

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

KAHLILE YOUSSEF ABOUD

FIBRAS DIETÉTICAS DE FRUTAS NATIVAS BRASILEIRAS (MARACUJÁ E
TUCUM): CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL, REOLOGIA E ATIVIDADE
GASTROPROTETORA DE FRAÇÕES SELECIONADAS

CURITIBA

2019

KAHLILE YOUSSEF ABOUD

FIBRAS DIETÉTICAS DE FRUTAS NATIVAS BRASILEIRAS (MARACUJÁ E
TUCUM): CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL, REOLOGIA E ATIVIDADE
GASTROPROTETORA DE FRAÇÕES SELECIONADAS

Tese apresentada como requisito parcial para
obtenção do grau de Doutor em Bioquímica, no curso
de Pós Graduação em Ciências -Bioquímica, Setor de
Ciências Biológicas, da Universidade Federal do
Paraná.

Orientadora: Profª. Dra. Lucimara Mach Côrtes
Cordeiro

CURITIBA

2019

Universidade Federal do Paraná. Sistema de Bibliotecas.
Biblioteca de Ciências Biológicas.
(Dulce Maria Bieniara – CRB/9-931)

Abboud, Kahlile Youssef

Fibras dietéticas de frutas nativas brasileiras (maracujá e tucum):
caracterização estrutural, reologia e atividade gastroprotetora de frações
selecionadas. / Kahlile Youssef Abboud. – Curitiba, 2019.
148 p.: il.

Orientadora: Lucimara Mach Côrtes Cordeiro

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências
Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências - Bioquímica.

1. Fibras na dieta 2. Polissacarídeos 3. Pectinas 4. Frutas 5.
Arecaceae I. Título II. Cordeiro, Lucimara Mach Côrtes III. Universidade
Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-
Graduação em Ciências - Bioquímica.

CDD (20. ed.) 613.26



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS
(BIOQUÍMICA) - 40001016003P2

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS (BIOQUÍMICA) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **KAHILE YOUSSEF ABBoud** intitulada: **Fibras dietéticas de frutas nativas brasileiras (maracujá e tucum): caracterização estrutural, reologia e atividade gastroprotetora de frações selecionadas.**, sob orientação da Profa. Dra. LUCIMARA MACH CORTES CORDEIRO, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa. A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 21 de Outubro de 2019.

LUCIMARA MACH CORTES CORDEIRO

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

MARIA HELENE GIOVANETTI CANTERI

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ)

ALEXANDRA ACCO

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

THALES RICARDO CIPRIANI

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

AGRADECIMENTOS

Agradecer é reconhecer. Reconhecer que toda jornada tem momentos bons e ruins e que ambos são passageiros. Reconhecer o valor de quem esteve sempre ao meu lado, independente do esforço e do trabalho.

Portanto, primeiramente devo agradecer à minha mãe, que apesar de todos os problemas, me ajudou imensamente nesta fase, sempre com muito amor, carinho e disposição. Foi ela quem aguentou minha bagunça, meu mau humor e muitas vezes meu desespero. Mas também era ela quem estava presente nos momentos de alegria, na primeira publicação e em todas as conquistas. Agradeço também o meu pai e meu irmão Felipe. E, além deles ao Sajih, que mesmo sendo uma criança, me faz, todos os dias, enxergar o mundo de outra maneira.

Agradeço à Prof. Lucimara, minha orientadora, pela confiança, pela orientação, pela amizade e por todas as conquistas deste período. Seu aceite, foi crucial nessa jornada e na minha vida. Muito obrigada!

Às amigas que a vida me deu, Marina, Camila e Débora, que apesar da minha ausência, sempre estiveram presentes e sempre me ajudaram. Nossa amizade foi e sempre será muito importante.

Aos amigos que o doutorado me deu, Arquimedes, Rafael, Kimura, Bernardo Adamara, Juliane, Gabi, Luis, Léo, Diego e Maria. Pessoas incríveis, inteligentes e que também me apoiaram muito nessa caminhada. Ao Arquimedes tenho um agradecimento especial, pois ele me ajudou imensamente com todo seu conhecimento, disposição e boa vontade. Aos professores Guilherme e Marcelo Mueller, por todo conhecimento e amizade. À Rosane pela amizade e pelas análises de GC.

Agradeço especialmente à prof. Fernanda Simas pela paciência e boa vontade para ensinar a reologia, que, diga-se de passagem, é uma ciência complicada. Pela sua amizade, pela companhia e pelas conversas que sempre foram muito felizes e agradáveis.

Agradeço a prof. Maria Fernanda e seus alunos, Bruna e Jorge pelos experimentos de atividade biológica e por todos os ensinamentos que todos eles me proporcionaram. A banca interna, prof. Thales e Sheila, pelas correções e disposição em ajudar. Ao prof. Mario Maróstica e à Prof. Cintia por ceder materiais para estudo e pela colaboração com a pesquisa.

Agradeço ao programa de pós-graduação em Bioquímica, à CAPES e todas as agências financiadoras.

RESUMO

As fibras dietéticas (FD) reconhecidamente apresentam efeitos benéficos à saúde quando consumidas em quantidades adequadas. Apesar disso, pouca atenção é dada para definir e reportar em detalhes as FD utilizadas em pesquisas, suas fontes, bem como suas características estruturais. As frutas são fontes naturais de FD, tanto solúveis como insolúveis. O maracujá é uma fruta consumida na forma de suco e sua casca, uma rica fonte de FD, é considerada um resíduo industrial ou domiciliar e, geralmente é descartada. Estudos demonstraram que o consumo da casca na forma de farinha auxilia na manutenção dos níveis sanguíneos de glicose e colesterol em humanos. Além das propriedades na saúde, as pectinas, que compõem as FD solúveis da casca do maracujá, também podem apresentar propriedades tecnológicas para aplicações industriais em alimentos. O tucum é uma fruta de palmeira, nativa do Brasil, consumida por populações indígenas e pouco conhecida e explorada comercialmente. Estudos relataram que seu conteúdo de compostos antioxidantes é o maior dentre as frutas do cerrado, com atividade antioxidante, anti-inflamatória e de proteção contra o envelhecimento em modelos animais. Para tanto, o presente estudo teve como objetivo extrair, purificar e caracterizar a estrutura química de polissacarídeos que constituem as FD, solúveis e insolúveis presentes na casca de maracujá e na polpa do tucum. A fibra solúvel foi isolada da casca do maracujá pelo método enzimático-gravimétrico e a análise química apresentou alta concentração de ácidos urônicos (92%). Isto foi confirmado pela análise de RMN-¹³C, com sinais característicos de uma homogalacturonana com cerca de 70% de metil esterificação, sendo classificada como altamente metil-esterificada. Essa pectina apresentou perfil homogêneo pela análise de HPSEC e massa molecular de 53 kDa. Quando analisada quanto ao seu potencial gastroprotetor em modelo de ulcera gástrica induzida por etanol em ratos, essa pectina foi capaz de reduzir significativamente as lesões gástricas quando administrada tanto por via oral como intraperitoneal, nas doses de 0,1, 1 e 10 mg/kg. Além disso, também foi capaz de prevenir a depleção dos níveis de GSH e muco gástrico, demonstrando atividade gastroprotetora no modelo analisado. As análises de comportamento reológico dessa pectina demonstraram um perfil distinto ao de pectinas altamente metil esterificadas (HMP) de outras fontes. A HMP da casca do maracujá gelificou sem necessitar a adição de co-soluto (sacarose) ou acidificação do meio. As análises de viscosidade e os testes dinâmicos oscilatórios das dispersões aquosas, em concentrações de 2% e 4% (p/p) demonstraram comportamento não-Newtoniano pseudoplástico e de gel, onde os valores de G' foram superiores a G'' em toda a faixa de frequência avaliada. Essa fração também foi analisada na presença de sacarose (25% ou 50% p/p) em pH 3, com aumento da viscosidade e da força do gel, no entanto, não tão expressivo como observado para outras HMP. As FD do tucum também foram extraídas pelo método enzimático gravimétrico, e as frações solúvel e insolúvel passaram por processos de purificação. A fração solúvel foi tratada com solução de Fehling, enquanto que a insolúvel com solução alcalina para extração de hemiceluloses. As frações de sobrenadante de Fehling e sobrenadante da extração alcalina demonstraram maior proporção de hemiceluloses, principalmente arabinoxilanas em relação às pectinas. Ambas as frações demonstraram sinais em δ 101,5 e δ 107,0 indicando a presença de β -Xylp e α -L-Araf, no espectro de RMN-¹³C. A presença em maior proporção dos derivados metilados 2,3-Me₂-Xyl e 2,3,5-Me₃-Ara confirmaram a presença de arabinoxilanas em ambas as frações. A presença de AX em palmeiras da família Arecaceae já foi descrita na literatura. Os resultados do presente estudo suportam a hipótese de que as espécies da

família Arecaceae podem conter parede celular com característica de ambas as classes de plantas, comelinídeas e não comelinídeas, reforçando a ideia anteriormente proposta por outros autores de que os membros da família Arecaceae são intermediários entre as comelinídeas e não comelinídeas na evolução.

Palavras-chave: fibras dietéticas; polissacarídeos; pectinas; frutas nativas; efeito anti-úlceras; maracujá; tucum; reologia; Arecaceae; arabinoxilanas.

ABSTRACT

Dietary fibres (DF) are well known for their beneficial effects on health, when consumed in adequate amounts. although little attention is given to fully define and report DF used in research, their sources, as well as their structural characteristics. Fruits are natural sources of soluble and insoluble DF. Passion fruit is consumed as juice and its rind is a rich source of DF, which in turn is considered an industrial or home by-product, and usually is discarded. Studies have shown that the consumption of flour-based rind helps to maintain blood glucose and cholesterol levels in humans. In addition to health properties, pectins, which make up the soluble DF of passion fruit peel, may also have technological properties for industrial food applications. Tucum is a palm fruit, native to Brazil, consumed by indigenous populations and little known and commercially exploited. Studies have reported that its content of antioxidant compounds is the largest among the Cerrado fruits, and promotes antioxidant, anti-inflammatory and aging protection activity in animal models. Therefore, this study aimed to extract, purify and characterize the chemical structure of polysaccharides that constitute the soluble and insoluble dietary fibers present in passion fruit peel and tucum pulp. Passion fruit rind soluble DF was isolated by the enzymatic-gravimetric method and chemical analysis showed high concentration of uronic acids (92%). That was confirmed through NMR-¹³C analysis, which presented characteristic signals of a homogalacturonan, classified as high methyl esterified (70%). This pectin presented a homogeneous profile in HPSEC analysis e molecular mass of 53 kDa. When analyzed for its gastroprotective potential in an ethanol-induced gastric ulcer model in rats, this pectin was able to reduce significantly the gastric lesions when administered either orally or intraperitoneally at doses of 0.1, 1 and 10 mg/kg. In addition, it was also able to prevent GSH and gastric mucus depletion, thus demonstrating gastroprotective activity in the model analyzed. The rheological behavior analyzes of this pectin demonstrated a distinct behavior from that of highly methyl esterified pectins (HMP) from other sources. Passion fruit peel HMP is characterized as a gel without the need for addition of co-solute (sucrose) or medium acidification. Viscosity analyzes and oscillatory dynamic tests of aqueous dispersions at concentrations of 2% and 4% (w/w) demonstrated shear-thinning non-Newtonian behavior and gel behavior, where G' values were higher than G'' throughout frequency range. Usually HMP require the addition of sucrose (> 50% w/w) and acidification of the medium to demonstrate such behavior. This fraction was also analyzed in the presence of sucrose (25% or 50%) at pH 3 and viscosity and gel strength were increased, although that was not expressive. The DF from tucum was also extracted through the enzymatic-gravimetric method and the soluble and insoluble dietary fibres passed through purification processes. The soluble fraction was treated with Fehling's solution, while the insoluble one was treated with alkali solution in order to extract hemicelluloses. Fehling supernatant and alkaline extraction supernatant fractions showed a higher proportion of hemicelluloses in relation to pectins, mainly arabinoxylans. Both fractions demonstrated signals at δ 101.5 and δ 107.0 indicating the presence of β -Xylp e α -L-Araf in NMR -¹³C spectrum. The greater proportion of methylated derivatives 2,3-Me₂-Xyl e 2,3,5-Me₃-Ara confirmed the presence of arabinoxylans in both fractions. The presence of AX in Arecaceae palm trees has been described in the literature. The results of the present study support the hypothesis that species of the Arecaceae family may contain cell wall with characteristic of both classes, comelinid and non-comelinid plants, reinforcing the idea previously proposed by other authors that members of the Arecaceae family are evolutionary intermediates between comelinid and non-comelinid.

Keywords: dietary fibres; polysaccharides; pectins; native fruits; anti-ulcer effect; passion fruit; tucum; rheology; Arecaceae; arabinoxylans.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	- Diversidade de estruturas das fibras dietéticas que compreendem os polissacarídeos da parede celular de plantas.....	24
FIGURA 2	- Composição da parede celular de plantas.....	28
FIGURA 3	- Principais polissacarídeos contidos na parede celular primária das monocotiledôneas e suas respectivas classes.....	30
FIGURA 4	- Estrutura química da homogalacturonana.....	32
FIGURA 5	- Propriedades físico-químicas, funcionalidade e efeitos fisiológicos relevantes para a pesquisa com fibras dietéticas.....	35
FIGURA 6	- Representação de fluxo de um determinado fluido.....	40
FIGURA 7	- Maracujá (<i>Passiflora edulis</i>).....	44
FIGURA 8	- Tucum (<i>Bactris setosa</i>).....	46

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	- Fibras dietéticas em diferentes grupos de alimentos.....	22
TABELA 2	- Abreviação dos monossacarídeos mais comuns que compõe as fibras dietéticas.....	23
TABELA 3	- Classes de carboidratos que se enquadram ao conceito de fibras dietéticas.....	25
TABELA 4	- Diversidade de estruturas e composição química dos polissacarídeos que compreendem as fibras dietéticas.....	26
TABELA 5	- Composição química e fonte dos oligossacarídeos que compreendem as fibras dietéticas.....	27

LISTA DE SIGLAS

AGCC	-	Ácidos Graxos de Cadeia Curta
ANVISA	-	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	-	Association of Official Analytical Chemists
AG	-	Arabinogalactanas
AGA	-	Apiogalacturonana
AR	-	Amido Resistente
AX	-	Arabinoxilanas
AXOS	-	Arabinoxilo-oligossacarídeos
CA	-	<i>Codex Alimentarius</i>
CM	-	Casca do Maracujá
DCV	-	Doenças Cardiovasculares
DM	-	Grau de metil-esterificação
FAO	-	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
FD	-	Fibra Dietética
FDI	-	Fibras Dietéticas Insolúveis
FDS	-	Fibras Dietéticas Solúveis
FDT	-	Fibra Dietética Total
FOS	-	Fruto-oligossacarídeos
GalA	-	Ácido galacturônico
GAX	-	Glucuronoarabinoxilanas
GOS	-	Galacto-oligossacarídeos
GX	-	Glucuronoxilanas
HG	-	Homogalacturonanas
HMP	-	Pectina com alto grau de metil-esterificação
LMP	-	Pectina com alto baixo de metil-esterificação
MO	-	Micro-organismos
OR	-	Oligossacarídeos Resistentes
PNA	-	Polissacarídeos não amiláceos
RG	-	Ramnogalacturonanas
RG-I	-	Ramnogalacturonanas do tipo I

RG-II	-	Ramnogalacturonanas do tipo II
TGI	-	Trato-gastrointestinal
XGA	-	Xilogalacturonanas
WHO	-	Organização Mundial da Saúde

LISTA DE SÍMBOLOS

α	-	Alfa
β	-	Beta
η	-	Viscosidade
τ	-	Tensão de Cisalhamento
$\dot{\gamma}$	-	Taxa de Cisalhamento
$>$	-	Maior
$\geq$	-	Maior ou igual a
$<$	-	Menor
δ	-	Deslocamento químico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 OBJETIVO GERAL.....	21
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1 FIBRAS DIETÉTICAS	22
2.2 CARBOIDRATOS QUE COMPREENDEM AS FIBRAS DIETÉTICAS	28
2.2.1 Pectinas.....	34
2.2.2 Hemiceluloses.....	36
2.3 BENEFÍCIOS À SAÚDE ASSOCIADOS AO CONSUMO DE FIBRAS DIETÉTICAS	37
2.4 FIBRAS DIETÉTICAS COMO MODIFICADORES REOLÓGICOS	41
2.4.1 REOLOGIA DE PECTINAS	42
2.4.2 PROPRIEDADES REOLÓGICAS DAS PECTINAS COM ALTO GRAU DE METIL-ESTERIFICAÇÃO.....	46
2.5 CASCA DO MARACUJÁ (<i>Passiflora edulis</i>) COMO FONTE DE FIBRAS DIETÉTICAS	47
2.6 TUCUM (<i>Bactris setosa</i>) COMO FONTE DE FIBRAS DIETÉTICAS	49
3 ARTIGO I	51
4 ARTIGO II	73
5 ARTIGO III.....	97
6 CONCLUSÃO.....	127
ANEXO I	128
REFERÊNCIAS	130

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o país com a maior biodiversidade do planeta e possui inúmeras espécies de frutos comestíveis; no entanto, grande parte desta biodiversidade é pouco conhecida, explorada e comercializada. Consequentemente, a desvalorização e desconhecimento do potencial destas espécies evita que se tornem fonte de alimento *in natura* ou processados, de componentes químicos isolados, como pigmentos, óleos essenciais e fibras dietéticas (FD), bem como de compostos bioativos para a produção de medicamentos e cosméticos. Portanto, a desvalorização e o baixo conhecimento acerca da composição química destes produtos contribuem, indiretamente, para a sua subutilização, evitando a geração de bens e serviços de alto valor agregado, e contribuindo para a perda ou extinção dessas espécies (Brasil, 2016).

Um estudo de revisão, recentemente publicado por Teixeira e colaboradores (2019), avaliou espécies de frutas comestíveis nativas brasileiras, anteriormente descritas por Corrêa (1926). Esse trabalho enfatiza a importância de identificar espécies valiosas da biodiversidade brasileira, demonstrando o papel do consumo destes produtos para a promoção da saúde, além de ressaltar a importância das pesquisas científicas no desenvolvimento de produtos a partir destes frutos. Dentre as 504 espécies descritas, somente 127 foram estudadas com relação à sua composição química ou atividade biológica, muitas espécies não avaliadas e potencial de aplicação em diversos produtos, bem como para promoção da saúde através de seu consumo.

O hábito de consumir frutas e outros produtos de origem vegetal, diariamente, é reconhecido como fator crucial na prevenção do desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas (ex.: diabetes, doenças cardiovasculares e obesidade), além de ser considerado fator para a promoção da saúde (Afshin et al., 2019; Slavin & Lloyd, 2012; Yahia, Ornela-Paz, Gonzalez-Aguilar, 2011). As frutas são ricas fontes de vitaminas, minerais, compostos antioxidantes, bem como de FD, carboidratos não digeríveis da classe dos polissacarídeos e oligossacarídeos (Slavin, 2013; Slavin & Lloyd, 2012; Yahia, Ornela-Paz, Gonzalez-Aguilar, 2011). Neste contexto, são crescentes a atenção e o interesse em pesquisas que visam investigar os benefícios à saúde proporcionados pelo consumo de frutas, bem como, a compreensão do mecanismo de ação dos diferentes componentes químicos contidos nestes alimentos (Yahia, Ornela-Paz, Gonzalez-Aguilar, 2011). Ademais, diversos estudos relacionam os benefícios trazidos pelo consumo de frutas ao seu conteúdo de fibras dietéticas (Afshin et al., 2019; Slavin, 2013; Slavin &

Lloyd, 2012). A partir das evidências científicas citadas anteriormente e para a promoção da saúde a nível individual e populacional, a Organização Mundial da Saúde (WHO), recomenda o consumo de 400 gramas a 800 gramas de frutas e vegetais por dia (WHO, 2018).

Um dos principais e mais abundante componente das frutas, e da maioria dos produtos de origem vegetal, são os carboidratos e, apesar da sua expressiva presença em alimentos comuns da alimentação mundial, pouco se sabe acerca da sua estrutura química (Amicucci, Nandita & Lebrilla, 2019). A escassez de estudos com foco na elucidação das características químicas dos carboidratos, principalmente no que diz respeito à composição monossacarídica e perfil de ligações glicosídicas, tem prejudicado a interpretação e o entendimento de inúmeros dados clínicos sobre o papel dos carboidratos na dieta (Amicucci, Nandita & Lebrilla, 2019; Poutanen et al., 2018). Essa limitação ainda afeta o discurso da função dos carboidratos na dieta e na saúde, pois o seu significado é distorcido, comumente sendo considerados o “vilão” das dietas (Amicucci, Nandita & Lebrilla, 2019; Kroemer, López-Otín, Madeo & Cabo, 2018; Lin, Zhang & Lin, 2018).

Os carboidratos são os compostos orgânicos mais diversos do planeta e, dependendo da sua estrutura química, podem apresentar diferentes propriedades fisiológicas, químicas e físicas (Poutanen et al., 2018; Cummings & Stephens, 2007). Esses componentes podem ser classificados em monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos.

Alimentos de origem vegetal, tais como frutas, vegetais, leguminosas, oleaginosas, cereais, bem como os derivados de todos estes produtos (geleias, sucos, tortas, pães, farinhas, doces, entre outros) são fonte de carboidratos (Poutanen et al., 2018; Cummings & Stephens, 2007; Englyst, Liu & Englyst, 2007). O leite e seus derivados, são fontes de lactose (dissacarídeo) e oligossacarídeos, além de representar um dos únicos alimentos de origem animal com quantidades relevantes de carboidratos (Cummings & Stephens, 2007; Englyst, Liu & Englyst, 2007). Apesar da diversidade de estruturas e fontes alimentares, é estabelecido que os carboidratos possuem a função de fornecer energia ao organismo. No entanto, nem todos desempenham essa atividade, pois muitos não podem ser hidrolisados à monossacarídeos e absorvidos pelo organismo humano (Amicucci, Nandita & Lebrilla, 2019; Capuano, 2017; Levin, 1994).

