e Zheng, Z. (2021). Caracterização estrutural e atividades antioxidantes de um polissacarídeo neutro e três polissacarídeos ácidos das raízes de *Arctium lappa* L.: Uma comparação. *Jornal Internacional de Macromoléculas Biológicas*, 182, 187–196. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.177>
- Li, X.-J., Xiao, S.-J., Chen, J., & Xu, H.-R. (2023). Frutanos do tipo inulina obtidos de *Atractylodis Macrocephalae* por extração de água/álcali e avaliação imunorregulatória. *Jornal Internacional de Macromoléculas Biológicas*, 230, 123212. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123212>
- Li, Y., Ma, X. e Liu, X. (2019). Propriedades físico-químicas e reológicas da inulina reticulada com diferentes graus de polimerização. *Hidrocolóides Alimentares*, 95, 318–325. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.026>
- Lianfu, Z. e Zelong, L. (2008). Otimização e comparação da extração assistida por ultrassom/microondas (UMAE) e extração assistida por ultrassom (EAU) de licopeno de tomate. *Sonoquímica Ultrassônica*, 15, 731–737. <https://doi.org/10.1016/j.ultsench.2007.12.001>
- Lingyun, W., Jianhua, W., Xiaodong, Z., Da, T., Yalin, Y., Chenggang, C., Tianhua, F., & Fan, Z. (2007). Estudos sobre as condições técnicas de extração de inulina de tubérculos de alcachofra de Jerusalém. *Jornal de Engenharia de Alimentos*, 79 (3), 1087–1093. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.03.028>
- Liu, W., Wang, J., Zhang, Z., Xu, J., Xie, Z., Slavin, M., & Gao, X. (2014). *Em vitro* e *in vivo* atividade antioxidante de um frutano das raízes de *Arctium lappa* L. *International Journal of Biological Macromolecules*, 65, 446–453. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.01.062>
- Lopez, MG, Mancilla-Margalli, NA e Mendoza-Diaz, G. (2003). Estruturas Moleculares de Frutanos de *Agave tequilana* Weber var. azul. *Jornal de Química Agrícola e Alimentar*, 51 (27), 7835–7840. <https://doi.org/10.1021/jf030383v>
- Lou, X., Luo, D., Yue, C., Zhang, T., Li, P., Xu, Y., Xu, B., & Xiang, J. (2022). Efeito do tratamento com ultrassom nas propriedades físico-químicas e estruturais da inulina de cadeia longa. *LWT*, 154, 112578. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112578>
- Lou, Z., Wang, H., Wang, D. e Zhang, Y. (2009). Preparação de pó de fibra alimentar rica em inulina e fenóis a partir de raiz de bardana. *Polímeros de carboidratos*, 78 (4), 666–671. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.05.029>
- Martinez-Guerra, E., & Gude, VG (2014). Efeito sinérgico de irradiações simultâneas de

- microondas e ultrassom na transesterificação de óleo vegetal residual. *COMBUSTÍVEL*, 137, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.07.087>
- Masmoudi, M., Besbes, S., Chaabouni, M., Robert, C., Paquot, M., Blecker, C., & Attia, H. (2008). Otimização da extração de pectina de subproduto de limão com suco de tâmara acidificado utilizando metodologia de superfície de resposta. *Polímeros de carboidratos*, 74 (2), 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.02.003>
- Miao, Y.-Z., Lin, Q., Cao, Y., He, G.-H., Qiao, D.-R., & Cao, Y. (2011). Extração de polissacarídeos solúveis em água (WSPS) de trufa chinesa e sua aplicação em iogurte congelado. *Polímeros de carboidratos*, 86 (2), 566–573. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.04.071>
- Milani, E., Koocheki, A., & Golimovahhed, QA (2011). Extração de inulina da raiz de bardana (*Arctium lappa*) por ultrassom de alta intensidade. *Jornal Internacional de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 46 (8), 1699–1704. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02673.x>
- Monroy, Y., Rivero, S. e García, MA (2018). Propriedades microestruturais e tecnofuncionais da fécula de mandioca modificada por ultrassom. *Ultrasonics Sonochemistry*, 42, 795–804. <https://doi.org/10.1016/j.ultsench.2017.12.048>
- Ngamlert, C., Vathanakul, S., Leelawat, B., Supawong, S., & Prinyawiwatkul, W. (2023). O impacto da adição de inulina e do processamento de alta pressão nas características físicas do pudim de clara de ovo com sabor de morango. *Jornal Internacional de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 58 (3), 1230–1240. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16272>
- Petkova, N., Genchev, G., Vassilev, D., Koleva, M., & Krastanov e Panteley Denev, A. (2018). Isolamento assistido por microondas e acetilação de inulina de tubérculos *Helianthus Tuberosus L.* *Jornal de Materiais Renováveis*, 6 (7), 671–679. <https://doi.org/10.32604/JRM.2018.00001>
- Petkova, N., Hambarlyiska, I., Tumbarski, Y., Vrancheva, R., Raeva, M., & Ivanov, I. (2021). Composição fitoquímica e propriedades antimicrobianas de extratos de raízes de bardana (*Arctium lappa L.*). *Pesquisa de Biointerface em Química Aplicada*, 12 (3), 2826–2842. <https://doi.org/10.33263/BRIAC123.28262842>