O processo fisiológico de digestão de carboidratos nos seres humanos é restrito à algumas classes de carboidratos, principalmente homopolissacarídeos de glucose, como o amido contendo polímeros de amilose (α -(1 $\rightarrow$ 4)-D-glucose) e amilopectina (α -(1 $\rightarrow$ 4,

1→6)-D-glucose), os dissacarídeos lactose (β -D-galactose-(1→4)- α -D-glucose), sacarose (α -D-glucose-(1→2)- β -D-frutose) e maltose (α -D-glucose-(1→4)- α -D-glucose), bem como alguns oligossacarídeos (Amicucci, Nandita & Lebrilla, 2019; Cui, 2005). As glândulas salivares, o pâncreas e o intestino delgado são responsáveis pela síntese e secreção de enzimas que hidrolisam esses carboidratos, e desta forma participam do metabolismo energético fornecendo energia ao organismo (Whitcomb & Lowe, 2007; Levin, 1994):

- Boca: as glândulas salivares produzem e secretam a amilase salivar para iniciar hidrólise das ligações α -(1→4) do amido na boca (Whitcomb & Lowe, 2007).
- Pâncreas: sintetiza e secreta a enzima α -amilase, responsável pela hidrólise das ligações α -(1→4) do amido (Whitcomb & Lowe, 2007; Levin, 1994).
- Mucosa do Intestino Delgado: sintetiza e secreta as enzimas sacarase-isomaltase, sacarase, maltase e lactase, responsáveis pela hidrólise das ligações α -(1→6) da amilopectina, sacarose, maltose e lactose, respectivamente (Whitcomb & Lowe, 2007; Nichols et al., 2003; Levin, 1994).

Devido à ausência de expressão de enzimas que possibilitam a hidrólise da ampla diversidade de ligações glicosídicas, principalmente nos heteropolissacarídeos (polissacarídeos não amiláceos) das plantas, bem como em oligossacarídeos, essa atribuição fica ao encargo dos micro-organismos que habitam o intestino dos seres humanos. Estes micro-organismos expressam enzimas capazes de hidrolisar essas ligações e assim possibilitar o uso dos monossacarídeos resultantes como substratos energéticos para sua sobrevivência (Canfora et al., 2019; Capuano et al., 2017; Ndeh, et al., 2017; El Kaoutari et al., 2013).

Os polissacarídeos não amiláceos, juntamente com o amido resistente e alguns oligossacarídeos, não podem ser digeridos nem absorvidos no trato gastrointestinal (TGI), consequentemente não apresentam função energética (direta) no organismo humano. No entanto, esses componentes apresentam efeitos e funções fisiológicas e metabólicas específicos, devido a ampla diversidade de estruturas químicas, de suas diversas propriedades físico-químicas, além das fontes e matrizes alimentares em que podem estar inseridos que, por fim, podem afetar os parâmetros citados anteriormente (Capuano et al., 2017). Logo, essa classe de carboidratos também pode ser classificada como FD (Capuano et al., 2017; Englyst, Liu & Englyst, 2007; Tunland & Meyer, 2002).

Além dos benefícios à saúde, as FD também apresentam propriedades funcionais, físico-químicas e reológicas que propiciam sua aplicação industrial em alimentos e outros produtos. Em alimentos, as FD são utilizadas como aditivos alimentares ou hidrocolóides, com o intuito de modificar a textura e as propriedades reológicas dos alimentos (BeMiller, 2019; Einhorn-Stoll, 2017). As pectinas são extraídas para aplicação em alimentos desde o início do século XX, então são comercializadas como agentes gelificantes. As pectinas são hidrocoloides capazes de formar redes para prender água e formar gel (Chan, Choo, Young & Loh, 2017). Apesar da ampla variedade das fontes de pectinas e do mercado em constante ascensão, as fontes comerciais de pectinas ainda são limitadas (BeMiller, 2019; Chan et al., 2017). É crescente a demanda por novas fontes que atendam às exigências de mercado, acessíveis e sustentáveis (Kowalska et al., 2017).

As FD são reconhecidamente componentes importantes na dieta devido aos seus efeitos de proteção e promoção da saúde. No entanto, com a evolução das sociedades, o consumo de FD através alimentos de origem vegetal *in natura* ou minimamente processados se tornou escasso, enquanto que ao mesmo tempo, o consumo de alimentos industrializados e ricos em gordura saturada e *trans*, açúcar simples (como por ex. sacarose, glucose e frutose) e proteína tem aumentado constantemente (Afshin et al., 2019; Brownlee, 2014; Verspreet et al., 2016). Essas alterações nos padrões de consumo estão diretamente relacionadas ao desenvolvimento de doenças, principalmente as crônicas não degenerativas, como doenças do estômago, diabetes, hipertensão e obesidade (Afshin, et al., 2019; Brownlee, 2014).

Dentre as fontes de FD que demonstram benefícios à saúde através de seu consumo, podemos citar a casca do maracujá (*Passiflora edulis*), fruta nativa do Brasil. Sua polpa é a parte mais consumida, principalmente em forma de sucos e sobremesas (López-Vargas et al., 2013; Nascimento, Calado & Carvalho, 2012; Seixas et al., 2013). Sua casca é considerada um resíduo, com aproximadamente 60% do peso do fruto, é fonte importante de FD solúveis e insolúveis, sendo geralmente descartada e pouco explorada comercialmente (Canteri et al., 2010; Hernández-Santos et al., 2015; Lima et al., 2016; Lopez-Vargas et al., 2013; Silva et al., 2014; Yapó & Koffi, 2008). Estudos realizados com humanos e animais associam o conteúdo de FD da casca do maracujá aos benefícios em parâmetros metabólicos, na saciedade e no tratamento do diabetes tipo II, em humanos e animais (Cazarin et al., 2016; Lima et al., 2016; Corrêa et al., 2014; Queiroz et al., 2012; Ramos et al., 2007).

As frutas de palmeiras (pertencentes a família Arecaceae) são uma classe menos explorada comercialmente em relação ao maracujá, mas não menos importantes devido ao seu potencial de benefício à saúde (IBGE, 2018). O tucum (*Bactris setosa*) é uma palmeira nativa do Brasil e seu fruto já foi estudado em relação ao seu conteúdo de compostos antioxidantes (Rosa et al., 2016; Fustinoni-Reis et al., 2016). Até o presente não foram encontrados estudos relacionados à análise do conteúdo e da química das fibras dietéticas desta fruta. No entanto, a presença de arabinoxilanas (AX) em membros da família Arecaceae é citada na literatura (Cantu-Jungles et al., 2017a,b; Peña et al., 2016; Harris & Smith, 2006) estudadas quando ao seu potencial prebiótico (Neyrinck et al., 2018; Abbeele et al., 2013).

Desta forma, o estudo da estrutura química fina dos polissacarídeos que compõem as FD é importante para o melhor entendimento dos seus efeitos na saúde e em condições patológicas, bem como para o melhor direcionamento da sua aplicação e recomendação de consumo. Ademais, o conhecimento das suas propriedades reológicas amplia as possibilidades para novas fontes de pectinas como aditivos alimentares, com maior aceitabilidade por parte dos consumidores devido à sua natureza de reutilização de resíduos industriais.

1.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi o de extrair, purificar e caracterizar a estrutura química de polissacarídeos que constituem as fibras dietéticas, solúveis e insolúveis, presentes em frutos nativos brasileiros, analisar o comportamento reológico e o potencial gastroprotetor da fibra solúvel da casca do maracujá em modelo animal de úlcera induzida por etanol.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair as fibras dietéticas solúveis e insolúveis dos frutos utilizando o método enzimático-gravimétrico (AOAC Method 991.43) modificado por Lamothe et al. (2015);
- Purificar os polissacarídeos complexos que constituem as fibras (pectinas e hemiceluloses), empregando diversas metodologias;
- Caracterizar a estrutura química fina dos polissacarídeos purificados;
- Analisar o comportamento reológico da fibra solúvel obtida da casca do maracujá em diferentes concentrações e dispersões;
- Avaliar o potencial gastroprotetor da fibra solúvel obtida da casca do maracujá em modelo animal de úlcera induzida por etanol.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 FIBRAS DIETÉTICAS

O termo “fibra dietética” da ciência da nutrição, muitas vezes pode ser mal interpretado ou gerar confusão nos textos científicos (Poutanen et al., 2018; Weickert & Pfeiffer, 2018). A definição mais recente para as fibras dietéticas foi proposta em 2009 pelo *Codex Alimentarius*, uma comissão associada a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e a Organização Mundial de Saúde. O Codex Alimentarius é responsável por estabelecer regras e padrões internacionais para alimentos, fornecendo diretrizes e códigos de prática desde a produção até a comercialização (incluindo a rotulagem de alimentos), com intuito de garantir segurança alimentar, qualidade e justiça para o comércio internacional de alimentos (Jones, 2014; FAO/WHO, 2010). Desta forma, o Codex Alimentarius define que:

As fibras dietéticas constituem polímeros de carboidratos com dez ou mais unidades monoméricas, as quais não podem ser hidrolisadas pelas enzimas endógenas no intestino delgado de humanos e devem pertencer às seguintes categorias:

- Polímeros de carboidratos comestíveis que estão naturalmente presentes em alimentos;
- Polímeros de carboidratos, os quais podem ser obtidos através de processos químicos, físicos ou enzimáticos, a partir de matérias primas alimentares, e que apresentam algum efeito fisiológico ou benefício à saúde, comprovados por estudos científicos aceitos pelas autoridades competentes;
- Polímeros sintéticos de carboidratos, os quais apresentam algum efeito fisiológico ou benefício à saúde, comprovados por estudos científicos aceitos pelas autoridades competentes (FAO/WHO, 2010).

Esta definição ainda declara que quando as FD forem de origem de plantas, esta poderão incluir frações de lignina e/ou outros componentes associados aos polissacarídeos da parede celular de plantas, além disso, esses compostos também analisados pelos métodos de FD. Também, as autoridades de cada país possuem autonomia para decidir se inclui ao conceito de FD, oligossacarídeos com grau de polimerização de 3 a 9 (Delzenne et al., 2019; Capuano, 2017; Stephen et al., 2017; Jones, 2014).

Assim, estão incluídos nesse conceito polissacarídeos não amiláceos (PNA) como as pectinas, celulose e hemiceluloses e outros polímeros da parede celular de plantas, intrínsecos ou extraídos, podendo ou não ser quimicamente, fisicamente ou enzimaticamente modificados. As FD abrangem também oligossacarídeos e amidos resistentes provenientes de plantas (Delzenne et al., 2019; Capuano, 2017; Stephen et al., 2017). É possível observar esse conceito é abrangente e não define as FD como uma única classe química, nem como um grupo de compostos relacionados (Jones, 2014). Do mesmo modo, não considera a classificação em fibras dietéticas solúveis (FDS) ou fibras dietéticas insolúveis (FDI), conforme se observa nas rotulagens nutricionais de alimentos, nas quais o teor de FD é expresso como total (Capuano, 2017; Brasil, RDC 360, 2003). Os termos solúvel e insolúvel tem sido aplicado para classificar as FD numa tentativa de relacionar os diferentes efeitos fisiológicos às propriedades físico-químicas dos componentes das fibras (Stephen et al., 2017). No entanto a classificação das FD é dependente do método, que por sua vez, não necessariamente determina sua solubilidade *in vivo*, ou seja, mesmo que a estrutura química e a solubilidade da fibra seja determinada, não significa que suas atividades biológicas possam ser renunciadas (Capuano, 2017; Stephen et al., 2017).

Além das padronizações mencionadas anteriormente, o *Codex Alimentarius* também determina que para ser considerado FD, o carboidrato deve apresentar um ou mais dos seguintes benefícios à saúde: redução dos níveis sanguíneos de glucose e/ou insulina pós-prandial; fermentação pela microbiota intestinal; redução dos níveis sanguíneos de colesterol total e/ou LDL; e, redução do tempo de trânsito intestinal e aumento do volume das fezes (Delzenne et al., 2019). Da mesma forma, para que a alegação de benefício à saúde seja inclusa na embalagem de alimentos que contenham FD, um ou mais destes benefícios deve ser comprovado através de evidências científicas e aceito pelas autoridades de cada país (Delzenne et al., 2019; Capuano, 2017).

A rotulagem nutricional apresenta informações relevantes sobre o conteúdo de nutrientes em alimentos, estratégia para induzir melhoras no estado nutricional e, conseqüentemente, na saúde de indivíduos e populações (DeVries, 2010). Para isso, regulamentos requerem definições claras e métodos bem estabelecidos que quantifiquem com precisão o composto a ser analisado (DeVries, 2010). Dentre os métodos analíticos para composição de componentes químicos em alimentos, aqueles que analisam FD sofreram muitas transições nos últimos anos devido à sua heterogeneidade, bem como pela dificuldade de análise por métodos simples e/ou instrumentais diretos, tanto

químicos como gravimétricos (Capuano, 2017; DeVries, 2010). Ademais, o crescente interesse nas propriedades funcionais das FD adicionou mais complexidade à situação. O método de determinação de FD deve respeitar seu conceito e, portanto, ser baseado na indigestibilidade das FD. Consistindo no uso de enzimas que simulam a digestão gástrica e intestinal de alimentos e deixam intactas as FD solúveis e insolúveis (Capuano, 2017; Jones, 2014; DeVries, 2010). O método enzimático-gravimétrico atende a estes critérios, não superestima ou subestima o conteúdo de fibras biodisponíveis ao TGI de seres humanos, sendo recomendado pelo CA para a determinação de FD em alimentos (DeVries, 2010).

As regras para rotulagem de alimentos e os métodos para determinação do conteúdo de nutrientes também seguem padrões do *Codex Alimentarius*, no entanto cada país tem autonomia para adaptar os métodos e a legislação de alimentos (Delzenne et al., 2019; Capuano, 2017; Stephen et al., 2017). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define FD como “qualquer material comestível que não seja hidrolisado pelas enzimas endógenas do trato digestivo humano” (RDC 360, 2003), sem estabelecer especificidade para polímeros de carboidratos e grau de polimerização, podendo ser incluídos outros compostos orgânicos. Em contrapartida, países da União Europeia, Estados Unidos e Canadá, apresentam uma definição mais específica seguindo o modelo do *Codex Alimentarius* (Delzenne et al., 2019; Capuano, 2017; Stephen et al., 2017).

As recomendações para consumo diário de FD ficam a encargo de cada país, sendo que algumas recomendações são baseadas na ingestão de calorias, enquanto que outras em relação ao consumo diário, por exemplo 25 g de FD/dia. A Austrália, Nova Zelândia e alguns países nórdicos ainda contemplam o gênero nos seus guias, onde indivíduos do sexo feminino deveriam ingerir pelo menos 25 g de FD/dia, e indivíduos do sexo masculino, 30 gramas. Já a Holanda, Canadá e Estados Unidos, recomendam 14 gramas de FD a cada 1000 calorias da dieta. O conselho de saúde da Holanda é o único que aperfeiçoou seus guias, incluindo as seguintes alegações: “coma mais vegetais e menos carne”, “coma pelo menos 200 gramas de vegetais e 200 gramas de frutas por dia”, “coma pelo menos 90 gramas de pão integral ou outros produtos com grãos integrais” (Buyken et al., 2018; Stephen et al., 2017). No guia alimentar para a população brasileira, não há informação específica para a recomendação de ingestão de FD (Brasil, 2014). Um estudo recente propõe a ingestão de 50 g de FD/dia para obter todos os benefícios à saúde que as FD podem proporcionar (Makki et al., 2018).

Para atingir a recomendação de ingestão de fibras é necessário conhecer suas fontes alimentares. Além disso, alguns tipos de fibras dietéticas não estão presentes em todos os tipos de alimentos, como por exemplo, o amido resistente, encontrado em cereais, tubérculos e algumas frutas não maduras. As pectinas estão presentes na maioria das frutas e vegetais, as hemiceluloses nos cereais e a celulose em diferentes proporções na maioria dos alimentos fonte de FD (Capuano, 2017; Stephen et al., 2017). Tendo em vista que os carboidratos compõem grande parte do conteúdo de produtos de origem vegetal, a Tabela 1 resume as principais fontes de FD.

TABELA 1 - FIBRAS DIETÉTICAS EM DIFERENTES GRUPOS DE ALIMENTOS.

Categoria de Alimentos	PNA			OR	AR	% FDT
	Celulose	Pectinas	Hemiceluloses			
Frutas						
Frutas maduras	+ (casca)	++	+	–	+ (banana) – (maioria das frutas)	0,5 a 10
Frutas processadas	+	++	+	–	–	0,5 a 2
Frutas secas	+	++	+	–	–	0,1 a 11,5
Sucos e néctares	+	+++	–	–	–	~0,5
Vegetais						
Vegetais crus ou cozidos (verduras e legumes)	+	+	++	–	–	0,5 a 1,8
Nozes, castanhas e sementes	+	+	++	–	–	1,3 a 14,5
Leguminosas	+	–	++	++	++	4,2 a 10,5
Tubérculos	+	+	+	+	–	0,5 a 8
Cereais e derivados						
Arroz branco	+	+	+	*	+	0,8 a 1,0
Arroz integral	++	+	++	*	+	2,1 a 4
Aveia	+	–	++	+	+	~9
Pão branco	+	–	+	+	+	~3
Pão integral	++	–	++	+	+	5,6 a 7,2
Pão de centeio	+	–	++	+	+	3,9 a 6

OR: Oligossacarídeos resistentes. AR: Amido Resistente. FDT: Fibra Dietética Total. * Não determinado. O símbolo + faz referência à proporção das FD nos alimentos. +: baixa proporção. ++: média proporção. +++: alta proporção. O símbolo – significa não contém. FONTE: Stephen et al., 2017; TACO, (2011).

Independente da definição adotada por cada país, as FD são referidas como um grupo de substâncias extremamente heterogêneo, e que podem diferir quanto ao tipo, conteúdo de monossacarídeos (Tabela 2), a configuração anomérica dos monossacarídeos (α ou β), a configuração D ou L, a ligação química entre monossacarídeos, o tamanho da cadeia polimérica, a presença, distribuição e a composição das ramificações ligadas à cadeia principal e de grupamentos acetil, metil, sulfato, entre outros. (Tabelas 2, 3 e 4) (Capuano, 2017).

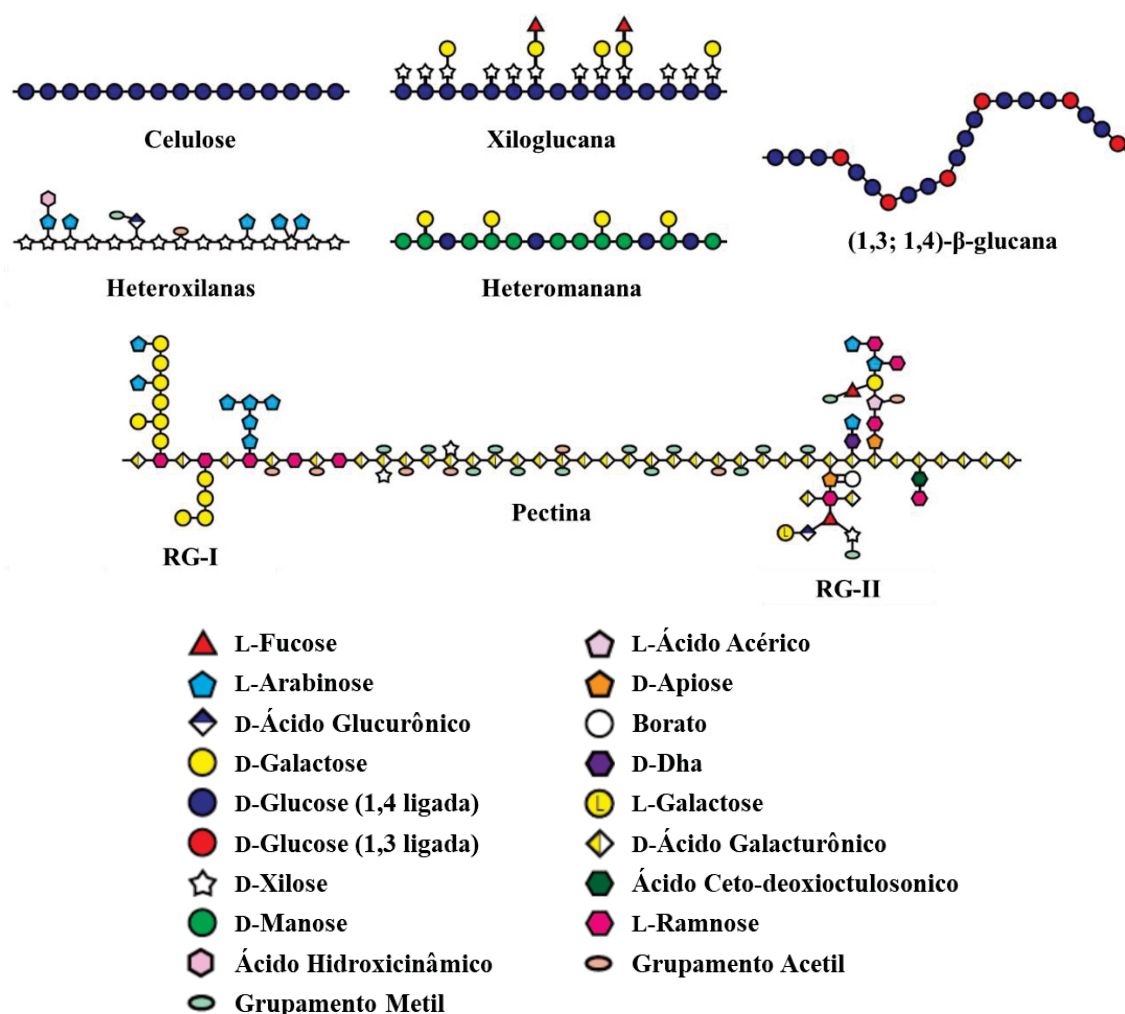
TABELA 2 - ABREVIÇÃO DOS MONOSSACARÍDEOS MAIS COMUNS QUE COMPÕE AS FIBRAS DIETÉTICAS.

Monossacarídeo	Abreviação
Xilose	Xyl
Arabinose	Ara
Glucose	Glc
Manose	Man
Ramnose	Rha
Galactose	Gal
Fucose	Fuc
Frutose	Fru
Ácido Galacturônico*	GalA
Ácido Glucurônico*	GlcA

*monossacarídeos ácidos.

Com isso, os carboidratos são os componentes químicos mais diversos do planeta e, para tanto, as FD podem apresentar-se na forma de: pectinas, que dentre os polissacarídeos, são as que apresentam a estrutura mais complexa e podem ser representadas pelas homogalacturonanas (HG), arabinogalactanas (AG), ramnogalaturonanas (RG) do tipo I (RG-I) e II (RG-II), entre outras cadeias de acordo com a Figura 1; as xilanas, arabinoxilanas (AX), mananas, glucomananas, entre outras hemiceluloses; a celulose; as gomas arábica, guar e xantana (Tabela 5) (Capuano, 2017; Burton, Gidley & Fincher, 2010; Carpita & Gibeaut, 1993). A grande diversidade de estruturas está presente nos mais diversos alimentos de origem vegetal, fontes de FD, como mencionado anteriormente. A presença destas estruturas nos alimentos vai depender de fatores taxonômicos, ambientais e biológicos (Burton, Gidley & Fincher, 2010; Carpita & Gibeaut, 1993).

FIGURA 1 - DIVERSIDADE DE ESTRUTURAS DAS FD QUE COMPREENDEM OS POLISSACARÍDEOS DA PAREDE CELULAR DE PLANTAS.



FONTE: adaptado de Burton, Gidley & Fincher (2010).

Embora haja o reconhecimento da diversidade de estruturas químicas dos polissacarídeos que compreendem as FD, e do grande e crescente volume de trabalhos publicados relacionando os seus efeitos em diversas condições fisiológicas e metabólicas, pouca atenção tem sido dada para definir e relatar detalhadamente, nos quesitos citados acima, as FD usadas nas pesquisas de cunho nutricional (Amicucci, Nandita & Lebrilla, 2019; Poutanen et al., 2018; Stephen et al., 2017; Harris & Smith, 2006). Além disso, os métodos e instrumentos para avaliar e caracterizar consumo alimentar não refletem a realidade das dietas ou os efeitos das preparações nos nutrientes. Já as análises de dados epidemiológicos dependem das informações das tabelas de composição de alimentos (como a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO – elaborada pela Universidade Estadual de Campinas, no Brasil), as quais não foram atualizadas para

incluir FDS, FDI, oligômeros de cadeia curta, amido resistente presentes ou adicionados à alimentos (Jones, 2014; TACO, 2011). Isto, por sua vez, dificulta a tradução das pesquisas com FD na prática alimentar e, provavelmente, as alegações dos efeitos das FD em alimentos industrializados não são autorizadas devido à inadequação dos estudos clínicos em relatar e caracterizar adequadamente as fontes de FD utilizadas nas pesquisas (Poultanen et al., 2018).

2.2 CARBOIDRATOS QUE COMPREENDEM AS FIBRAS DIETÉTICAS

Os carboidratos que se adequam ao conceito de FD podem ser divididos em classes, de acordo com a Tabela 3. Os PNAs, representados pelos polissacarídeos pectinas, celulosas e hemicelulosas, compõem a parede celular das plantas e apresentam diversas funções nestes organismos (Carpita & Gibeaut, 1993). Os oligossacarídeos podem ser derivados dos polissacarídeos da parede celular ou constituir carboidratos de reserva energética nas plantas, juntamente com o amido (Capuano, 2017; Carpita & Gibeaut, 1993). Por sua vez, o amido resistente (AR) pode ser definido como o amido que resiste a digestão após 120 minutos de ser consumido e não é hidrolisado a monômeros de D-glucose, mas que pode ser fermentado no cólon (Fuentes-Zaragata et al., 2010).

TABELA 3 - CLASSES DE CARBOIDRATOS QUE SE ENQUADRAM AO CONCEITO DE FIBRAS DIETÉTICAS.

Classes	Exemplos
Polissacarídeos não amiláceos	Pectinas, hemicelulosas, celulosas, gomas, mucilagens, β -glucanas, inulinas e frutanas.
Oligossacarídeos resistentes à digestão	Fruto-oligossacarídeos (FOS), arabinosilo-oligossacarídeos (AXOS) e galacto-oligossacarídeos (GOS)
Amido resistente	Amido resistente do tipo I, II, III e IV.

Fonte: Delzenne et al (2019); Stephen et al (2017).

A complexidade e a diversidade da composição química dos carboidratos que constituem as FD estão expostas na tabela 4 e 5. Além da composição química, estes compostos podem variar em relação ao tamanho e à massa molecular, podem apresentar diferentes padrões de ligações químicas, que por sua vez amplia ainda mais as possibilidades de estruturas químicas que constituem a parede celular das plantas.

TABELA 4 - DIVERSIDADE DE ESTRUTURAS E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS POLISSACARÍDEOS QUE COMPREENDEM AS FIBRAS DIETÉTICAS

(continua)

Fibra Dietética	Cadeia Principal	Ramificações
Polissacarídeos		
Pectinas (FDS)		
Homogalacturonana	α -(1→4)-D-GalpA, podendo conter grupamento acetil ligados em O-2 e O-3 e grupamentos metil ligados nos grupos carboxílicos.	---
Ramnogalacturonana do tipo I	Dissacarídeos repetidos de α -(1→4)-D-GalpA e α -(1→2)-D-Rhap	Arabinanas, galactanas, arabinogalactana do tipo I e II.
Ramnogalacturonana do tipo II	α -(1→4)-D-GalpA (cadeia principal de HG)	Pode conter de 11-12 diferentes resíduos glicosídicos e mais de 28 tipos de monossacarídeos
Arabinana	α -(1→5)-L-Araf	α -(1→3)-L-Araf
Arabinogalactana do tipo I	β -(1→4)-D-Galp	α -(1→3)-L-Araf
Arabinogalactana do tipo II	β -(1→3)-D-Galp- β -(1→6)-D-Galp	α -(1→3)-L-Araf
Xilogalacturonana	α -(1→4)-D-GalpA	β -D-Xylp substituída em O-3
Apiogalacturonana	α -(1→4)-D-GalpA	D-Apif
Hemiceluloses (FDS e FDI)		
Xilana	β -(1→4)-D-Xylp	---
Arabinoxilana	β -(1→4)-D-Xylp	α -L-Araf substituída em O-2 e O3.
Manana	β -(1→4)-D-Manp	---
Glucomanana	β -(1→4)-D-Manp, β -(1→4)-D-Glcp	β -D-Glcp substituída em O-6 de β -D-Glcp
Galactoglucomanana	β -(1,4)-D-Manp, β -(1→4)-D-Glcp	α -D-Galp substituída em O-6 de β -D-Manp
Galactomanana	β -(1→4)-D-Manp	α -D-Galp substituída em O-6 de β -D-Manp
Xiloglucana	β -(1→4)-D-Glcp	α -D-Xilp substituída em O-6 de β -D-Glcp
Gomas (FDS)		
Carragenana	Família de polissacarídeos sulfatados: β -(1→3)-D-Galp, α -(1→4)-D-Galp (este, frequentemente 3,6-anidro) sulfatados nas posições C2 e/ou C6.	---

Alginato	β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-ManpA, α -(1 $\rightarrow$ 4)-L-GulpA	---
Agar	Polissacarídeo heterogêneo: principalmente β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-Galp, 3,6-anidro- α -(1 $\rightarrow$ 3,4)-L-Galp.	---
Goma Arábica	β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-Galp	β -D-GlcpA; β -D-Galp; α -L-Rhap; L-Ara (piranosídica e furanosídica); substituídas em O-6 de β -D-Galp.
Goma Guar	β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-Manp	β -(1 $\rightarrow$ 6)-D-Galp
Goma Xantana	β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-Glcp	Trissacarídeo: β -D-Manp-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-GulpA-(1 $\rightarrow$ 2)- α -D-Manp.
Outros		
Celulose (FDI)	β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-Glcp	---
Quitina (FDS)	β -(1 $\rightarrow$ 4)-N-Acetil-D-Glucosamine	---
Quitosana (FDS)	β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-Glucosamine e β -(1 $\rightarrow$ 4)-N-Acetil-D-Glucosamine	---
β -glucana (FDS)	β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-Glcp e β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-Glcp	---
Amido resistente	α -(1 $\rightarrow$ 4)-D-Glcp	α -(1 $\rightarrow$ 4)-D-Glcp e α -(1 $\rightarrow$ 6)-D-Glcp

FDS: Fibra dietética solúvel; FDI: Fibra dietética insolúvel.

FONTE: Adaptado de Capuano (2017); Burton, Gidley & Fincher (2010); Carpita & Gibeau (1993).

TABELA 5 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA E FONTE DOS OLIGOSSACARÍDEOS QUE COMPREENDEM AS FIBRAS DIETÉTICAS

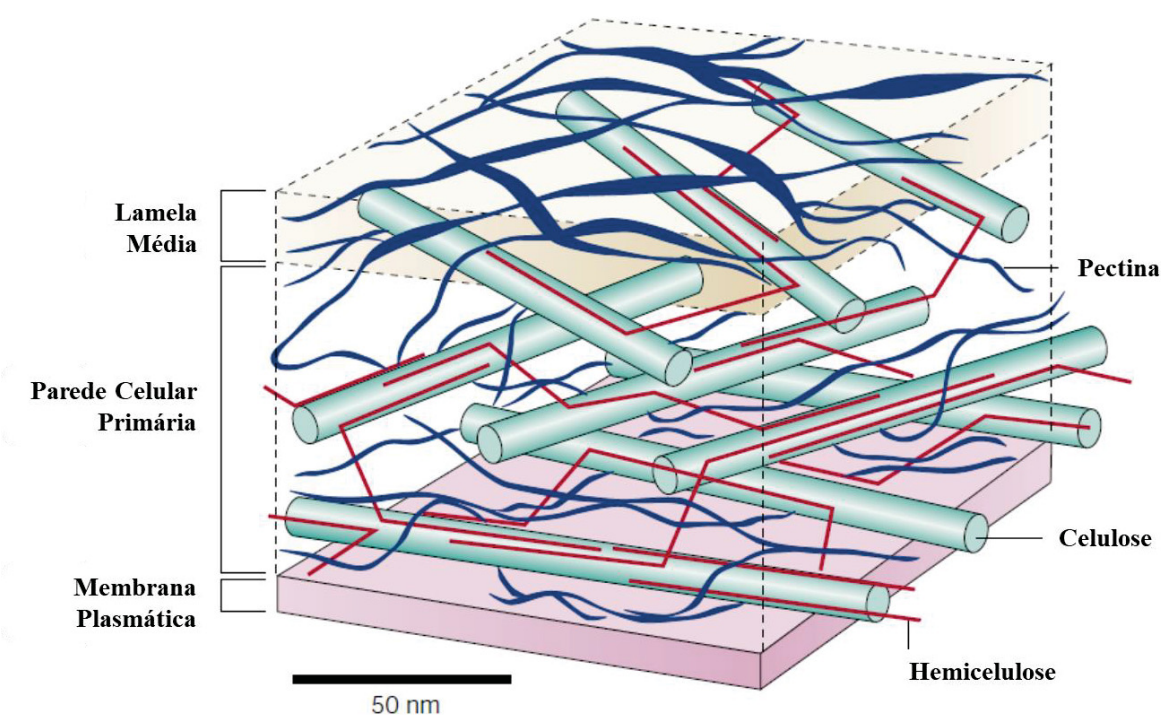
Fibra Dietética	Cadeia Principal	Unidades Ramificadas
Oligossacarídeos (FDS)		
Inulina	β -(2 $\rightarrow$ 1)-D-Frup, um terminal α -(1 $\rightarrow$ 2)-D-Glcp. Outros tipos de ligação também são possíveis.	---
Fruto-oligossacarídeo	Derivados da hidrólise da inulina	---
Galacto-oligossacarídeo	β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-Galp, um terminal β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-Glcp. Outros tipos de ligação também são possíveis.	---

FONTE: Capuano (2017).

Os polissacarídeos da parede de celular de plantas diferem amplamente na sua composição (Figura 2) sendo importantes pois proporcionam uma estrutura rígida, capaz de manter a planta em posição vertical frente à forças externas como o vento e a gravidade, ao mesmo tempo em que proporcionam adesão extracelular, flexibilidade,

energia, força e porosidade para suportar a pressão osmótica (Burton, Gidley & Fincher, 2010; Carpita & Gibeaut, 1993). Para adquirir todas essas características funcionais, os PNAs da parede celular se encontram numa matriz com aspecto de gel, que consiste de pectinas e hemiceluloses, na qual acomodadas microfibrilas celulósicas, que em conjunto permitem alta resistência à tração, flexibilidade e suporte mecânico para as células (Burton, Gidley & Fincher, 2010; Harris & Smith, 2006). Desta forma, a parede celular apresenta papel crucial na sobrevivência das plantas, pois possibilita suporte às diversas condições ambientais as quais estão expostas, bem como sobreviver ao ataque de patógenos e animais herbívoros (Caffall & Mohnen, 2009).

FIGURA 2 - COMPOSIÇÃO DA PAREDE CELULAR DE PLANTAS.



FONTE: adaptado de Smith, 2001.

A composição da parede celular das plantas pode ser amplamente diversificada dependendo da taxonomia, da espécie da planta, do tipo e estágio de evolução celular, bem como da parede celular, classificada em primária e secundária (Figura 2) (Peña et al., 2016; Caffall & Mohnen, 2009; Harris & Smith, 2006). A parede celular primária difere da secundária pela fase de crescimento ou maturidade da planta, sendo a primária encontrada na fase de crescimento (plantas mais jovens), enquanto que a secundária deposita-se na primária, geralmente após as células cessarem seu crescimento. A parede celular primária é caracterizada por conter maior proporção de pectinas em relação à

celulose, enquanto que parede celular secundária possui mais celulose. Outro diferencial é quanto à presença ou não de lignina, sendo que a parede celular primária não é lignificada e a parede celular secundária é lignificada (Burton, Gidley & Fincher, 2010; Caffall & Mohnen, 2009; Harris & Smith, 2006). O presente estudo focou na análise química estrutural de pectinas e hemiceluloses, classificadas como PNAs, portanto, no texto serão abordados somente estes temas.

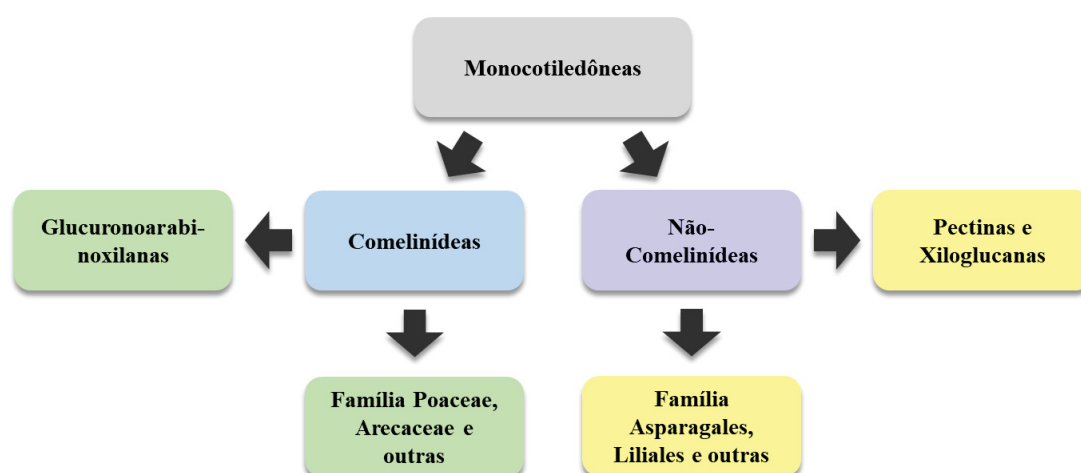
Nas plantas comestíveis, a maioria das células apresentam parede celular não lignificada, e o tipo celular mais comum neste grupo são as células do parênquima, que por sua vez, compõem a maior parte do tecido de frutas, vegetais e cereais. Ademais, estes produtos geralmente pertencem a um dos dois grandes grupos de plantas: dicotiledôneas e monocotiledôneas (Burton, Gidley & Fincher, 2010; Harris & Smith, 2006). De acordo com a quimiotaxonomia, as dicotiledôneas, caracterizadas pelas plantas superiores, apresentam maior conteúdo de pectinas em relação às monocotiledôneas. O contrário ocorre com as monocotiledôneas, que apresentam maior proporção de hemiceluloses quando comparadas às dicotiledôneas. Em prática, as dicotiledôneas são representadas por uma ampla diversidade de famílias, gêneros e espécies de plantas, sendo constituídas pela maioria das frutas comestíveis, além de outros alimentos como as verduras, legumes e leguminosas (Burton, Gidley & Fincher, 2010; Caffall & Mohnen, 2009; Harris & Smith, 2006).

O maracujá (*Passiflora edulis*), objeto de estudo deste trabalho, é uma fruta nativa brasileira, da classe das dicotiledôneas, cultivado no Brasil para a produção industrial de suco e comercialização para consumo *in natura* (Cazarin et al., 2014; Queiroz et al., 2012; Yapo & Koffi, 2008). Sua polpa e todas as suas partes, particularmente a casca, tem sido estudadas, em função de suas propriedades terapêuticas e tecnológicas, muitas vezes atribuídos ao seu conteúdo de FD (Abboud et al., 2019; Albuquerque et al., 2019; Souza et al., 2018; Lima et al., 2015; Macagnan, Silva & Hecktheuer, 2015; Cazarin et al., 2014; Silva et al., 2014; Queiroz et al., 2012; Medeiros et al., 2009).

Por sua vez, as monocotiledôneas são menos diversificadas, no entanto, estão presentes diariamente na alimentação de diversas populações, representadas pelos membros da família Poaceae, como por exemplo os cereais trigo, arroz, milho, cevada e aveia (Peña et al., 2016; Burton, Gidley & Fincher, 2010; Caffall & Mohnen, 2009; Harris & Smith, 2006). As monocotiledôneas ainda podem ser classificadas pela presença ou ausência de ácido ferúlico, onde as que possuem este ácido compreendem as comelinídeas

e as que não possuem, não-comelinídeas. A parede celular primária das monocotiledôneas comelinídeas e não-comelinídeas também diferem no conteúdo de PNA, demonstrados pela maior proporção de pectinas e xiloglucanas em não-comelinídeas, similar à de dicotiledôneas (Peña et al., 2016). Já nas comelinídeas, predomina a presença de glucuronoarabinosilanas (GAX) em relação às pectinas e xiloglucanas. No entanto algumas comelinídeas apresentam as características de ambas as classes (Figura 3) (Peña et al., 2016; Smith and Harris, 1999).

FIGURA 3 - PRINCIPAIS POLISSACARÍDEOS CONTIDOS NA PAREDE CELULAR PRIMÁRIA DAS MONOCOTILEDÔNEAS E SUAS RESPECTIVAS CLASSES.



FONTE: o Autor (2019).

Os membros da família Arecaceae, também consideradas monocotiledôneas, são igualmente importantes na economia e na alimentação de países subtropicais e tropicais, como o Brasil (DebMandal & Mandal, 2011). Essa família é representada pelas palmeiras e seus frutos, como por exemplo: o coco (*Cocos nucifera*), o açaí (*Euterpe oleracea*), o buriti (*Mauritia flexuosa*), o tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) e o tucum (*Bactris setosa*), este último, objeto de estudo do presente trabalho (Cantu-Jungles, Iacomini, Cipriani & Cordeiro, 2017a; Cantu-Jungles, Iacomini, Cipriani & Cordeiro, 2017b; Cantu-Jungles, Almeida, Iacomini, Cipriani & Cordeiro, 2015; DebMandal & Mandal, 2011; Burton, Gidley & Fincher, 2010; Caffall & Mohnen, 2009; Harris & Smith, 2006). Um estudo publicado por Peña e colaboradores (2016), abordou a hipótese de que as comelinídeas são as únicas monocotiledôneas a sintetizar xilanas com substituintes de arabinose e que os membros da família Arecaceae apresentam maior conteúdo de glucuronoxilanas (GX) em relação à GAX.

2.2.1 Pectinas

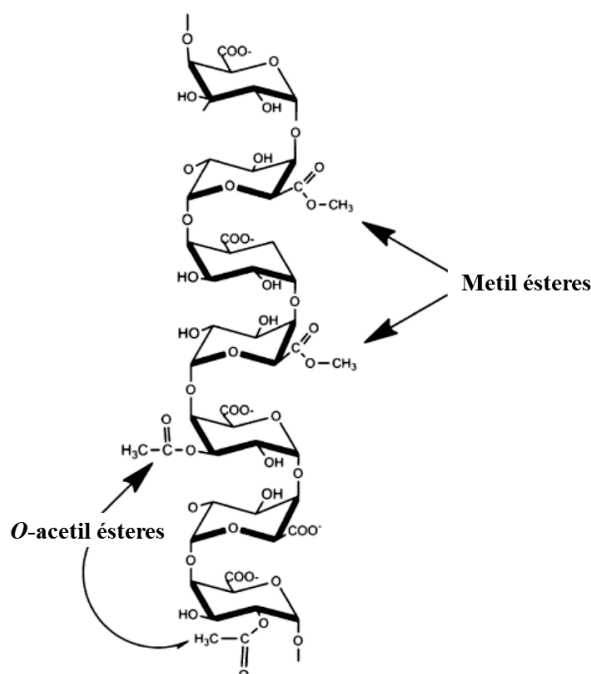
Dentre os PNA, as pectinas são as substâncias mais complexas em relação à sua organização estrutural, e podem apresentar mais de 17 diferentes monossacarídeos com diferentes padrões de ligações glicosídica, e devido a essa grande variedade de estruturas, apresentam diversas propriedades funcionais (Yapo, 2011; Cosgrove, 2005). São abundantes na parede celular de células em divisão e crescimento, parede celular de partes moles de plantas, bem como na lamela média (Figura 2) (Mohnen, 2008). As pectinas formam gel, que na parede celular mantém as microfibrilas de celulose separadas, facilitando seu deslizamento lateral durante o crescimento das células, ao mesmo tempo em que as posicionam quando o crescimento termina (Cosgrove, 2005). Além disso, são importantes para determinar a porosidade e a espessura da parede celular, bem como manter as células unidas, servindo como uma camada adesiva, através da lamela média (Cosgrove, 2005). Os polissacarídeos pécticos podem ser extraídos ou isolados da parede celular vegetal usando água quente, ácidos fracos ou agentes quelantes (Cosgrove, 2005).