- Pohlentz, JC, Gallala, N., Kosciow, K., & Hövels, M. (2022). "Comportamento de crescimento de microrganismos probióticos em frutanos à base de levan e inulina ". *Jornal de Alimentos Funcionais*, 99, 105343. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105343>
- Pourfarzad, A., Habibi Najafi, MB, Haddad Khodaparast, MH, e Hassanzadeh Khayyat, M. (2015 a). Caracterização do frutano extraído de *Eremurus tubérculos spectabilis*: um estudo comparativo em diferentes condições técnicas. *Jornal de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 52 (5), 2657–2667. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1310-1>
- Pourfarzad, A., Najafi, MBH, Khodaparast, MHH e Khayyat, MH (2015b). Propriedades físico-químicas do frutano da raiz de serish (*Eremurus spectabilis*) afetadas por métodos de secagem. *Garantia de Qualidade e Segurança de Culturas e Alimentos*, 7 (5), 687–696. <https://doi.org/10.3920/QAS2014.0447>
- Equipe principal R. (2016). R: Uma linguagem e ambiente para computação estatística. *Viena: Fundação R para Estatística Informática.*
- Rodríguez-González, F., Parra-Montes de Oca, MA, Ávila-Reyes, SV, Camacho-Díaz, BH, Alamilla -Beltrán, L., Jiménez- Aparicio, AR, & Arenas- Ocampo, ML (2019). Um

- estudo reológico de chicória e agave tequilana frutanos para uso em alimentos. *LWT*, 115, 108137. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.035>
- Romano, N., Araujo-Andrade, C., Lecot, J., Mobili, P., & Gómez-Zavaglia, A. (2018). Espectroscopia no infravermelho como metodologia alternativa para avaliar o efeito de características estruturais nas propriedades físico-químicas de inulinas. *Pesquisa Alimentar Internacional*, 109, 223–231. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.032>
- Rubel, IA, Pérez, EE, Genovese, DB, & Manrique, GD (2014). *Em vitro* atividade prebiótica de carboidratos ricos em inulina extraídos da alcachofra de Jerusalém (*Helianthus tuberosus* L.) em diferentes tempos de armazenamento por *Lactobacillus paracasei*. *Pesquisa Alimentar Internacional*, 62, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.02.024>
- Saavedra- Leos, MZ, Leyva -Porrás, C., Martínez-Guerra, E., Pérez-García, SA, Aguilar-Martínez, JA, & Álvarez-Salas, C. (2014). Propriedades físicas da inulina e do suco de inulina-laranja: Caracterização física e aplicação tecnológica. *Polímeros de carboidratos*, 105, 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.12.079>
- Sánchez-Madrigal, M. Á., Amaya-Guerra, CA, Quintero-Ramos, A., Báez-González, JG, Núñez-González, MA, Ruiz-Gutiérrez, MG, & Garzón-Tiznado, JA (2017). Extração assistida por ultrassom de frutanos de agave (*Agave tequilana* Weber var. azul) em diferentes potências de ultrassom e proporções sólido-líquido. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 37(2), 261–268. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.21116>
- Scott, KP, Grimaldi, R., Cunningham, M., Sarbini, SR, Wijeyesekera, A., Tang, MLK, Lee, JC-Y., Yau, YF, Ansell, J., Theis, S., Yang, K., Menon, R., Arfsten, J., Manurung, S., Gourineni, V., & Gibson, GR (2020). Desenvolvimentos na compreensão e aplicação de prebióticos na pesquisa e na prática – um artigo da conferência ISAPP. *Jornal de Microbiologia Aplicada*, 128 (4), 934–949. <https://doi.org/10.1111/jam.14424>
- Shanshan, W., Meigui, H., Chunyang, L., Zhi, C., Li, C., Wuyang, H., Ying, L., & Jin, F. (2021). Fabricação de complexos polissacarídeos de ovalbumina-bardana como estabilizadores interfaciais para transportadores lipídicos nanoestruturados: Efeitos do tratamento com ultrassom de alta intensidade. *Hidrocolóides alimentares*, 111 (agosto de 2020), 106407. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106407>
- Shao, P., Feng, J., Sun, P., Xiang, N., Lu, B., & Qiu, D. (2020). Avanços recentes na melhoria da estabilidade da emulsão alimentar por polissacarídeos vegetais. *Food Research International*, 137, 109376. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109376>
- Shen, S., Zhou, C., Zeng, Y., Zhang, H., Hossen, A., Dai, J., Li, S., Qin, W., & Liu, Y. (2022). Estruturas, propriedades físico-químicas e bioativas de polissacarídeos extraídos de *Panax notoginseng* por extração ultrassônica/assistida por micro-ondas. *LWT*, 154, 112446. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112446>
- Sirbu, A. e Arghire, C. (2017). Pão funcional: Efeito da adição de produtos do tipo inulina na reologia da massa e na qualidade do pão. *Journal of Cereal Science*, 75, 220–227. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.03.029>
- Sun, Q., Zhu, L., Li, Y., Cui, Y., Jiang, S., Tao, N., Chen, H., Zhao, Z., Xu, J., & Dong, C. (2020). Um novo frutano do tipo inulina de *Asparagus cochinchinensis* e seu impacto benéfico na microbiota intestinal humana. *Polímeros de carboidratos*, 247, 116761. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116761>
- Tian, K., Wang, J., Zhang, Z., Cheng, L., Jin, P., Singh, S., Prior, BA, e Wang, Z.-X.