As pectinas são uma classe de polissacarídeos que contém ácidos urônicos (~ 65%), principalmente ácido galacturônico (GalA). Esses compreendem aproximadamente 35% da parede celular primária de dicotiledôneas e monocotiledôneas não gramíneas, de 2-10% das gramíneas e a parede celular das comeliníneas, e até 5% de tecido de lenhoso. As classes estruturais dos polissacarídeos pécticos incluem: homogalacturonanas, ramnogalacturonanas (do tipo I e II; RG-I e RG-II), xilogalacturonanas (XGA) e apiogalacturonana (AGA), estes últimos mais raros (Yapo, 2011; Caffall & Mohnen, 2009; Mohnen, 2008; Willats, Knox & Mikkelsen, 2006). O estudo de Yapo (2011), demonstrou que diferentes frutas apresentam diferentes proporções de pectina, variando de 50% a 90%, e que deste percentual a quantidade de GalA foi > 80%. As diferentes fontes de HG e as condições de extração podem influenciar na quantidade de pectina e no seu grau de metil-esterificação (DM), que por sua vez, se reflete nas propriedades de gel destas moléculas (Yapo, 2011).

A HG (Figura 4) é um polímero linear de resíduos de ácido galacturônico α -(1,4)-ligados e que podem ser parcialmente metil esterificados no C-6, ou *O*-acetilados em *O*-2 ou *O*-3 (Mohnen, 2008). As HG com mais de 50% das unidades de α -D-GalpA esterificados com grupamento metil (CH₃) no C-6 são chamadas de pectinas altamente metil-esterificadas (HMP), enquanto que pectinas com menos de 50% de grau de metil

esterificação (DM), são chamadas de pectinas com baixo grau de metil esterificação (LMP) (Yapo, 2011).

FIGURA 4 - ESTRUTURA QUÍMICA DA HOMOGALACTURONANA.



FONTE: Adaptado de Caffall & Mohnen (2009).

Diferente das HGs, as RGs-I e RGs-II são polissacarídeos ramificados e heterogêneos na sua composição monossacarídica e ligações glicosídicas. A RG-I pode apresentar em sua composição resíduos de açúcares neutros como α -L-Rha, α -L-Ara e β -D-Gal, além da cadeia principal de dissacarídeos repetidos de α -(1,4)-D-GalpA e α -(1,2)-L-Rhap, substituídos nas posições O-3 e O-4 dos resíduos de α -L-Rhap. Já as RGs-II são mais complexas e diferentes das RGs-I. Essas moléculas podem conter de 11-12 diferentes resíduos glicosídicos, de 28-36 unidades monossacarídicas e mais de 20 diferentes ligações glicosídicas, refletindo na complexidade da estrutura e de sua determinação (Yapo, 2011; Mohnen, 2008). Com relação à sua estrutura, a RG-II contém uma cadeia principal de HG de pelo 8 ou mais resíduos, que podem estar parcialmente metil esterificados em C-6, com diferentes ramificações de oligossacarídeos (Mohnen, 2008).

O uso de pectinas para aplicações industriais, data desde o início no século XX. A princípio, o seu uso destinava-se majoritariamente para a indústria de alimentos, como agente geleificante. No entanto, o avanço na ciência de polissacarídeos e hidrocolóides

proporcionou a ampliação de suas aplicações industriais. As pectinas, atualmente são utilizadas na engenharia de tecidos, curativos de ferida, liberação de fármacos, medicamentos antidiarreicos, tratamento de câncer, em cosméticos como cremes e loções, filmes comestíveis, espumas e na confecção de embalagens. Na indústria de alimentos sua aplicação também foi ampliada e atualmente as pectinas são usadas como melhoradores de textura e substituto de lipídios (Noreen et al., 2017; Ciriminna et al., 2016). A funcionalidade das pectinas é dependente de fatores intrínsecos às moléculas, tais como: massa molar, grau de metil-esterificação, distribuição de cargas na região da HG, e da diversidade de ligações e de monossacarídeos (Chan et al., 2017). Atualmente, as maiores fontes de pectina comercial são a casca de laranja e o bagaço de maçã, provenientes da indústria de suco e polpas, e que são considerados resíduos industriais. O uso desses materiais como base para a obtenção de pectinas, limita sua aplicação e promove a necessidade de adaptações e modificações químicas para otimizar seu uso, enquanto que outras potenciais fontes permanecem subutilizadas (Fracasso et al., 2018; Ciriminna et al., 2016; Willats, Knox & Mikkelsen, 2006).

2.2.2 Hemiceluloses

As hemiceluloses são um grupo complexo e heterogêneo de polissacarídeos que, na parede celular das plantas estão ligados às celulosas através de ligações covalentes ou não covalentes e, juntas, formam uma rede forte e resiliente (Cosgrove, 2005; Izydorczyk, Cui & Wang, 2005). A cadeia principal de algumas hemiceluloses pode assemelhar-se à da celulose, o que as difere são as ramificações, os diferentes monossacarídeos e outros detalhes que previnem que as hemiceluloses formem microfibrilas (Cosgrove, 2005). As hemiceluloses estão presentes principalmente nas plantas monocotiledôneas. Diferentemente das pectinas que podem ser extraídas em meio aquoso, as hemiceluloses são extraídas da parede celular das plantas através de soluções alcalinas fortes (Cosgrove, 2005). Baseado na composição monossacarídica da cadeia principal, as hemiceluloses podem ser classificadas em quatro grupos: as xilanas, mananas, xiloglucanas e as galactanas (Tabela 5) (Cosgrove, 2005; Izydorczyk, Cui & Wang, 2005). Os monossacarídeos que constituem as cadeias laterais das xilanas podem dar origem a glucuronoarabinoxilanas, glucuronoxilanas, arabinoglucuronoxilanas e arabinoxilanas. As mananas podem formar galactomananas, glucomananas e galactoglucomananas,

enquanto que e as galactanas podem ocorrer na forma de arabinogalactanas (Cosgrove, 2005; Izydorczyk, Cui & Wang, 2005).

As hemiceluloses têm sido estudadas quanto ao seu potencial para produção de oligossacarídeos e AX com atividade prebiótica, ou seja, que ao serem consumidos podem beneficiar o hospedeiro através do estímulo seletivo de crescimento de bactérias benéficas da microbiota intestinal e assim melhorar a saúde do hospedeiro (Delzenne et al., 2019; Otieno & Ahring, 2012). Além das aplicações na saúde, as hemiceluloses também podem ser utilizadas para a produção de biocombustíveis, na indústria química (ex.: furfural), de alimentos (ex: xilitol e açúcar) e biomateriais (ex.: hidrogéis, flocculantes), a partir de resíduos industriais de plantas (ex.: bagaço de cana, frutas, bambu, casca de cereais), tendo em vista que, geralmente, este é o segundo maior componente desses resíduos, ficando atrás somente da celulose (Peng & She, 2014; Otieno & Ahring, 2012).

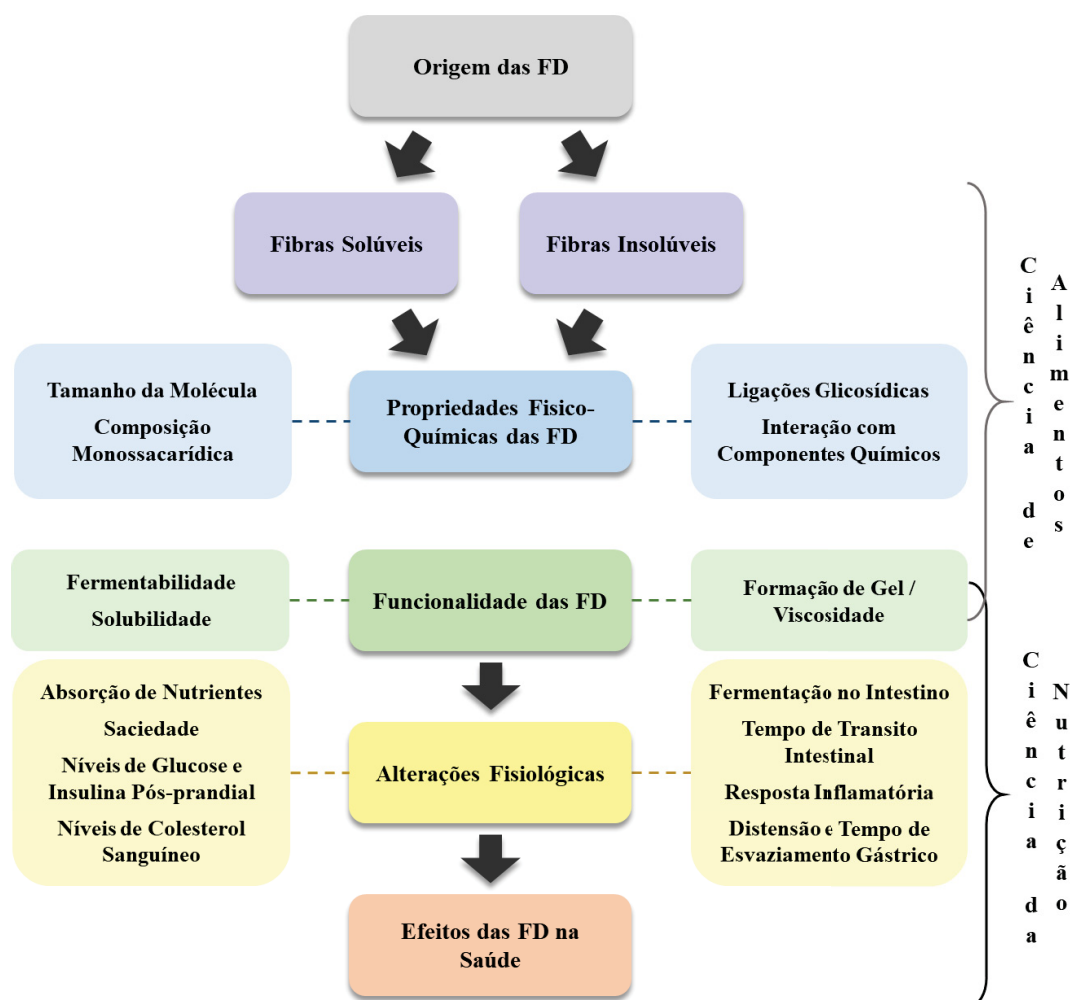
2.3 BENEFÍCIOS À SAÚDE ASSOCIADOS AO CONSUMO DE FIBRAS DIETÉTICAS

O conhecimento das propriedades físico-químicas e da estrutura química das FD, é crucial para a melhor compreensão dos seus efeitos na saúde e recomendação de consumo (Figura 5) (Amicucci, Nandita & Lebrilla, 2019; Poutanen et al., 2018; Stephen et al., 2017; Jones, 2014; Harris & Smith, 2006).

A FD é um componente dos alimentos, mais conhecido por seu papel na diminuição dos níveis de colesterol no sangue, bem como na prevenção ou tratamento da constipação através do aumento do volume fecal. Com os avanços na compreensão do modo de ação das FD, surgem diversas funções que vão muito além daquelas já conhecidas (Verspreet et al., 2016; Koropatkin, Cameron & Martens, 2012; Tungland & Meyer, 2002). Entretanto, poucas iniciativas têm sido tomadas pelas autoridades de saúde para promover o consumo destes componentes, apesar das evidências científicas que associam o consumo de FD com menor risco para o desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas como diabetes, obesidade e hipertensão, alguns tipos de câncer, além de melhorar o estado de saúde de seus consumidores (Afshin et al., 2019; Brownlee, 2014; Jones, 2014, Slavin, 2013). Também não existem recomendações específicas para cada tipo de fibra (solúvel e insolúvel), dificultado pelo fato de as pesquisas não relacionarem

a estrutura química das FD, suas propriedades físicas e, por fim, seu efeito fisiológico (Stephens et al., 2017).

FIGURA 5 - PROPRIEDADE FÍSICO-QUÍMICAS, FUNCIONALIDADE E EFEITOS FISIOLÓGICOS RELEVANTES PARA A PESQUISA COM FIBRAS DIETÉTICAS



FONTE: Adaptado de Poutanen *et al.* (2018) e Weickert & Pfeiffer (2018)

Dentre os benefícios à saúde associados ao consumo de FD, inclusive os aceitos pelo Codex Alimentarius*, estão:

- (i) efeito laxativo e melhora da constipação intestinal*
- (ii) redução dos níveis de colesterol sanguíneo*
- (iii) redução dos níveis de glucose de jejum*
- (iv) redução do risco e tratamento de doenças cardiovasculares (DCV)
- (v) redução do risco e tratamento do diabetes *mellitus*

- (vi) manutenção do peso corporal
- (vii) modulação da microbiota intestinal

Tais efeitos podem ser associados por ações indiretas no organismo. Por exemplo, o consumo de FD influencia no desenvolvimento de DCV através da redução dos fatores de risco para o desenvolvimento destas doenças, como altos níveis de colesterol, inflamação sistêmica geralmente associada à obesidade, alto índice de gordura corporal e intolerância à glucose (Threapleton et al., 2013). Com relação ao menor risco para desenvolvimento de diabetes, este pode ser associado aos níveis de glucose sanguínea pós-prandial, quando refeições contendo FD contribuem para menores níveis de glucose sanguínea após a sua ingestão, que por sua vez, estão relacionados à indigestibilidade e provimento energético das FD (Yao et al., 2014). A alegação dos efeitos antidiabéticos é permitida em alguns países e associada ao consumo de cereais integrais ricos em AX, aveia que conhecidamente contem β -glucanas e frutas que possuem pectinas (Stephen et al., 2017). A manutenção do peso corporal se relaciona ao efeito das FD na saciedade, densidade energética de refeições, modulação de hormônios intestinais (incretinas GLP-1 e adiponectina) e taxa de consumo de alimentos (Poutanen et al., 2018; Weickert & Pfeiffer, 2018; Wanders et al., 2011; Weickert et al., 2005).

A atividade das FD no TGI inferior é reconhecida e recomendada, principalmente no que diz respeito à função intestinal. O foco nas suas funções metabólicas também é amplamente explorado, no entanto poucos estudos avaliaram seu papel no TGI superior e mais especificamente no estômago (Brownlee, 2014). Algumas FD, especificamente pectinas, demonstraram atividade gastroprotetora em modelo de úlcera gástrica induzida por etanol. Polissacarídeos pécticos isolados de jambu (*Acmella oleracea*), cactos (*Cereus peruvianus* Mill.) e ameixa (*Prunus domestica* L.) demonstraram atividade gastroprotetora no modelo citado (Nascimento et al., 2013; Tanaka et al., 2010; Cantu-Jungles et al., 2014). Assim, estas pesquisas contribuem para complementar mais uma possível importante aplicação das FD.

Os efeitos das FD nos hormônios metabólicos, estão associados ao seu papel na modulação da microbiota intestinal. A microbiota intestinal usa FD como substrato energético e, como consequência, diversos metabólitos são gerados. Os principais produtos finais gerados a partir da fermentação da FD, pelos microrganismos intestinais são o acetato, propionato e butirato, também conhecidos como ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs) (Aguirre, Souza & Venema, 2016; Ríos-Covián et al., 2016; Sonnenburg

& Bäckhed, 2016; Canfora, Jocken & Blaak, 2015). Nesse sentido, as espécies de microrganismos intestinais diferem em suas preferências por substratos, e o consumo seletivo destes nutrientes pode influenciar no crescimento e na permanência de grupos específicos de microrganismos no trato gastrointestinal, implicando as FD na dieta como uma estratégia não invasiva pela qual indivíduos poderiam influenciar diretamente o equilíbrio das espécies no intestino (Koropatkin, Cameron & Martens, 2012). Ademais, dependendo do perfil de fermentação e da promoção à modulação da microbiota intestinal, estas FD podem ser classificadas como prebióticas (Bindels et al., 2015).

Os AGCCs são amplamente conhecidos por seus benefícios locais e sistêmicos ao hospedeiro, e podem atuar como moléculas sinalizadoras, uma vez que são transportados do lúmen intestinal para o sangue e absorvidos pelos órgãos, influenciando assim o metabolismo do hospedeiro (Sonnenburg & Bäckhed, 2016; Besten et al., 2013). Além disso, os AGCCs são capazes de diminuir o pH do lúmen e, portanto, desempenham um papel inibidor na colonização de patógenos (Canfora, Jocken & Blaak, 2015; Bindels et al., 2015). No intestino distal, os AGCCs se ligam ao GPR41 e ao GPR43, o que leva à produção dos hormônios intestinais PYY e GLP-1, que por sua vez afetam a saciedade, a homeostase da glicose e, portanto, apresentam efeitos antidiabéticos. Além disso, a ativação do GPR43 suprime a inflamação através das células do sistema imunológico (Tremaroli & Bäckhed, 2012).

Assim, os AGCCs apresentam funções importantes no intestino, bem como na saúde do hospedeiro, pois contribuem como fonte energética para o epitélio e tecidos periféricos, moduladores inflamatórios, vasodilatadores, além de contribuir para a motilidade intestinal e cicatrização de feridas (Marchesi et al., 2016; Tremaroli & Bäckhed, 2012). Além disso, o padrão de fermentação intestinal e, conseqüentemente, os tipos e quantidades de AGCC produzidos são determinados pela quantidade e tipos de FD consumidos pelo hospedeiro e pela comunidade microbiana (Tremaroli & Bäckhed, 2012).

É importante mencionar que dietas ricas em FD estão associadas ao consumo de alimentos considerados saudáveis, como frutas, vegetais, cereais integrais e outros produtos de origem vegetal, geralmente consumidos *in natura*. Enquanto que dietas não saudáveis estão associadas ao consumo de produtos industrializados ou *fast-foods*, consumo de produtos de origem animal e cárneos processados, tendo em vista que todos estes produtos são ricos em sódio e gordura saturada ou *trans*, que conhecidamente, aumentam o risco para o desenvolvimento de diversas condições patológicas,

principalmente quando associadas a estilos de vida não saudáveis (Brownlee, 2014; Verspreet et al., 2016; Tungland & Meyer, 2002).

2.4 FIBRAS DIETÉTICAS COMO MODIFICADORES REOLÓGICOS

As propriedades reológicas e físico-químicas das FD são cruciais para o direcionamento das suas aplicações tecnológicas, principalmente pela indústria de alimentos e farmacêutica. As FD também podem ser aplicadas na confecção de outros bens de consumo, como tecidos, materiais biodegradáveis substituintes dos plásticos, curativos, entre outros (Donato, Poli, Taurisano & Nicolau, 2014; Peng & She, 2014; Otieno & Ahring, 2012).

Dentre as características relevantes para o direcionamento da aplicação industrial das FD, a solubilidade se destaca pois influencia no poder de hidratação, fermentabilidade *in vitro*, viscosidade e na sua capacidade de formação de gel. O peso e o tamanho molecular também são fatores a ser considerados e importantes nas propriedades das FD (Poutanen et al., 2018; Guillon & Champ, 2000). Essas características, por sua vez, também determinam seu comportamento no TGI de seres vivos e seus efeitos fisiológicos (Poutanen et al., 2018).

As FD podem ser adicionadas à diversos tipos de alimentos processados, com diferentes propósitos: podem ser espessantes em sopas, molhos e coberturas; agentes gelificantes em pudins e geleias; emulsificantes em iogurtes, sorvetes e margarinas; substitutos de gordura em produtos cárneos e laticínios; revestimentos comestíveis em produtos de confeitaria e produtos fritos; agentes clarificantes em cerveja e vinho; agentes encapsulantes de aromas e óleos; inibidores de cristalização em sorvetes e xaropes de açúcar; estabilizante de espuma em cerveja e coberturas batidas; agentes de suspensão em bebidas lácteas; inibidores de retrogradação de amido em pães e massas; agentes ligantes de água em alimentos; inibidor de sinerese em queijos e alimentos congelados; e, bioplásticos para embalagem de alimentos (Li & Nie, 2016). Neste contexto, a compreensão das propriedades reológicas das FD é crucial para estabelecer a sua aplicação no âmbito industrial.

A maioria dos carboidratos classificados como FD, também são utilizados como aditivos em alimentos e outros produtos, com o intuito de alterar a viscosidade, bem como as suas propriedades reológicas. Dentre as FD mais utilizadas, podemos citar as gomas (guar, xantana, arábica), celuloses modificadas, galactomananas e as pectinas. Em termos

técnicos das ciências dos alimentos, esses materiais são chamados de hidrocoloides ou gomas alimentares (BeMiller, 2019; Capuano, 2017; Dickinson, 2009). As pectinas, particularmente, são aditivos alimentares muito comuns e tradicionais, sendo amplamente usadas como agente espessante, texturizante, emulsificante e estabilizante (Einhorn-Stoll, 2017). Apesar de possuir um mercado promissor e crescente, as fontes utilizadas para a extração de pectinas ainda são limitadas, sendo os resíduos industriais, bagaço da maçã e a casca de cítricos as fontes mais comuns para a extração de pectinas (Einhorn-Stoll, 2017). Atualmente, outras fontes de resíduos industriais têm sido estudadas para a extração e produção de pectinas comerciais. Um dos fatores importantes na busca novas fontes de pectina é o rendimento. O bagaço da maçã pode apresentar rendimento de 4-21% de pectina, enquanto que a casca de cítricos de 9-33% (Chan et al., 2017). Neste sentido, as pectinas extraídas da casca de maracujá apresentam rendimento mínimo de aproximadamente 11%, com máximo de 20%, podendo assim ser uma nova fonte de pectinas comerciais. Essa variação é atribuída às diferentes formas de extração, bem como a localização geográfica de produção (Abboud et al., 2019; Hernández-Santos et al., 2015; Cazarin et al., 2014; Canteri et al., 2010; Yapo & Koffi, 2008).

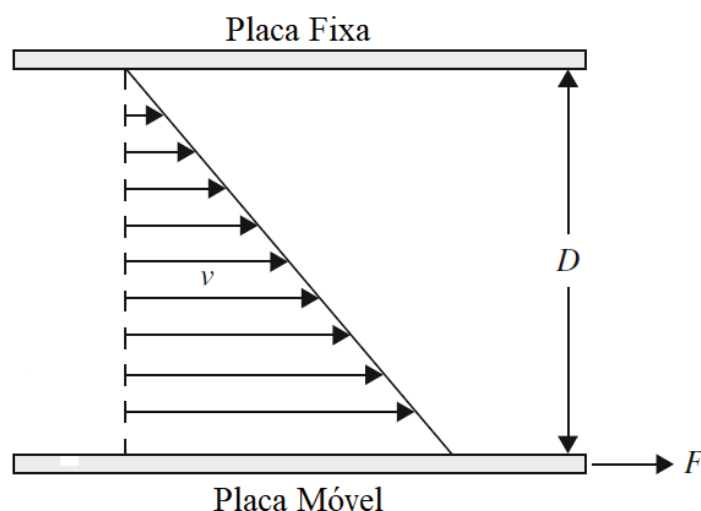
2.4.1 REOLOGIA DE PECTINAS

Reologia é o estudo da deformação e do fluxo de materiais sob influência de determinada tensão (Rao, 2007), e que define a relação entre tensão, estresse e tempo. Tensão é a alteração na forma e/ou no tamanho da amostra, em resposta à força aplicada. Estresse é a força necessária para promover alterações na forma do material, enquanto que o tempo é um componente da taxa de tensão ou estresse (BeMiller, 2019; Chan et al., 2017). Estes materiais podem ser sólidos, líquidos ou gasosos (Schramm, 2006). Sólidos ideais deformam-se elasticamente e a energia para a deformação é recuperada após a retirada da tensão, enquanto que fluidos ideais (líquidos e gases) deformam-se irreversivelmente e a energia necessária para a deformação é dissipada sob a forma de calor e não pode ser recuperada após remoção da tensão (Chan et al., 2017; Schramm, 2006). As propriedades reológicas dos alimentos estão relacionadas tanto à processabilidade quanto à sensação na boca. A maioria dos alimentos são semi-sólidos com algumas características de sólidos e outras de líquidos. São descritos como viscoelásticos, pois se comportam como se fossem um fluido viscoso e um sólido elástico (BeMiller, 2019).

A viscosidade é um aspecto da reologia, a propriedade mais importante que afeta o comportamento de fluxo de um fluido e está relacionada à resistência do fluido ao movimento, enquanto que a elasticidade é a propriedade mais relevante para os sólidos (Doran, 2013; Schramm, 2006). Certos materiais podem ser denominados viscoelásticos quando, dependendo da tensão, frequência ou temperatura a qual são expostos, em momentos se comportam como líquidos ou sólidos (Schramm, 2006). Assim, a viscosidade apresenta efeito determinante no bombeamento, mistura, transferência de massa, transferência de calor e aeração de fluidos; estes, por sua vez, exercem grande influência no design e na economia de bioprocessos (Doran, 2013).

Viscosidade é o parâmetro usado para relacionar a tensão de cisalhamento com o gradiente de velocidade em fluidos sob condições de fluxo laminar. Essa relação pode ser explicada considerando o desenvolvimento do fluxo laminar entre placas paralelas (Figura 6). As placas estão a uma distância relativamente curta e, inicialmente, o fluido entre elas é estacionário. A placa inferior é então movida firmemente para a direita com força de cisalhamento F , enquanto a placa superior permanece fixa.

FIGURA 6 - REPRESENTAÇÃO DE FLUXO DE UM DETERMINADO FLUIDO



v é a velocidade, d a distância entre as placas, f a força de cisalhamento.
FONTE: Adaptado de BeMiller, 2019.

De acordo com a lei básica da viscosimetria, definida por Isaac Newton, a viscosidade (η) pode ser definida como a razão entre a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento. A tensão de cisalhamento (τ) é a força (na Figura 6, representado por F) aplicada tangencialmente sobre a área do líquido, expressa em Pascal (Pa). A taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) é derivada do tempo da deformação causada pela ação da tensão de

cisalhamento (τ), sendo definida como o gradiente de velocidade nas camadas líquidas da amostra e é expressa como s^{-1} (Schramm, 2006). O comportamento de fluxo de um líquido pode ser representado através da seguinte equação:

$$(\tau = \eta \dot{\gamma}) \text{ tensão de cisalhamento} = \text{viscosidade} \times \text{taxa de cisalhamento}$$

Os fluidos que se aplicam à lei de Newton da viscosimetria ainda podem ser denominados como: Newtoniano, quando a viscosidade não depende da taxa de cisalhamento; e, Não-Newtonianos, quando a viscosidade varia de acordo com a taxa de cisalhamento. Estes, por sua vez, ainda podem ser denominados plásticos, dilatantes e pseudoplásticos: Fluidos plásticos são caracterizados como sólidos até que uma força externa seja aplicada e o material comece a fluir. Fluidos dilatantes são aqueles nos quais a viscosidade aumenta com o aumento da taxa de cisalhamento. Por sua vez, fluidos pseudoplásticos são aqueles onde ocorre a redução da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento, devido à organização das partículas que, no repouso, encontram-se enoveladas, entrelaçadas ou desorientadas, permitindo uma organização interna que proporciona alta viscosidade. Com a taxa de cisalhamento em ascensão, as partículas se orientam em direção ao fluxo, promovendo o desenovelamento das partículas, permitindo maior facilidade de escoamento frente ao fluxo, consequentemente afetando e reduzindo a viscosidade do fluido (Schramm, 2006). Esse comportamento é típico de soluções adicionadas de pectinas e outros aditivos considerados FD (Silva & Rao, 2006).

Uma das propriedades mais importantes das pectinas, como aditivo para a indústria de alimentos, é a sua capacidade de formar gel e, para avaliar essa propriedade, são realizados testes dinâmico oscilatórios. Desta forma, o comportamento viscoelástico de fluidos pode ser analisado através de experimentos reológicos dinâmicos, nos quais as amostras são analisadas em relação à sua viscosidade e elasticidade quando submetidas a tensões oscilatórias. As análises dinâmico oscilatórias permitem avaliar o comportamento de líquido e de sólido de fluidos através dos valores de G' , representando o módulo elástico ou de armazenamento, e o G'' , representando o módulo viscoso ou de perda (Silva & Rao, 2006; Schramm, 2006). O módulo G' corresponde a medida de energia armazenada no material e, para um gel, está diretamente relacionado à densidade de ligações cruzadas na rede. O módulo G'' é a medida da energia dissipada em forma de calor. Desta forma, se uma substância for puramente viscosa, G' será igual a 0, e se ela for puramente elástica, G'' será igual a 0. No entanto, grande parte das substâncias,

apresenta ambos os componentes, G' e G'' , e esses podem apresentar-se de diferentes maneiras, classificando os materiais analisados de acordo com a sua resposta. Assim, quando G' for maior que G'' e ambos forem independentes da frequência, o material apresenta caráter de gel ou sólido. Distintivamente, quando os valores de G'' se apresentarem maiores do que G' , então a dispersão será classificada como líquido. Quando os valores de G'' se apresentarem maiores do que G' no início da varredura de frequência e, posteriormente, sofrerem um *crossover*, ou seja, inversão dos módulos, então o sistema será caracterizado como líquido viscoelástico ou solução concentrada (Schramm, 2006).

O estudo do comportamento reológico de pectinas é importante, principalmente para a indústria alimentícia e farmacêutica, tendo em vista que grande parte de seus produtos contem modificadores reológicos para alcançar as características apropriadas de aplicação. De acordo com o CA, as pectinas são classificadas como aditivos alimentares seguros e sem limites para ingestão diária. As pectinas são uma família de biopolímeros naturais heterogêneos, biocompatíveis, biodegradáveis e renováveis (Chan et al., 2017). Quando aplicadas na formulação de produtos alimentícios, podem ser chamadas de hidrocoloides (BeMiller, 2019). Apesar da sua grande disponibilidade na natureza, as fontes comerciais de pectinas ainda são limitadas à poucos resíduos da indústria de sucos, tais como casca de frutas cítricas e bagaço de maçã (Chan et al., 2017; Kowalska et al., 2017). Desta forma, encontrar novas fontes de pectina com propriedades químicas distintas, ampliaria sua aplicação como aditivos alimentares, na indústria farmacêutica, e até mesmo na indústria de biocombustíveis, contribuindo para solucionar o problema do gerenciamento de resíduos industriais, estimado em milhões de toneladas a cada ano, e seu consequente impacto negativo ao meio ambiente (Kowalska et al., 2017).

As propriedades funcionais e de aplicação das pectinas dependem amplamente das suas características químicas e de sua capacidade de interação com o solvente. Muitas das aplicações de pectinas em alimentos ocorrem pela sua habilidade de influenciar as propriedades de sistemas aquosos, atraindo ou retendo moléculas de água, espessando ou gelificando sistemas aquosos (BeMiller, 2019). Como mencionado anteriormente, a homogalacturonana é o principal componente químico das pectinas, e seus grupos carboxílicos podem ser metil-esterificados (total ou parcialmente). O grau de metil-esterificação de pectinas as classifica em pectinas com alto ($DM > 50\%$) ou baixo grau ($DM < 50\%$) de metil esterificação (Chan et al., 2017).

2.4.2 PROPRIEDADES REOLÓGICAS DAS PECTINAS COM ALTO GRAU DE METIL-ESTERIFICAÇÃO

As pectinas com alto grau de metil-esterificação demandam condições específicas para formar gel. As propriedades físicas do gel são consequências da formação de uma rede tridimensional de moléculas de polímeros (Oakenfull & Scott, 1984). Desta forma, as condições requeridas para a gelificação e as propriedades do gel dependem em última análise da estrutura molecular, das forças intermoleculares que mantêm a rede em conjunto e da natureza das zonas de junção onde as moléculas de polímero são reticuladas. As zonas de junção nos géis de polissacarídeos são complexas e as estruturas moleculares são mantidas juntas por um grande número de interações individualmente fracas, tais como interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio (Chan et al., 2017; Oakenfull & Scott, 1984).

Pectinas com alto grau de metil esterificação requerem baixo pH e alta quantidade de co-solutos (geralmente sacarose) para gelificar. A sacarose é uma substância altamente hidrofílica, que compete pela água em soluções e reduz a quantidade de água disponível para realizar ligações de hidrogênio com a pectina, permitindo mais ligações intermoleculares, formação de zonas de junção e a formação do gel (BeMiller, 2019; Braccini, Rodríguez-Carvajal & Pérez, 2005). Com a redução do pH, (2.5~3.8) os grupos carboxilatos hidrofílicos e hidratados ($-\text{CO}_2^-$), são convertidos em ácidos carboxílicos menos hidratados ($-\text{CO}_2\text{H}$) não iônicos. Com a perda parcial da carga e da hidratação, segmentos da molécula tendem a se associar, formando zonas de junção e uma rede de cadeias de polímeros que retém água. Assim a formação de gel em HMP pode ocorrer por redução da atividade da água pela adição de co-soluto e supressão da repulsão eletrostática entre as cadeias por protonação dos grupos carboxilato (BeMiller, 2019).

Estudos realizados com pectinas HMP confirmam a necessidade de alterações no meio para a gelificação destas pectinas (Barbieri et al., 2019; Colodel, Vriesmann & Petkowicz, 2019; Giacomazza et al., 2018; Nascimento et al., 2016). As pectinas do maracujá já foram anteriormente extraídas e estudadas por Yapo & Koffi (2006), que isolaram uma LMP da casca de maracujá e realizaram análises reológicas. Os autores concluíram que aquela pectina demonstrava comportamento de gel somente na presença de cálcio e que este era comparável ao de pectinas comerciais com baixo grau de metil esterificação. Até o momento não foram encontrados na literatura estudos reológicos de HMP isolada da casca do maracujá pelo método de fibras dietéticas. Com isto, o presente

estudo teve como objetivo analisar as propriedades reológicas da pectina com alto grau de metil-esterificação da casca do maracujá.

2.5 CASCA DO MARACUJÁ (*Passiflora edulis*) COMO FONTE DE FIBRAS DIETÉTICAS

O gênero *Passiflora*, da família Passifloraceae, está presente principalmente na região tropical do continente Americano e Africano, e constitui aproximadamente 500 espécies de videiras. O maracujá (*Passiflora edulis*) é um fruto deste gênero, nativo do Brasil, conhecido como maracujá azedo ou maracujá amarelo (Figura 7) (Junghans & Jesus, 2017; Yapo & Koffi, 2008; Queiroz et al., 2012). É uma planta trepadeira de crescimento rápido e vigoroso, com folhagem e flores exuberantes. O fruto amarelo-brilhante tem formato oblongo e sua polpa, parte mais consumida e utilizada da confecção de bebidas e sobremesas, possui cor amarelo forte ou alaranjada (Junghans & Jesus, 2017).

FIGURA 7 - MARACUJÁ (*Passiflora edulis*)



FONTE: Junghans & Jesus, 2017; o Autor, 2016.

O Brasil é o maior produtor e consumidor de maracujá do mundo, atingindo aproximadamente 550 mil toneladas de fruta em 2017, além disso é responsável por mais de 80% da produção mundial (IBGE, 2018; Junghans & Jesus, 2017). O fruto é amplamente utilizado na produção de sucos, sobremesas e bebidas. A parte comestível do maracujá é composta por polpa e sementes, o restante (~ 60%) é constituído pela casca, ainda pouco explorada economicamente. Recentemente, o uso de resíduos de frutas como

matéria-prima para a produção de ingredientes funcionais para indústrias alimentícias e farmacêuticas têm recebido mais atenção (López-Vargas et al., 2013; Nascimento, Calado & Carvalho, 2013; Seixas et al., 2013). A produção de matéria-prima com propriedades funcionais e medicinais para a indústrias de alimentos, condimentos, cosméticos e farmacêuticos, também chamada de maracujá funcional-medicinal, é uma estratégia para agregar valor comercial para a casca, subproduto da indústria de suco de maracujá (Junghans & Jesus, 2017). Além disso, estudos têm demonstrado que a casca do maracujá pode ser utilizada como matéria-prima para a obtenção de subprodutos de alto valor agregado, como FD e outros compostos bioativos (Canteri et al., 2010; Hernández-Santos et al., 2015; Lima et al., 2016; Lopez-Vargas et al., 2013; Silva et al., 2014; Yapo & Koffi, 2008).

Estudos anteriores relataram que a casca do maracujá pode conter de 60% a 81,9% do total de FD, 11,7% a 20,1% de FDS, e 40% a 62,4% FDI (Canteri et al., 2010; Hernández-Santos et al., 2015; Lima et al., 2016; Lopez-Vargas et al., 2013; Silva et al., 2014; Yapo & Koffi, 2008). Esta variação no conteúdo de FD pode ser atribuída as diversidades geográficas e climáticas onde o maracujá foi cultivado e analisado. Além disso, o maracujazeiro é uma fruta alógama, ou seja, que produz frutos somente por polinização cruzada entre flores de plantas diferentes, isto, por sua vez, promove uma variabilidade genética onde um maracujazeiro nunca será geneticamente idêntico ao outro, influenciando assim nas características no fruto (Junghans & Jesus, 2017).

Assim, considerando que a casca do maracujá (CM) é fonte de FD, pesquisas buscaram avaliar seus efeitos fisiológicos. Estudos realizados em humanos demonstraram que a dieta suplementada com farinha de casca do maracujá foi capaz de melhorar parâmetros metabólicos, tais como reduzir a glicemia de jejum e a hemoglobina glicada em indivíduos com diabetes tipo 2; reduzir os níveis de glicemia de jejum e triglicérides em mulheres com hipercolesterolemia (Queiroz et al., 2012; Ramos et al., 2007). Em modelos animais, a suplementação com casca do maracujá protegeu contra o ganho de peso, interferiu na saciedade e na ingestão alimentar, melhorou a sensibilidade à insulina e o metabolismo da glicose em dieta hiperlipídica e reduziu os níveis de triglicérides, glicose, insulina e leptina em ratos diabéticos (Lima et al., 2016; Corrêa et al., 2014). Também foi demonstrado seus efeitos anti-inflamatórios, diminuindo o dano no cólon em modelo de indução de colite por administração sulfato de sódio dextrano em camundongos (Cazarin et al., 2016) e melhorou estado antioxidante *in vivo* (Silva et al., 2014). Outros efeitos observados pela ingestão da casca do maracujá foram a redução da

síndrome da lipodistrofia em pacientes com HIV (Marques et al., 2016), redução dos níveis de colesterol em mulheres (Ramos et al., 2007), bem como propriedades antitumorais (Silva et al., 2012).

2.6 TUCUM (*Bactris setosa*) COMO FONTE DE FIBRAS DIETÉTICAS

A *Bactris setosa* (Figura 8), também conhecida como tucum, é uma palmeira arbustiva nativa do Brasil, pertence à família Arecaceae e apresenta distribuição demográfica ampla, ocorrendo em todas as regiões do país (Brasil, 2019; Rosa et al., 2016). Seu fruto tem formato ovóide com dimensão de 1,2 cm a 2,1 cm de comprimento e 1,3 cm a 2,2 cm de largura, apresenta casca roxa, polpa esbranquiçada e uma semente (Rosa et al., 2016; Fustinoni-Reis et al., 2016). O fruto é consumido por populações indígenas e populações do Cerrado (Rosa et al., 2016) e estudos demonstram que o tucum está entre uma das quatro frutas do Cerrado com maior teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante, além de apresentar proteção contra danos oxidativos no fígado, em modelos experimentais (Fustinoni-Reis et al., 2016; Rosa et al., 2016). Um estudo mais recente (Cunha & Arruda, 2017), avaliou marcadores de estresse oxidativo, inflamação e marcadores moleculares associados ao envelhecimento em ratos que receberam dieta suplementada com polpa e casca do tucum. Os resultados demonstraram que a suplementação com tucum aumentou a atividade antioxidante no fígado e reduziu os níveis sanguíneos de citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e TNF- α) através da ativação do fator de transcrição Nrf2, além de promover o aumento da expressão de proteínas relacionadas à proteção contra o envelhecimento.

FIGURA 8 – TUCUM (*Bactris setosa*)



FONTE: <https://sites.unicentro.br/wp/manejoflorestal/9552-2/> (acesso em 30/08/2019)

Até o presente, não foram encontrados estudos que analisaram o conteúdo, bem como, as características químicas estruturais das FD deste fruto. Os frutos de palmeiras apresentam conteúdo de hemiceluloses, incluindo arabinoxilanas (Cantu-Jungles et al., 2017a,b; Peña et al., 2016; Harris & Smith, 2006) estudadas quanto ao seu potencial prebiótico. Esses compostos são explorados e pesquisados principalmente em cereais, membros da família Poaceae (Abbeele et al., 2013). Os benefícios das arabinoxilanas são relacionados ao metabolismo da glucose e na modulação da microbiota intestinal, pois demanda grande variedade de enzimas bacterianas para a sua degradação no TGI humano, afetando os padrões de fermentação no intestino, sendo possivelmente fermentada ao longo do cólon. Por esses motivos, as AX são estudadas como uma nova classe de prebióticos em potencial, embora seja importante destacar que a estrutura fina do AX influencia diretamente suas propriedades biológicas (Neyrinck et al., 2018; Abbeele et al., 2013). A presença de AX em membros da família Arecaceae é citada na literatura (Cantu-Jungles et al., 2017a,b; Peña et al., 2016; Harris & Smith, 2006), no entanto a importância da presença destes compostos nas palmeiras, bem como o incentivo ao seu consumo ainda não é reconhecido.

3 ARTIGO I

Accepted Manuscript. Publicado na revista Journal of Functional Foods:

ABBOUD, K. Y.; LUZ, B. B.; DALLAZEN, J. L.; WERNER, M. F. P.; CAZARIN, C. B. B.; JUNIOR, M. R. M.; IACOMINI, M.; CORDEIRO, L. M. C. Gastroprotective effect of soluble dietary fibres from yellow passion fruit (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) peel against ethanol-induced ulcer in rats. Journal of Functional Foods. v. 54, p. 552-558, 2019.

Gastroprotective effect of soluble dietary fibres from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) peel against ethanol-induced ulcer in rats

Kahlile Youssef Abboud^a, Bruna Barbosa da Luz^b, Jorge Luiz Dallazen^b, Maria Fernanda de Paula Werner^b, Cinthia Baú Betim Cazarin^c, Mário Roberto Maróstica Junior^c, Marcello Iacomini^a, Lucimara M. C. Cordeiro^{a*}

^a *Department of Biochemistry and Molecular Biology, Federal University of Paraná, CP 19.046, CEP 81.531-980, Curitiba, PR, Brazil.*

^b *Department of Pharmacology, Federal University of Paraná, CEP 81.531-980 Curitiba, PR, Brazil*

^c *Department of Food and Nutrition, School of Food Engineering, University of Campinas, CEP 13083-862, Campinas, SP, Brazil*

* Corresponding author. Phone: +55 (41) 33611655; Fax: +55 (41) 32662042; *E-mail address:* lucimaramcc@ufpr.br

ABSTRACT

Yellow passion fruit peel (PFP) is considered an important source of dietary fibre (DF) and its consumption has been associated with health benefits in metabolic and gut disturbs. This work aimed to characterize the chemical structure of soluble DF (SDF) from PFP and evaluate its gastroprotective activity in acute gastric-ulcer model induced by ethanol in rats. SDF was composed of 92% of GalA and presented high methyl esterified homogalacturonan (DE= 70%), with relative M_w of 53 kDa. Oral pre-treatment of animals with SDF (0.1, 1 and 10 mg/kg) significantly reduced gastric ulcer lesions by 72%, 79% and 87% respectively. The gastroprotective effect was maintained when SDF was administered by the intraperitoneal route. SDF also prevented the depletion of GSH levels and gastric wall mucus when administered by both routes. These results demonstrated that ingestion of SDF from PFP exerts significant gastroprotective effects *in vivo* on experimentally induced gastric ulcers.