- (2019). Preparação enzimática de xarope de bardana rico em frutooligosacarídeos e com propriedades antioxidantes aprimoradas. *Jornal Eletrônico de Biotecnologia*, 40, 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2019.04.009>
- Tran, SH, Mac, TTH, Vu, TTA, Cao, CK, Le, THH, Dao, VD, Nguyen, CB, Nguyen, THY e Povydysh, MN (2022). Análise quantitativa de frutanos em alimentos funcionais por cromatografia de troca aniônica de alta eficiência com detecção amperométrica pulsada. *Carboidratos Bioativos e Fibra Alimentar*, 28, 100320. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2022.100320>
- Verma, DK, Patel, AR, Thakur, M., Singh, S., Tripathy, S., Srivastav, PP, Chávez-González, ML, Gupta, AK, & Aguilar, CN (2021). Uma revisão da composição e toxicologia dos frutanos e suas aplicações na alimentação e na saúde. *Jornal de Composição e Análise de Alimentos*, 99, 103884. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103884>
- Wang, R., Shan, H., Zhang, G., Li, Q., Wang, J., Yan, Q., Li, E., Diao, Y., & Wei, L. (2022). Um frutano do tipo inulina (AMP1-1) da *Atractylodes macrocephala* com atividade anti-perda óssea por ausência de peso. *Polímeros de carboidratos*, 294, 119742. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119742>
- Wang, Y., Zhang, N., Kan, J., Zhang, X., Wu, X., Sun, R., Tang, S., Liu, J., Qian, C., & Jin, C. (2019). Caracterização estrutural do polissacarídeo solúvel em água de *Arctium lappa* e seus efeitos em camundongos com colite. *Polímeros de carboidratos*, 213, 89–99. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.090>
- Xu, J., Chen, D., Liu, C., Wu, X.-Z., Dong, C.-X., & Zhou, J. (2016). Caracterização estrutural e efeitos antitumorais de um frutano tipo inulina de *Atractylodes chinensis*. *Jornal Internacional de Macromoléculas Biológicas*, 82, 765–771. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.10.082>
- Yosri, N., Alsharif, SM, Xiao, J., Musharraf, SG, Zhao, C., Saeed, A., Gao, R., Said, NS, Di Minno, A., Daglia, M., Guo, Z., Khalifa, SAM e El-Seedi, HR (2023). *Arctium lappa* (Bardana): Insights do potencial etnofarmacológico, constituintes químicos, estudos clínicos, utilidade farmacológica e nanomedicina. *Biomedicina e Farmacoterapia*, 158, 114104. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.114104>
- Zhang, N., Wang, Y., Kan, J., Wu, X., Zhang, X., Tang, S., Sun, R., Liu, J., Qian, C., & Jin, C. (2019). *Na Vivo* e *in vitro* efeitos antiinflamatórios do polissacarídeo solúvel em água de *Arctium lappa*. *Jornal Internacional de Macromoléculas Biológicas*, 135, 717–724. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.171>
- Zhang, X., Zhang, N., Kan, J., Sun, R., Tang, S., Wang, Z., Chen, M., Liu, J., & Jin, C. (2020). Atividade antiinflamatória de polissacarídeos solúveis em álcalis de *Arctium lappa* L. e seu efeito na microbiota intestinal de camundongos com inflamação. *Jornal Internacional de Macromoléculas Biológicas*, 154, 773–787. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.111>
- Zhang, Z., Wang, X., Liu, C. e Li, J. (2016). Degradação, atividade antioxidante e antimutagênica do polissacarídeo mucilaginoso de *Dioscorea oposito*. *Carboidrato Polímeros*, 150, 227–231. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.034>