Keywords: soluble dietary fibre; pectin; yellow passion fruit peel; anti-ulcer effect.

1. Introduction

Yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) is a native plant of Brazil, where it is widely cultivated mainly for the industrial production of juice and soft drinks. Its processing generates large amounts of peel and seed waste since it can account for more than 50% of the fruit weight (López-Vargas, Fernández-López, Pérez-Álvarez, Viuda-Martos, 2013; Seixas et al., 2014). Passion fruit is also well known for its therapeutic and health properties. Traditionally, its leaves have been used for the treatment of anxiety and insomnia (Barbosa et al., 2008). Likewise, surveys based on passion fruit peel (PFP) supplementation in both human and experimental models, demonstrated metabolic and health improvements which has been associated to its dietary fibre (DF) content (de Souza et al., 2018; Macagnan et al., 2015).

In this context, (DF) is a nutritional concept that describes a wide variety of carbohydrates, including cellulose, hemicelluloses and pectins, that cannot be digested by endogenous enzymes of the human gastrointestinal tract thus, they can't be hydrolyzed nor absorbed by the small intestine (Poultanen et al., 2018; Brownlee, 2014; Englyst, Liu, Englyst, 2007). The main food sources of DF are plant origin foods, such as whole grains, vegetables, fruits, as well as their by-products such as seeds, leafs, pomace and peels (Albuquerque et al., 2019; Martins, Pinho, Ferreira, 2017). The daily consumption of these foods, their by-products, and hence DF, is well recognized as an essential part of a healthy diet and thus benefits in the gastrointestinal tract function, cardiovascular diseases and diabetes (Albuquerque et al., 2019; Verspreet, Damen, Broekaert, Verbeke, Delcour, Courtin, 2016; Brownlee, 2014).

In this sense, PFP supplementation, which is considered an important source of DF (de Souza et al., 2018), have been investigated. Studies in humans demonstrated that diet supplemented with PFP flour was able to improve metabolic parameters, such as

reducing fasting blood glucose and glycated haemoglobin in type 2 diabetes individuals (de Queiroz et al., 2012); as well as reduce fasting blood glucose and triglycerides levels in hypercholesterolaemic women (Ramos et al., 2007). In animal models, supplementation with PFP in isocaloric diet, protected against weight gain (Corrêa et al., 2014), decreased serum levels of triglycerides, improved glucose parameters (Macagnan et al., 2015; Corrêa et al., 2014), and increased faecal excretion of lipids. In high fat diet animal models, PFP improved insulin sensitivity, glucose metabolism and serum levels of incretins and leptin (Lima et al., 2016). More recently, PFP was tested in *in vitro* model of the upper gastrointestinal tract (TIM-1) and it was shown that PFP was able to slow down the absorption of glucose compared to other tested fruit by-products (de Souza et al., 2018).

Moreover, in animal models of induced colitis, PFP flour supplementation exerted an intestinal anti-inflammatory effect and attenuated the colonic damage caused by the dextran sodium sulphate. It demonstrated protective effects against symptoms and clinical observations, which included less diarrhoea, rectal bleeding and bloody faeces, weight loss and decreased food intake (Cazarin et al., 2014, 2016; Silva et al., 2014).

In this sense, several studies trends towards DF and how it can affect metabolism, chronic diseases such as diabetes, as well as the intestine its microbiota, although few studies analysed DF effects on the upper gastrointestinal tract (Brownlee, 2014). Thus, this work aimed to characterize the chemical structure of an isolated dietary fibre from PFP and evaluate its gastroprotective activity in acute gastric-ulcer model induced by ethanol in rats.

2. Material and Methods

2.1 Yellow passion fruit peel flour

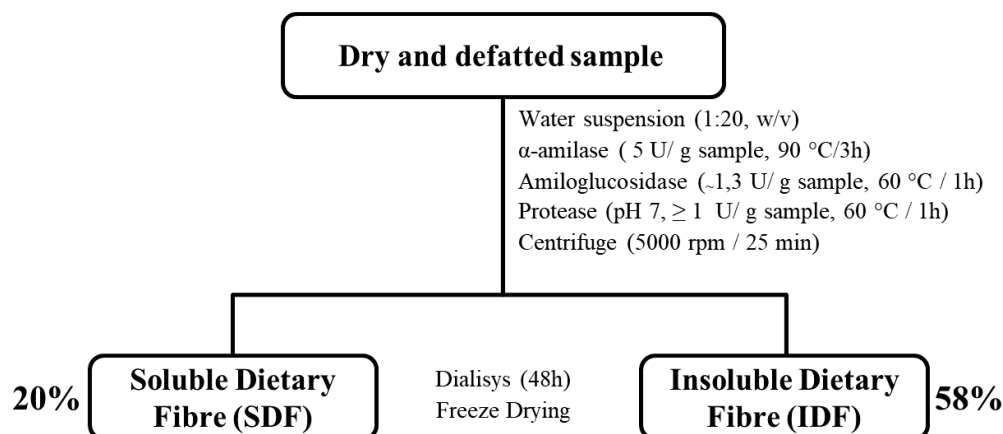
Yellow passion fruits (*Passiflora edulis*) cultivated in Torre de Pedra/SP, Brazil, harvested in June 2010, were used in the present study. After sanitation, it was performed the separation between pulp and peel. The peels were cut and dried at 50 °C (Marconi, Piracicaba / SP - Brazil) until to reach 10% of moisture. Once dry, it was ground in a hammer mill (20 mesh) to obtain flour, which was stored in the dark plastic packaging at room temperature until analysis (24 °C).

2.2 Extraction of soluble dietary fibre

Passion fruit peel flour was defatted with hexane (1:7, w/v, 2x), air dried and submitted to the standard enzymatic-gravimetric method AOAC official (Method 991.43) to obtain soluble and insoluble dietary fibres (Figure 1). Briefly, samples undergo sequential enzymatic digestion by heat-stable α -amylase, protease, and amyloglucosidase to remove starch and protein. The enzymatic treatments were performed in a heated water bath with temperature adjusted for each enzyme, under constant stirring. Samples were suspended in water (1:20, w:v), and heated until 90 °C. α -Amylase was added (5 units/g of sample) and samples were treated for 3 hours. The suspension was cooled to 60 °C, amyloglucosidase (1.3 units/g of sample) was added and remained for 1 hour. At the end of this treatment, the Lugol's iodine test was performed to confirm the absence of starch. Then, pH was adjusted to 7.0 with 10% NaOH solution and protease (≤ 1 unit/g of sample) was added to the suspension and incubated for 1 hour. Finally, samples were heated to 80 °C, for one hour to inactivate the enzymes.

The enzymatically-treated suspensions were centrifuged (5000 rpm/25 min.) and supernatant (containing soluble dietary fibre - SDF) was separated from the precipitated

(containing insoluble dietary fibre - IDF). Samples were then submitted to dialysis against tap water at room temperature, for two days, in 12-14 kDa size exclusion membranes (Spectra Por®). Each material was freeze-dried, and yields were determined and expressed as a percentage based on the weight of dry passion fruit flour.



2.3 Monosaccharide composition

Neutral monosaccharide composition was determined by derivatization of SDF to alditol acetates after hydrolysis and reduction. Briefly, samples were submitted to hydrolysis with 2M TFA for 8h at 100 °C, followed by NaBH₄ reduction and overnight acetylation with Ac₂O-pyridine (1:1, v/v). Analyses were conducted on GC-MS (Varian, model Saturn 4000), with He as a carrier gas. A capillary column (30 m × 0.25 mm i.d.) of DB-225, kept up 50 °C during injection for 1 min, then adjusted at 40 °C/min to 220 °C and held at this constant temperature for 19.75 min, was used for the quantitative analysis.

Uronic acids were determined according to Filisetti-Cozzi & Carpita (1991) spectrophotometric method.

2.4 Determination of homogeneity and relative molecular weight

The homogeneity and relative molecular weight of SDF were determined by high-performance steric exclusion chromatography (HPSEC). Briefly, four columns were used in series (7×10^6 Da, 4×10^5 Da, 8×10^4 Da and 5×10^3 Da, Ultrahydrogel, Waters) and a Waters 2410 refractometer was used as detection equipment. The eluent was 0.1 M NaNO_2 containing 200 ppm NaN_3 at 0.6 mL/min. SDF sample, previously filtered through a membrane (0.22 μm , Millipore), was injected at a concentration of 1 mg/mL. Standards dextran (487 kDa, 266 kDa, 124 kDa, 72.2 kDa, 40.2 kDa, 17.2 kDa) and 9.4 kDa, from Sigma were used to obtain the calibration curve and molecular weight reference.

2.5 Nuclear magnetic resonance spectroscopy

SDF sample was analysed for its chemical structure by means of ^1H , ^{13}C and 2D ^1H - ^{13}C HSQC correlation map. Analyses were performed at 70 °C on a Bruker AVANCE III 400 NMR spectrometer, operating at 9.5 T, observing ^1H at 400.13 MHz and ^{13}C at 100.61 MHz, and equipped with a 5-mm multinuclear inverse detection probe with z-gradient. The chemical shifts are expressed in ppm relative to CH_3 signal from internal reference acetone (δ 30.2/2.22). Bruker supplied all pulse programs.

The degree of methylesterification was determined by ^1H NMR spectroscopy (Grasdalen et al., 1988). Briefly, the fractions were deuterium-exchanged three times by freeze-drying with deuterium oxide solutions, finally dissolved in deuterium oxide, and transferred into 5-mm NMR tube. The ^1H NMR spectra were acquired at 70 °C, with 256 scans, at pD 5.0, on a Bruker AVANCE III 400 NMR spectrometer, operating at 9.5 T, observing H at 400.13 MHz. Chemical shifts were expressed as δ ppm, using the resonances of HDO at 4.20 as internal reference. All pulse programs were supplied by Bruker.

2.6 Animals

Female Wistar rats (180 – 200 g), obtained from the vivarium of Federal University of Paraná, were kept in plastic cages containing pine shavings (maximum of 5 rats per cage) and maintained at 22 ± 2 °C under a 12/12 h light/dark cycle, with free access to food (Nuvi-Lab CR-1, Quimtia S/A, Colombo, PR, Brazil) and water. All animal protocols were approved by the Committee of Animal Experimentation of Federal University of Paraná (CEUA/BIO - UFPR: nº 1123) and conducted in agreement with the “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” (8th edition, National Research Council, 2011).

2.7 Acute gastric lesions induced by ethanol in rats

Gastric lesions were induced by oral administration (p.o.) of ethanol, as previously described (Robert et al., 1979). Following 18 h of fasting with free access to water, animals (n = 6) were orally pre-treated with vehicle (V: water, 1 mL/kg), sucralfate (S: 100 mg/kg) or omeprazole (O: 40 mg/kg). SDF fraction was administered orally (at 0.1, 1 and 10 mg/kg) or intraperitoneally (at 1 mg/kg, i.p.). One hour after the pre-treatments, acute gastric lesion was induced by ethanol p.a. administration (1 mL/animal, p.o.), and then 1 h later, the animals were euthanized by thiopental overdose (100 mg/kg, i.p.) followed by cervical dislocation. The stomachs were excised, opened along the greater curvature, cleaned with saline, stretched flat and photographed to measure the haemorrhagic gastric lesions area (mm²) using computerized planimetry software (Image Tool® 3.0). Subsequently, the glandular portion of the stomach was divided in two parts and weighted for determination of gastric wall mucus and reduced glutathione (GSH) levels.

2.8 Measurement of wall mucus and reduced glutathione (GSH) levels in gastric tissue

The analysis of gastric mucus level was performed according to Corne, Morrissey & Woods (1974). The gastric tissue, prior divided and weighted, was incubated in 0.1% Alcian Blue solution for 2 h, then washed twice with 0.25 M sucrose for 15 and 30 min, for subsequently extraction of wall mucus complexed with Alcian Blue with 0.5 M magnesium chloride solution. This extract was mixed in equal parts with ether and centrifuged for 10 min at 3600 rpm. Finally, the absorbance of the supernatant was spectrophotometrically measured at 598 nm, and the results were expressed in μg of Alcian Blue/g of tissue using a standard curve of Alcian Blue (6.25 – 100 μg).

The reduced glutathione (GSH) levels were evaluated in the other half of gastric tissue homogenized with 0.2 M potassium phosphate buffer (pH 6.5), according Sedlak & Lindsay (1968) The homogenate was mixed with 12.5% trichloroacetic acid, then centrifuged for 15 min at 3000 rpm (4 °C). The obtained supernatant was pipetted with 400 mM TRIS-HCl buffer (pH 8.5) and 10 mM 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (DTNB), which results in a colorimetric reaction. Then, GSH levels were quantified by the absorbance measured at 415 nm and interpolated into a standard curve of GSH (0.375–3 μg), and the results were expressed as μg of GSH/g of tissue.

2.9 Statistical analysis

Results were expressed as mean $\pm$ standard error of mean (SEM) and the statistical significance ($P < 0.05$) was determined using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Bonferroni's test ($n = 5 - 6$ animals) using GraphPad Prism® software version 6.0 (San Diego, CA, USA).

3 Results and Discussion

The defatted yellow passion fruit peel powder (50 g), submitted to the enzymatic-gravimetric method, centrifuged and dialysed against tap water, yielded approximately 78% of total dietary fibre (TDF, g/100 g of dried weight) in which, 20% (10 g) were soluble dietary fibres (SDF) and 58% (29 g) were insoluble dietary fibres (IDF). This agrees with previous studies that employed dietary fibre extraction methodologies, which reported 57.9% to 81.9% for TDF, 11.7% to 20.1% for SDF, and 40% to 62.4% for IDF (Lima et al., 2016; Macagnan et al., 2015; Cazarin et al., 2014; Hernández-Santos et al., 2014; Silva et al., 2014; López-Vargas et al., 2013; Canteri et al., 2010; Yapo & Koffi, 2008a).

On monosaccharide composition, IDF presented a complex monosaccharide composition, typical of hemicellulosic polysaccharides, with high amounts of xylose, followed by galactose, uronic acids, glucose, mannose, arabinose and rhamnose (Table 1). SDF fraction was mainly composed of galacturonic acid (92%) suggesting the presence of pectin. The remaining eight percent presented relative amounts of arabinose, galactose and glucose, as shown in Table 1.

Table 1. Monosaccharide composition of dietary fibres obtained from passion fruit peel flour.

Fraction	Neutral Sugars ^a						Uronic Acids ^b
	Ara	Rha	Gal	Glc	Man	Xyl	
SDF	3.0	tr ^c	2.3	1.8	tr ^c	tr ^c	92.0 ^c
IDF	7.9	1.8	18.2	14.0	10.7	47.4	17.0 ^d

^a % of peak area relative to total peak areas, determined by GC-MS.

^b Determined spectrophotometrically using the modified *m*-hydroxybiphenyl method (Filisetti-Cozzi & Carpita, 1991).

^c Galacturonic acid was employed in the calibration curve.

^d Glucuronic acid was employed in the calibration curve.

^e Trace amounts.

Size exclusion chromatography was used to analyse the SDF fraction, and one main peak with the relative molecular weight of 53 kDa was observed (Fig. 1).

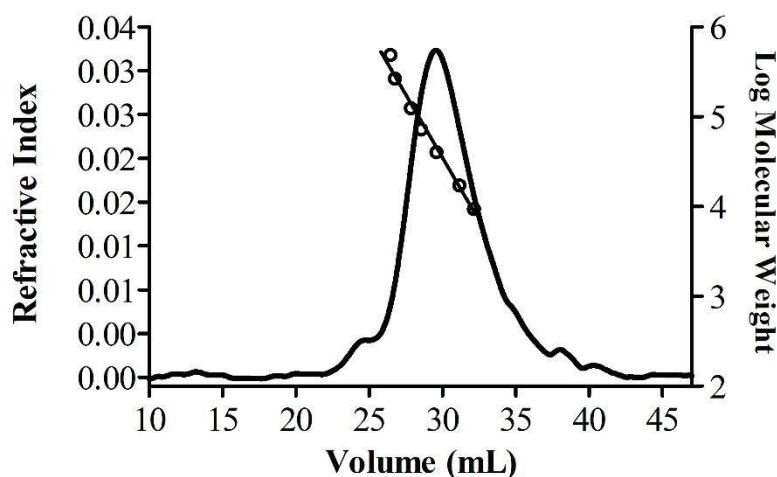


Figure 2. HPSEC elution profile of soluble dietary fibres (SDF) from passion fruit peel. Refractive index detector. Elution volume of dextran standards of molecular weight 487 kDa, 266 kDa, 124 kDa, 72.2 kDa, 40.2 kDa, 17.2 kDa and 9.4 kDa (left to right) were employed to construct the calibration curve.

The ^{13}C and ^1H NMR spectra and 2D ^1H - ^{13}C HSQC correlation map of SDF (Fig. 2) were in agreement with monosaccharide composition and showed typical signals of α -D-GalpA units. Those at δ 99.3/5.14 and δ 100.1/4.96 are from C-1/H-1 of non-esterified and esterified α -D-GalpA units, while the signal at δ 52.8/3.81 was assigned to $-\text{COOCH}_3$. Also signals at δ 71.5/4.68 and δ 70.6/5.07 from non-esterified and esterified C-5/H-5 respectively, and at δ 78.5/4.46 from C-4/H-4 of the GalpA units. Finally, signals at δ 68.2/3.98 and δ 68.2/3.75 from C-2/H-2 and C-3/H-3. These assignments, in addition to the results of sugar composition, suggest the presence of a methyl-esterified homogalacturonan in SDF portion of PFP. Thus, the degree of methyl-esterification (DM) was determined by ^1H NMR spectroscopy, showing a value of approximately 70%, which can characterize it as highly methoxylated pectin.

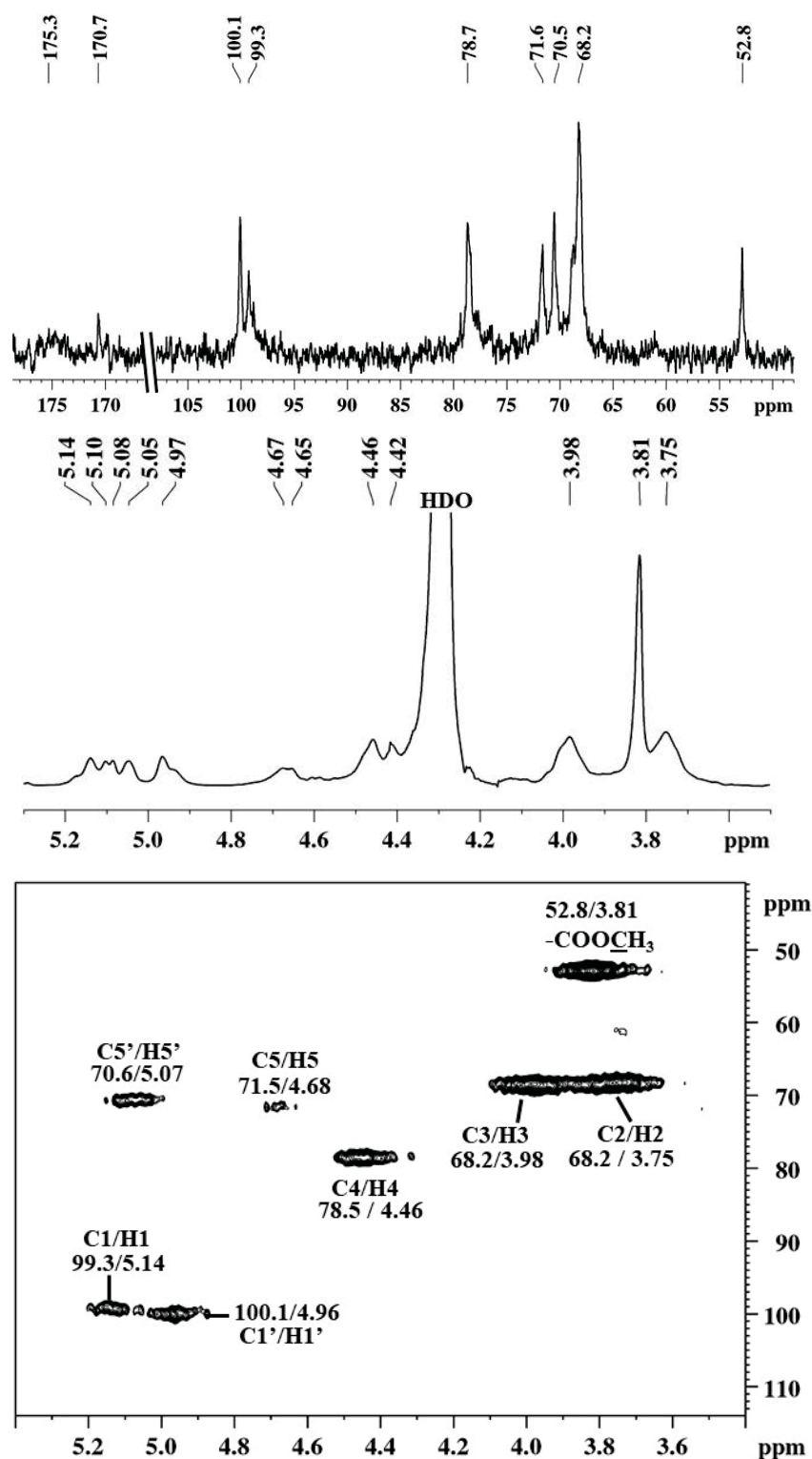


Figure 3. NMR spectra of soluble dietary fibres (SDF) from passion fruit peel, in D₂O at 70°C. (A) ¹³C-NMR spectrum; (B) ¹H NMR spectrum and (C) 2D ¹H-¹³C HSQC correlation map. C1'H1' and C5'/H5' are from C/H correlations of methyl esterified α-D-GalpA units.

Pectin extraction from PFP, aiming food applications and utilization of a by-product of the processing industries of juice, has been studied by several authors. The most common methods used for the extraction of pectins from PFP include: calcium-ion chelators or diluted acids (nitric acid, sulfuric acid, acetic acid, tartaric acid or citric acid) under conventional heating (60-100 °C); and autoclave or microwave-induced heating (Canteri et al., 2010; Contreras-Esquivel, Aguilar, Montanez, Brandelli, Espinoza-Perez, Renard, 2010; Kliemann et al., 2009; Pinheiro et al., 2008; Seixas et al., 2014; Yapo & Koffi, 2006, 2008b; Yapo, 2009). These studies showed that the extraction procedure (acid type and concentration) of pectin has a significant effect on its yield and macromolecular parameters (GalA content, degree of methyl esterification, molar mass and intrinsic viscosity). The GalA content in these studies varied from 65.5% to 88.2%. The pectin present in SDF fraction presented 92% of GalA and was obtained in very good yield (20%, g/100g dry weight). Pectins with various degrees of methyl-esterification have been extracted from passion fruit peels, also depending on the type of extraction. Low methoxy pectins (with DM= 5% to 45.94%) were observed by Yapo & Koffi (2006, 2008b) and Kliemann et al. (2009) while high methoxy pectins (with DM = 54.0% to 79.6%) have been extracted by others (Canteri et al., 2010; Contreras-Esquivel et al., 2010; Pinheiro et al., 2008; Seixas et al., 2014; Yapo, 2009). Pinheiro et al. (2008) observed that weak extraction conditions, such as low citric acid concentration, increased the degree of methyl esterification of the pectins. We found a DM of 70% for pectin in SDF fraction, showing that the applied DF extraction methodology can extract the pectin close to its native form. Regarding molar mass of pectin extracted from passion fruit peels, it ranges from 5.1×10^4 to 4.9×10^5 g/mol (Seixas et al., 2014; Yapo & Koffi, 2006, 2008b; Yapo, 2009). It has been observed that pectin may suffer degradation when extracted under severe conditions, presenting lower

molar mass and exhibited a polydisperse and multimodal elution pattern in HPSEC (Yapo, 2009), while a homogeneous elution profile, with only one peak and high molar mass was observed by Canteri et al. (2010) and Contreras-Esquivel et al. (2010).

Once our objective was to evaluate *in vivo* gastroprotective activity of the soluble dietary fibre from passion fruit peels, despite all the optimized methodologies of pectin extraction available in the literature, the enzymatic-gravimetric dietary fibre method proved to be the method of choice. It extracted a pectin with high content of GalA, and it may mimic the physiological process of digestion in the gastrointestinal tract.

Several species of the genus *Passiflora* have long been used in folk medicine, especially as anxiolytic and sedative. The consumption of PFP as flour had been recommended for its bioactive compounds, but also for its high DF content. In this sense, a significant number of observational and meta-analysis research, showed that regular intake of DF can prevent and support the treatment of metabolic, gastrointestinal or diet-related diseases (Guiné et al., 2016; Verspreet et al., 2016), in addition, surveys regarding DF supplementation, tended to focus on their effects on the gastrointestinal tract and its associated cancers, heart and bowel diseases, diabetes, hypercholesterolemia, and more recently the gut microbiota (Brownlee, 2014). Thus, assuming that PFP is a source of DF, some studies already evaluated its physiological effects and evidence shows that PFP presented health benefits, such as, improve insulin resistance in type 2 diabetics individuals (de Queiroz et al., 2012), anti-inflammatory effect and decreased colonic damage against induced dextran sodium sulphate model of mouse colitis (Cazarin et al., 2016), improved antioxidant status in animal models (Silva et al., 2014), as well as decreased lipodystrophy syndrome in HIV patients (Marques et al., 2016). Even though, few studies evaluated the effects of DF on the stomach or the

upper gastrointestinal tract (Brownlee, 2014). To the best of our knowledge, no published research evaluated the effect of SDF from PFP on gastric ulcer models. Thus, the gastroprotective effect of SDF isolated from PFP was investigated in the ethanol-induced gastric ulcer. Oral administration of ethanol is a well-accepted model for induction of gastric ulcer and widely used to evaluate the gastroprotective effects of new agents against mucosa damage (Robert et al., 1979). It is well known that oral administration of ethanol abrogates the gastric mucosal defence, favouring the development of haemorrhagic lesions, due to the reduction of gastric mucus and GSH levels, which are important protective factors against stomach damage (Oates and Hakkinen, 1988).

Our results showed that the oral pre-treatment with SDF at 0.1, 1 and 10 mg/kg significantly decreased the ethanol-induced gastric lesions in 72.25%, 79.23% and 87.17% respectively, when compared to the vehicle group (V: $198.80 \pm 33.87 \text{ mm}^2$) (Fig. 4A). It is also clear that the gastroprotective effect promoted by SDF did not display a dose-response relationship. Moreover, ethanol-induced gastric lesions were prevented in 93.06 % by sucralfate, a drug that creates a physical barrier protecting the stomach against the gastric acidity, when compared to vehicle group (Fig. 4A).

Considering the gastric mucosal defensive factors, the oral treatment with SDF 0.1, 1 and 10 mg/kg was able to prevent the depletion of GSH levels in 52.20 %, 41.91 % and 50.33 %, respectively, when compared to the vehicle group (V: $1659.29 \pm 97.26 \text{ } \mu\text{g}$ of GSH/g of tissue) (Fig. 4B). Additionally, the depletion of gastric wall mucus was prevented by SDF 0.1, 1 and 10 mg/kg in 26.32 %, 25.03 % and 31.00 %, respectively, when compared with vehicle group ($3460.57 \pm 72.66 \text{ } \mu\text{g}$ of Alcian Blue/g of tissue) (Fig. 3C). The treatment of animals with sucralfate was able to prevent only GSH levels (37.32 %), without the preservation of gastric wall mucus (Fig. 4 B and C).

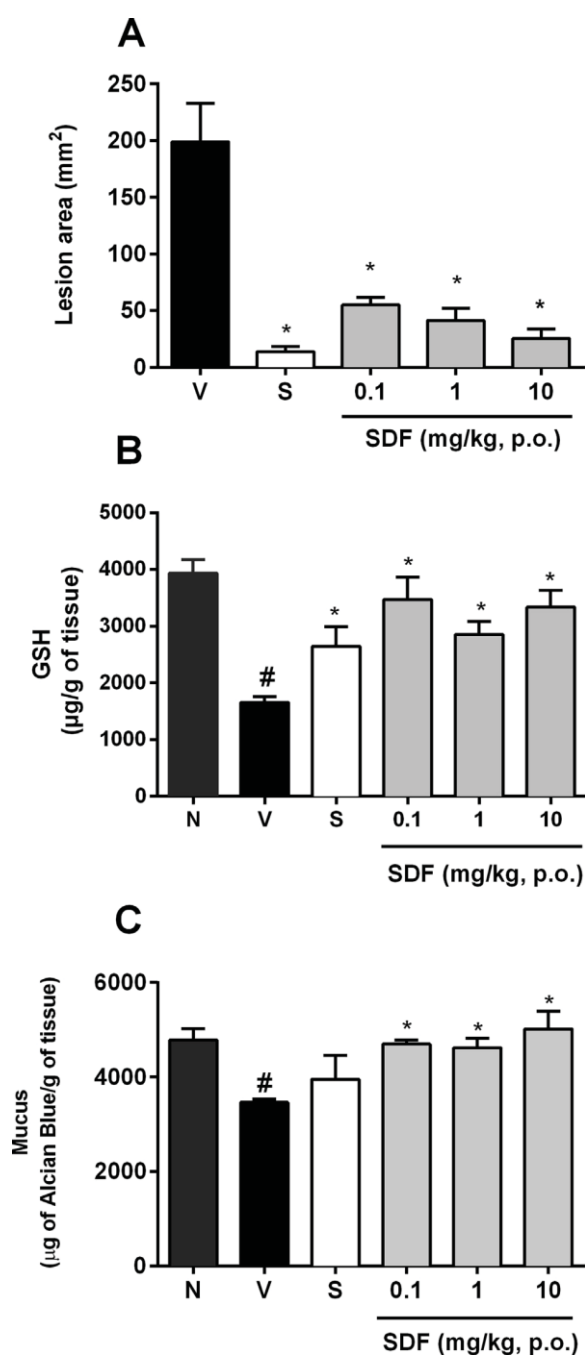


Figure 4. Effect of oral pre-treatment with SDF on gastric ulcers induced by ethanol in rats. The animals (n= 5-6) were orally treated with vehicle (V: water 1 mL/kg), sucralfate (S: 100 mg/kg) or SDF (0.1, 1 and 10 mg/kg), 1 h before oral ethanol P.A. (1 mL/animal) administration. Panel A: lesion area; Panel B: gastric glutathione (GSH) levels and Panel C: gastric mucus. The results are expressed as mean $\pm$ S.E.M. * $P < 0.05$ when compared to the vehicle group (V).

Interestingly, when animals were treated with SDF (1 mg/kg) by intraperitoneal route, the gastroprotective effect was maintained, decreasing gastric lesion area in 72.56%, when compared to vehicle group (V: $168.32 \pm 20.61 \text{ mm}^2$). This result is extremely valuable, since it is possible to discard that SDF promotes gastroprotection only by a physical barrier in the stomach (Fig. 5A). Furthermore, as observed with oral treatment, when SDF was administered by intraperitoneal route, the pectin from passion fruit peel preserved the gastric protective factors. SDF at 1 mg/kg (i.p.) was able to prevent the depletion of GSH levels in 40.81% and gastric wall mucus in 21.24 %, when compared to the vehicle group (V: GSH: $1659.29 \pm 97.25 \text{ } \mu\text{g}$ of GSH/g of tissue and Mucus: $3445.69 \pm 72.34 \text{ } \mu\text{g}$ of Alcian Blue/g of tissue) (Fig. 5 B and C). Since the mechanism of gastroprotection of sucralfate is attributable to the formation of a physical protective barrier, to compare the effect of SDF administered by intraperitoneal route, omeprazole was chosen as positive control. Omeprazole belongs to the proton pump inhibitors class, an antisecretory drug that inhibit irreversibly the gastric H^+ , K^+ -ATPase. Omeprazole decreased the gastric lesion in 91.40 % and prevented the depletion of GSH and mucus levels in 37.37 % and 26.61%, respectively (Fig. 5A, B and C).

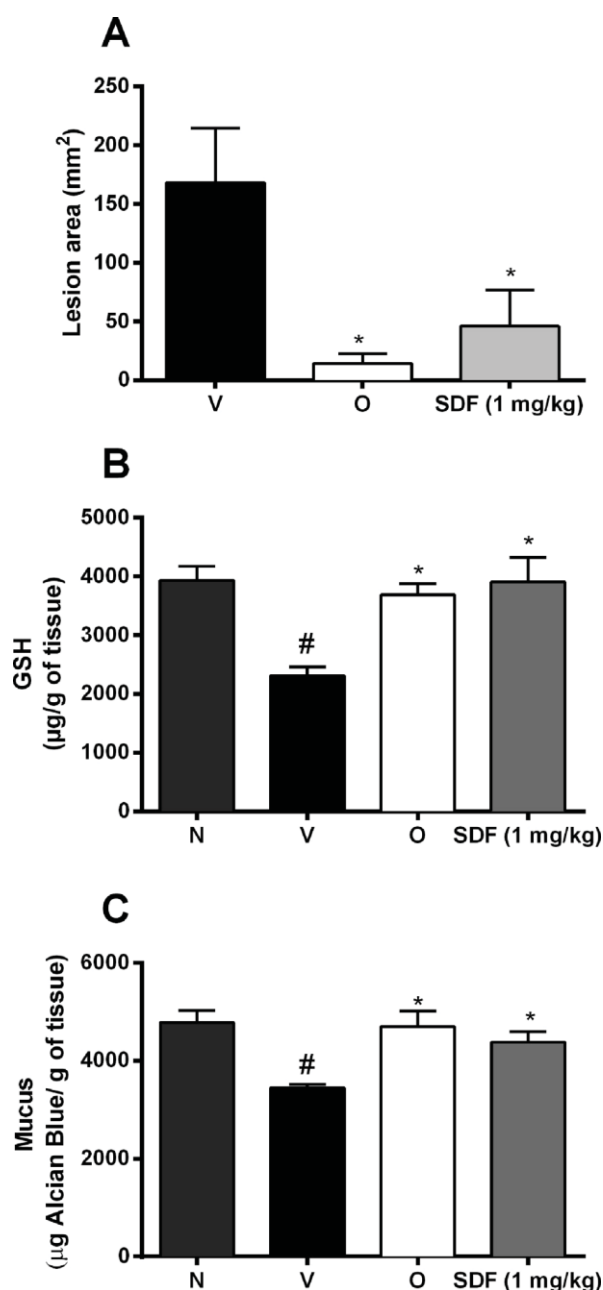


Figure 5. Effect of intraperitoneal pre-treatment with SDF on gastric ulcers induced by ethanol in rats. The animals (n= 5) were orally treated with vehicle (V: water 1 mL/kg), omeprazole (O: 40 mg/kg) or intraperitoneally with SDF (1 mg/kg), 1 h before oral ethanol P.A. (1 mL/animal) administration. Panel A: lesion area; Panel B: gastric glutathione (GSH) levels and Panel C: gastric mucus. The results are expressed as mean $\pm$ S.E.M. * $P < 0.05$ when compared to the vehicle group (V).

The gastroprotective effects of pectins in the ethanol-induced gastric ulcer model have already been reported in the literature. A pectic type II arabinogalactan from

Maytenus ilicifolia (Cipriani et al., 2006), a rhamnogalacturonan from jambu (*Acmella oleracea*) (Nascimento et al., 2013), type I arabinogalactan from cactus (*Cereus peruvianus* Mill.) (Tanaka et al., 2010) and a pectin from wormwood (*Artemisia campestris*) (Corrêa-Ferreira et al., 2017), all identified as pectic polysaccharides and considered dietary fibres, demonstrated gastroprotective effects and the pectin from wormwood also maintained the GSH levels and the gastric mucus barrier. It is noteworthy that the polysaccharides cited in those publications were not considered as dietary fibres due to different extraction methods and, they were isolated from medicinal plants. From food source, type I arabinogalactans from soybean meal (Cipriani et al., 2009) and from prunes (Cantu-Jungles et al., 2014) also promoted gastroprotection in the ethanol-induced gastric ulcer model. However, pectic polysaccharides from prunes did not prevent the depletion of GSH and the amount of gastric mucus (Cantu-Jungles et al., 2014). It is noteworthy that the gastroprotection promoted by SDF from passion fruit peel in the ethanol-induced gastric ulcer model was more effective than all the above cited pectic polysaccharides and the only one that has been tested and been active by the intraperitoneal route.

At this moment, some mechanisms suggest that gastroprotective effects displayed by polysaccharides could be related to the binding to the gastric mucosa surface, acting as coating agent; and/or to the reduction of gastric secretion (HCl and pepsin) as well as by protecting gastric mucosa due to increasing scavenging radicals and/or synthesis of mucus (Nergard et al., 2005; Mellinger-Silva et al., 2011). Thus, SDF from passion fruit peel presented its gastroprotective activity by preventing the depletion of GSH levels and gastric wall mucus and presented anti-ulcer effect even when administered by the intraperitoneal route. However, further studies are encouraged to investigate the mechanisms involved in the gastroprotective effects of SDF.

4. Conclusion

Yellow passion fruit peel is a very good source of dietary fibre (78%). Soluble dietary fibres (SDF) were isolated (yield of 20%) and composed of 92% of GalpA units and presented high methyl-esterified homogalacturonan (DE= 70%), with relative M_w of 53 kDa. Oral and intraperitoneal pre-treatments of animals with SDF significantly reduced gastric ulcer lesions induced by ethanol and prevented the depletion of GSH levels and gastric wall mucus. These results demonstrated that ingestion of SDF from passion fruit peel exerts significant gastroprotective effects in vivo on experimentally induced gastric ulcers. Moreover, this study adds one more valuable application for yellow passion fruit peel, which is an unexploited by-product from the juice industry in many tropical and subtropical countries, like Brazil.

Acknowledgements

This research was supported by the Universal Project from CNPQ foundation (Brazil) (Process 404717/2016-0) and fellowship granted to K. Y. Abboud (Process 140745/2013-0) provided by CAPES (Brazil). The authors are grateful to NMR Center of UFPR for recording the NMR spectra.

4 ARTIGO II

High methoxyl pectin from the soluble dietary fiber of passion fruit peel forms gel without the requirement of sugar addition

Kahlile Youssef Abboud^a, Marcello Iacomini^a, Fernanda Fogagnoli Simas^{b*}, Lucimara M. C. Cordeiro^{a*}

^a Department of Biochemistry and Molecular Biology, Federal University of Paraná, CP 19.046, CEP 81.531-980, Curitiba, PR, Brazil.

^b Department of Cell Biology, Federal University of Paraná, CEP 81.531-980 Curitiba, PR, Brazil

** Corresponding authors which contributes equally. Lucimara M. C. Cordeiro - Phone: +55 (41) 33611655; Fax: +55 (41) 32662042; E-mail address: lucimaramcc@ufpr.br. Fernanda Fogagnoli Simas - Phone: +55 (41) 33611508; Fax: +55 (41) 32662042; E-mail address: ferfs@ufpr.br*

ABSTRACT

Passion fruit peel (PFP) is a waste, considered a by-product from the fruit processing industry, accounting for approximately 50% of the fruit weight. The recovery of these by-products can be profitable since they usually are considered a good source of dietary fibre, antioxidants and vitamins. PFP is well known for its health properties and few studies have evaluated its rheological properties aiming industrial and technological applications. In this sense, the main objective of this work was to evaluate the rheological properties of polysaccharides (PFPP) that constitute the soluble dietary fibre portion isolated from PFP. PFPP contains a 70% methyl-esterified homogalacturonan, classified as a high methoxyl pectin (HMP). Rheological analysis of PFPP in water dispersions, as well as in the presence of sucrose (co-solute) and low pH, were performed. Flow behaviour analysis showed shear-thinning non-Newtonian behaviour of all samples. The gelling properties were assessed by dynamic oscillatory tests, in which all samples presented G' higher than G'' , characterizing a gel-like behaviour even without sucrose addition. Moreover, under simulated pasteurization thermostable behaviour were observed in all samples, with an increasing in the gel strength under cooling ramp. Taken together our analysis demonstrated that PFPP has divergent behaviour from commercial HMP, since PFPP do not require co-solutes (sucrose) or low pH to form gel. The present work reinforces the reuse of PFP as a source of soluble dietary fibres and pectins, providing an alternative application of PFP as a rheological modifier in a wide range of products, including those with low sugar, thus contributing to management of the high amounts of industrial by-products.

Keywords: passion fruit peel; soluble dietary fibre; pectin; rheological analysis.

1. Introduction

Passion fruit peel (PFP) is a by-product from the fruit processing industry and it accounts for approximately 50% of the fruit weight. Brazil is the largest passion fruit producer worldwide, responsible for more than 80% of the production, reaching approximately five hundred thousand tons of fruit in 2017 (Albuquerque et al., 2019; IBGE, 2018; de Souza et al., 2018, Souza & Gerum, 2017). The underutilization of these peels may represent an important environmental problem; however, it could also represent a good source of bioactive components such as antioxidants, dietary fibres and vitamins. The recovery of by-products present great potential to be used as food additives for the food industry, or as functional food ingredients or nutraceuticals to be applied for the prevention or treatment of human conditions (Albuquerque et al., 2019; Kowalska, Czajkowska, Cichowska & Lenart, 2017). Therefore, these (by) products represent a potentially convenient resource to be explored and the use of these residues to obtain high-added value compounds may be conducted towards the development of new products, reducing the impact caused in the environment. For most consumers, the acceptability of industrialized products for daily use is improved when natural ingredients are added instead of synthetic ones (Kowalska et al., 2017).

Accordingly, PFP has been widely studied regarding its health properties, hence, it exhibits potential to be processed as a raw material to another products, thus promoting environmental sustainability, as well as health for its consumers (Abboud et al., 2019; de Souza et al., 2018; Macagnan et al., 2015; Corrêa et al., 2014; de Queiroz et al., 2012; Ramos et al., 2007). Besides the potential to be applied in a wide range of health and disease conditions, Espírito-Santo et al. (2013, 2012 a,b), analysed PFP properties when applied to probiotic yoghurts demonstrating that PFP can also be applied into food

in order to reach technological improvements in the end product, as well as health claims since it contains dietary fibre (DF), mainly pectin, which is considered a soluble dietary fibre (SDF). SDF are undigestible food compounds which comprises polysaccharides, such as pectins, β -glucans, gums and some hemicelluloses (Englyst, Liu & Englyst, 2007).

Pectin is a traditional food ingredient and additive due to its emulsifying, gelling, thickening as well as stabilising properties, thus it has been widely studied for its physical-chemical and rheological properties (Lopes da Silva & Rao, 2007). The different chemical structures of pectin define its peculiar properties, dictated by its chemical composition and structure, thus different approaches are taken from the industry to reach the ideal product (Muhammad et al., 2014). Despite its availability in a large number of plant species, commercial sources of pectin are limited mainly to citrus and apple pomace, both by-products from the juice industry (Chan et al., 2017; Kowalska et al., 2017). In this sense finding new sources of pectin from different by-products, with distinct chemical properties would broaden their application as food additives, nutraceuticals or even biofuels, contributing to solve the problem of waste management, which has been estimated in millions of tons every year, and its consequent adverse impact on the environment (Kowalska et al., 2017).

Homogalacturonan (HG) is the main component of pectin, but it can also present type I rhamnogalacturonan (RGI) as side chains, in different proportions depending on the food source (Einhorn-Stoll, 2017; Yapo, 2011). HG comprises the “smooth region” of pectin, and is a linear homopolymer of α -1,4-linked-D-Galacturonic Acid (GalpA) units that can be methyl esterified at *O*-6 in different degrees (degree of methyl esterification - DE), which in turn bestow the High-Methoxyl (HMP, where DE > 50%) and Low-Methoxyl (LMP, where DE < 50%) pectin classification. RGI is a

heteropolymer composed of α -1,2-linked-L-rhamnose and α -1,4-D-GalpA units (Einhorn-Stoll, 2017; Chan et al., 2017; Yapo, 2011).

HMP are well known regarding its gelling properties, for so they are widely applied by different types of industries as a rheology modifier and stabilizer, as well as in sugary products (Lopes da Silva & Rao, 2007). HMP behave differently from LMP. In order to form gel, HMP requires low pH (< 3.5) conditions and high sugar concentrations ($> 55\%$), while LMP require divalent ions, such as calcium, no need for sugar addition, as well as a wider range of pH (2-6) (BeMiller, 2019; Chan et al., 2017). The acidic pH promotes the decrease of electrostatic repulsive forces among high methoxyl pectic chains by the protonation of the carboxyl groups. To decrease the water activity and boost chain-chain interactions, great amounts of sugar (i.e. saccharose) are used with HMP. Lastly, HMP gel formation is governed by two main non-covalent types of interactions: hydrophobic interactions between methoxyl groups; and, hydrogen bonds set between secondary alcohol groups and non-dissociated carboxyl (Oakenfull & Scott, 1984). For those reasons as well as to their ability to form spreadable gels, HMP is mainly applied to jellies, jams, preserves and marmalades (BeMiller, 2019). Thus, the main objective of this work was to evaluate the rheological properties of an HMP present in SDF portion of PFP. This compound was already analysed regarding its chemical structure characteristics (Abboud et al., 2019) and is a high methoxyl pectin (DE 70%), mainly composed of galacturonic acid (92%) and with a Mw 53 kDa. There is limited information about rheological properties of passion fruit pectins. Yapo and Koffi (2006) evaluated the gelling ability and viscoelastic properties of a low methoxyl pectin extracted from passion fruit peel from Ivory Coast, while Canteri *et al.* (2010) only determined the reduced viscosity of an HMP obtained from different portions of PFP (exocarp, mesocarp and endocarp) extracted with 0.05 mol/L

nitric acid at 80 °C. Interestingly, the present study demonstrated that the pectin present in SDF portion of PFP has a divergent behaviour from commercial HMP, since it did not require co-solutes or low pH to form gel, and thus could be easily applicable as a rheological modifier by the industry in a wide range of products, including those with low sugar.

2. Methods

2.1. *High methoxyl pectin (PFPP) isolated from the soluble dietary fibre portion of passion fruit peel*

The soluble dietary fibre from PFP used in this work contains a high methoxyl pectin (PFPP), named homogalacturonan, previously extracted and analysed by Abboud et al. (2019). Briefly, passion fruit peel flour was defatted, air dried and submitted to the standard enzymatic-gravimetric method AOAC official (Method 991.43) to obtain soluble and insoluble dietary fibres (SDF and IDF, respectively). This method consists of sequential enzymatic treatment by heat-stable α -amylase, amyloglucosidase, and protease to remove starch and protein and it may mimic the physiological process of digestion in the gastrointestinal tract. To separate SDF from IDF, sample underwent centrifugation (5000 rpm/25 min.) and supernatant containing SDF was isolated from the precipitated, containing IDF. SDF was submitted to dialysis (12-14 kDa size exclusion membranes, Spectra Por[®]) against tap water at room temperature for two days. Lastly, it was freeze-dried. Yields were determined and expressed as a percentage based on the weight of dry passion fruit flour. Sample was then characterized by

monosaccharide analysis, degree of methyl esterification (DE), homogeneity (HPSEC) and ^{13}C -NMR.

2.2. Sample preparation for rheological analysis

PFPP dispersions were prepared in deionized water at 2% and 4% (w/w) concentration, constantly stirred overnight at room temperature.

Likewise, PFPP was prepared at 1% and 2% (w/w) concentration, containing sucrose (Merck) at 25% and 50% (w/w) at pH 3, as described by Vriesmann, Silveira and Petkowicz (2010), with few modifications. PFPP sample, sucrose and the water were weighted and constantly stirred overnight. Then, the solution was heated at 92 °C for 15 minutes in a water bath, under stirring. The solution was cooled, and the pH adjusted to 3 with a saturated solution of citric acid. Lastly, these samples were hermetically sealed and stored in the refrigerator (4 °C) for 1 or 2 days until analysis.

2.3. Rheological measurements

A HAAKE MARS II rheometer was used to conduct analysis, at 20 °C with a cone-plate (C60/2°TiL) measurement system and a 1 mm measurement gap. The temperature was controlled by a circulating water bath (DC5, Haake) coupled to a Peltier temperature control device (TC81, Haake). In order to allow the equilibrium of the temperature in the sample dispersions, they were placed on the rheometer plate for 300 seconds before all rheological analysis.

Flow curves were assessed in the controlled shear rate (CR) mode though the application of increased shear rate (0.005 - 500 s^{-1}) for 300 seconds. The shear stress (τ)

and the apparent viscosity (η) was evaluated as a function of shear rate and, the data of flow curves analysed and fitted according to the rheological models of Herschel–Bulkley ($\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n$) and Ostwald–de Waele ($\tau = K\dot{\gamma}^n$), where τ is the shear stress (Pa), K is the consistency index (Pa sⁿ), $\dot{\gamma}$ is the shear rate (s⁻¹), n is the flow behaviour index (dimensionless) and τ_0 is the yield stress (Pa) (Rao, 2007).

The frequency sweeps were carried out on controlled deformation mode using 1% strain in the 0.02 to 10 Hz range. G' , which is the elastic modulus associated to the solid response of the material and, G'' which is the viscous modulus, corresponding to the fluid response of the material (Zhong & Daubert, 2013), were analysed.

In order to study the thermostability of the solutions, temperature sweeps were performed, mimicking pasteurization processes, which is a relevant procedure to food products. The rheometer plate was previously heated to 88 °C and PFPP dispersions were placed on the warm plate. Subsequently, the temperature decreased to 4 °C at a rate of 2 °C per minute, at a fixed frequency of 1 Hz and strain of 1%. The rheological and statistical parameter were obtained by the software RheoWin 4 Data Manager. All the analyses were performed, at least, in three independent experiments. Graphics show the mean values and corresponding standard error of the mean (SEM).

2.4. Scanning electron microscopy images

PFPP was analyzed by scanning electron microscopy (Model VEGA3 LMU, Tescan, Kohoutovice, Czech Republic), equipped with a detector (SDD 80mm²) and AZ Tech Advanced software. The electron micrographs were obtained at a 15-kV accelerating voltage. The lyophilized PFPP was posed on aluminum stubs with double-face tape. Then, it was submitted to metallic coating with gold for 2 min with thickness

of 10 nm, under argon atmosphere, using metallic coating equipment (Model SCD 030, Pfeiffer, Balzers, Liechtenstein). This procedure was carried out at the Electron Microscopy Center at the Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil.

3. Results and Discussion

According to Abboud et al. (2019), PFP is mainly composed of dietary fibres (78%), of which 20% is from PFPP and 58% from IDF. The PFPP monosaccharide composition analysis presented 92% of galacturonic acid (GalpA), 3.0% of arabinose, 2.3 % of galactose and 1.8% of glucose. Size exclusion chromatography profile analysis demonstrated a relative molecular weight of 53 kDa and, the ^{13}C NMR spectrum and 2D ^1H - ^{13}C HSQC correlation map of PFPP agreed with monosaccharide composition and showed typical signals of α -(1 $\rightarrow$ 4)-linked homogalacturonan, with 70% of methyl esterification, being classified as a high methoxyl pectin (HMP). The degree of methyl esterification is an important feature since it can determine the gel formation mechanisms of pectins, their conformation and their rheological properties (May, 1990).

Flow behaviour analyses of PFPP dispersions at different concentrations were performed to evaluate apparent viscosity in response to increasing shear rates (Fig. 1). The results for both, PFPP aqueous dispersions at 2 and 4% (w/w) showed that the increasing concentrations of PFPP improved the apparent viscosity of the solution. Also, PFPP presented a characteristic shear-thinning non-Newtonian behaviour, where the viscosity of the dispersion decreases with increased shear rates. This is considered a typical behaviour for polysaccharide systems, in which the three-dimension network of the molecules exhibit a tendency to align on the flow direction, dissociate or assume another conformation, thus reducing viscosity (Schramm, 2006). Likewise, this outline

was seen in water dispersions, at different concentrations, of HMP extracted from alternative sources (other than citrus and apple pomace pectin) (Chan et al., 2017; Schramm, 2006).

PFPP at 2% and 4% (w/w) exhibited apparent viscosity values of 20.9 and 118 Pa.s at 0.01 s^{-1} , respectively. These values were much higher than those found for other HMP extracted from non-commercial sources. Nascimento et al. (2016) found an apparent viscosity of approximately 0.2, 1.5 and 7 Pa.s at 0.01 s^{-1} for an HMP from the pulp of *Solanum betaceum* at 3%, 5% and 8% (w/w) respectively. Likewise, HMP at 5% (w/w) and at 0.01 s^{-1} isolated from *Campomanesia xanthocarpa* Berg fruit (Barbieri et al., 2019a), ponkan peel pectin (*Citrus reticulata* Blanco cv. *Ponkan*) and a commercial citrus pectin (Colodel, Vriesmann & Petkovickz, 2019), presented apparent viscosity values close to 10 Pa.s, while pectin from cocoa pod husks had apparent viscosity values lower than 1 Pa.s at 0.01 s^{-1} (Vriesmann & Petkowicz, 2013). In this sense, it is important to highlight that PFPP aqueous dispersions were 2 to 15 times more viscous, in comparison to other HMP, which in turn demanded high amounts of co-solutes, such as sucrose, to enhance its viscosity.

One of the most important properties of pectins, as a raw material for the industry, is their capacity to form gel. HMP dispersed in water usually demonstrated a liquid-like behaviour, where G'' is higher than G' in the whole frequency range analysed (Barbieri et al., 2019a; Nascimento et al., 2016; Vriesmann & Petkowicz, 2013; Vriesmann et al., 2010). Interestingly, as seen in Fig. 2A, PFPP aqueous dispersion at 2 and 4% concentration (w/w), demonstrated gel-like behaviour, where the elastic modulus (G') presented higher values than the viscous modulus (G'') in the whole frequency range analysed. PFPP 2% presented, as expected, lower gel strength compared to PFPP 4% concentration (Table 2). Oakenfull (1991) suggested that sucrose plays a crucial role in

gelation of HMP, which was not observed in the present work. Thus, PFPP showed another important distinct feature, it forms gel in water ($G' > G''$ in all the frequency range) without any requirement of co-solutes or acidification. Barbieri et al. (2019a) also observed a gel-like behaviour for a pectin at 5% (w/v) aqueous dispersion from *Campomanesia xanthocarpa* Berg., however, the gel was weaker (G' values around 1 Pa, from 0.03 to 1 Hz) than PFPP at 4% (w/w), which showed G' values around 55 Pa in this frequency range.

Despite PFPP aqueous dispersion at 2% and 4% exhibited high apparent viscosity when compared to other HMP and demonstrated gel-like behaviour, we also were interested to evaluate its rheological behaviour in the presence of sucrose (Fig. 1). To this end, the viscosity properties of PFPP (1% and 2%; w/w), in the presence of different concentrations of sucrose (25% and 50%; w/w) at pH 3 (adjusted by the addition of citric acid) were analysed. The apparent viscosity was 2-fold improved by the addition of sucrose, when comparing 1% PFPP + 50% of sucrose to 1% PFPP + 25% of sucrose. It is noteworthy that the viscosity of 1% and 2% in the presence of 25% sucrose was similar to PFPP at 2% and 4% without sucrose, respectively (Fig. 1). 2% PFPP + 50% of sucrose had the same apparent viscosity of 4% PFPP at 0.01 s^{-1} , being more viscous compared to the other samples only at shear rate higher than this value. Therefore, PFPP was already highly viscous in aqueous dispersion and the addition of sucrose slightly improved its apparent viscosity. On the contrast, the addition of sucrose caused a great increase in the apparent viscosity of other high methoxyl pectins. For example, HMP from *Solanum betaceum* (at 3%; w/w) showed an enhancement of 100,000-fold in the apparent viscosity at 0.01 s^{-1} , from 0.2 Pa.s to near 20,000 Pa.s after addition of 50% (w/w) sucrose (Nascimento et al., 2016). As commented above, this

was not observed for PFPP, which showed only a 9-fold increase in the apparent viscosity, from 21 Pa.s for the aqueous solution at 2%, at 0.01 s^{-1} to near 188 Pa.s after the addition of 50% sucrose (Fig. 1).

A gel behaviour was also observed for 1% and 2% PFPP added with 25% or 50% of sucrose and it was sustained in all experiments (Fig. 2B, C and D). The increasing sucrose concentration affected gel strength for both, 1 and 2% of PFPP and it was more expressive on 1% PFPP, where gel strength increased 6 times (1.8 and 12.3 Pa at 0.02 Hz, respectively, Table 2).

Flow curves experimental data were fitted to rheological models, such as Ostwald de Waele and Herschel-Bulkley with high regression coefficients (R^2) values (≥ 0.99) (Table 1). These models are important since they may contribute to characterize flow behaviour of fluids, in motion and at rest. Chemical and physical properties of fluids have influence in their flow behaviour affecting industrial systems productivity and improvement and orientation of equipment operation (Doran, 2013; Rao, 2007). The Ostwald-de Waele model, also referred as power law model, stipulate parameters of flow behaviour (n) and consistency (K) index, in which shear-thinning fluids presents $n < 1$ (Rao, 2007). As shown in Table 1, all samples demonstrated flow behaviour (n values) lower than 1, indicating shear-thinning behaviours. Similarly, Herschel-Bulkley models also provide information on flow behaviour and consistency index, although with an extra parameter, the yield stress (τ_0), in which non-Newtonian fluids demand a finite stress (τ_0), which is the necessary stress to fluid start to flow. Accordingly, these materials behave as rigid solids until the yield stress is exceeded and the material flows as shear-thinning fluid, therefore samples presenting positive τ_0 values, will flow as power-law fluid (Alexandrou, McGilvrey & Burgos, 2001). As represented in Table 1,

τ_0 values were increased as the sample concentration increased, and the same occurred for the samples prepared with sucrose.

As HMP may be used as a rheological modifier (additive) in food and other products, it would be wise to evaluate its behaviour under thermic treatments, such as pasteurization, which in turn is a procedure, widely applied by the food and pharmaceutical industries aiming microbiological safety of products (Lewis & Heppell, 2000). Heating and cooling processes are used to analyze the behaviour of biopolymer gels as the heating may affect the intra- and intermolecular interactions and HMP gels are described as thermo-irreversible gels (Lopes da Silva & Rao, 2007).

Thus, in order to analyze whether thermic treatments would affect the rheological properties of PFPP, samples were subjected to 88 °C and underwent cooling up to 4 °C, at a rate of 2 °C/min, owing to simulate a pasteurization process. PFPP samples (in the presence or absence of sucrose) showed thermostability maintaining the gel-like behaviour since G' was greater than G'' over the temperature range (Fig. 3). Overall, the cooling increased the gel strength in PFPP samples and it may be due to new intra- and inter-molecular interactions stabilized by nonpermanent cross-links of gel networks that had been formed. A loss in gel strength was only observed at 2% PFPP aqueous dispersion, where G' values decreased with cooling.

The differentiated rheological behaviour of PFPP may be related to some structural and physic characteristics and/or method of extraction. It can be observed that its monosaccharide composition is less heterogeneous when compared with those HMP from other fruits (Barbieri et al., 2019a; Colodel et al., 2019; Nascimento et al., 2016; Vriesmann & Petkowicz, 2013; Min et al., 2011), presenting GalpA as a major monosaccharide (92%). Also, the presence of rhamnose, which was identified only in trace amounts in PFPP, is associated with lower viscosity and weaker gels, as it may

induce kinks in the galacturonan structure, thus interfering in the macromolecular organization required to form a gel network (Oakenfull, 1991). It is also reported that the presence of side chains and the molecular weight may affect the gelling processes, once less junction zones per molecule can be formed in low M_w pectins, thus weakening the gel (BeMiller, 2019; Axelos & Thibault, 1991). Interestingly, PFPP molecular weight was lower (53 kDa) compared to other HMP sources (> 100 kDa) and also demonstrated a homogeneous elution profile (HPSEC-MALLS), when compared to other HMP sources (Barbieri et al., 2019a; Colodel et al., 2019; Nascimento et al., 2016; Sousa et al., 2015; Yoo et al., 2006). Regarding the extraction methods, Min et al. (2011) observed that they have influence on the rheological behaviour of pectins obtained from apple pomace. PFPP was isolated by the enzymatic-gravimetric method, known as to preserve the original chemical features of the isolated molecules. The use of strong acids or high temperatures may be associated with alterations in the HMP structure (Adetunji, Adekunle, Orsat & Raghavan, 2017; Lopes da Silva & Rao, 2007). Besides, the use of strong acids is associated with environmental damage by producing hazardous contaminants. Therefore, enzymatic methods are usually considered environmentally friendly and a potential alternative method (Adetunji et al., 2017; Min et al., 2011).

The scanning electron microscopy of PFPP was also performed (Fig. 4). It is possible to observe a delicate and smooth material. According to Einhorn-Stoll (2017) homogeneous surface of pectin particles can promote water uptake and immobilization, moreover the author argues that amorphous particles allow fast water permeation and reaching of hydrophilic groups, compared to crystalline ones. As it can be seen in Fig .4, the whole structure resembles more amorphous, and that may explain PFPP behaviour when water was added, with fast uptake and swelling. In sum, these images

show that PFPP presents a homogeneous structure with some porous, and that may explain its high uptake, swelling and solubility in water.

The search for feasible alternative sources of pectin is increasing, as also the pectin market, which is expected to grow at a rate of 5-6% per year, and in 2015 pectin market reached \$1billion value (Chan, Choo, Young & Loh, 2017). An important factor to choose novel sources of pectin is the yielding. PFPP had similar yield (20% yield) compared to the main sources of commercial pectin worldwide, apple pomace and citrus pectin, which yields approximately 4-21% and 9-33%, respectively (Abboud et al., 2019; Chan et al., 2017). Taken together, all the results present herein reinforce that passion fruit peel could be a novel source of commercial HMP, with distinguished rheological properties.

4. Conclusion

PFPP, which is an HMP, demonstrated distinct shear-thinning non-Newtonian rheological behaviour when compared to other HMP, as no alteration in pH and addition of co-solute (sucrose) was required in order to PFPP form gel. Moreover, the addition of sucrose increased its apparent viscosity, however, not so intensively as observed for other HMP, for which the addition of sucrose played a crucial role in gelation mechanism.

Also, PFPP had a comparable yielding to other commercial pectins, which in turn enhance its feasibility to use as an alternative source of HMP. Moreover, there is a growing well-being trend among consumers and PFPP could fit well these demands since it didn't require sugar or chemical alterations to form gel, besides its well-known

health properties, prebiotic and DF potential. Lastly, PFPP may be a feasible option as a rheological modifier agent, with reduced environmental impact and bioactive properties.

5. Acknowledgements

This research was supported by the Universal Project from CNPQ foundation (Brazil) (Process 404717/2016-0), a fellowship granted to K. Y. Abboud (Process 140745/2013-0) provided by CAPES (Brazil), and L. M. C. Cordeiro (Process 310332/2015-0) provided by CNPq foundation (Brazil). The authors are grateful to Electron Microscopy Center of the Federal University of Paraná for the scanning electron microscopy experiments.

Figure Legends

Figure 1. Influence of shear rate ($0.005 - 1000 \text{ s}^{-1}$) on the apparent viscosity of PFPP from passion fruit peel at 25°C at different concentrations on water, with or without sucrose.

Fig. 2. Frequency sweeps at 25°C of PFPP in different concentrations and solutions. Elastic modulus (G') is represented with full symbols while viscous modulus (G'') with open symbols. (A) Frequency sweeps from PFPP aqueous solution at 2% and 4% concentration (w/w). (B) Frequency sweeps from PFPP at 1% plus 25 or 50% sucrose (w/w). (C) Frequency sweeps from PFPP at 2% plus 25 or 50% sucrose (w/w). (D) Comparison between the viscoelastic properties of all samples.

Fig. 3. Thermic treatments of PFPP solutions and gels at different concentrations. Elastic moduli (G') and viscous moduli (G'') as a function of temperature. (A) PFPP aqueous solution at 2% and 4% concentration (w/w). (B) PFPP at 1% plus 25 or 50% sucrose (w/w). (C) PFPP at 2% plus 25 or 50% sucrose (w/w). (D) Comparison of elastic moduli (G') between all samples.

Fig. 4. Scanning Electron Microscopy of PFPP. (A) $100\times$, (B) $1000\times$ and (C) $5000\times$ magnifications.

Table 1. Rheological parameter based on PFPP flow curves.

		PFPP		1% PFPP		2% PFPP	
Rheological Model		2%	4%	25%	50%	25%	50%
				Sucrose	Sucrose	Sucrose	Sucrose
Ostwald de Waele	K (Pa.s)	0.2132	2.148	0.1697	1.048	1.971	4.303
	n	0.6062	0.4792	0.6683	0.6465	0.4946	0.5208
	r^2	0.9939	0.9936	0.9975	0.9975	0.9921	0.9943
Herschel-Bulkley	τ_0	0.3971	1.859	0.2879	1.558	2.243	4.406
	K (Pa.s)	0.1220	1.308	0.1207	0.7437	1.072	2.669
	n	0.6879	0.5524	0.7180	0.6968	0.5839	0.5912
	r^2	0.9984	0.9971	0.9993	0.9993	0.9974	0.9976

Table 2. Ratio G'/G'' between all PFPP solutions and gels, at different concentrations in dynamic oscillatory tests.

Samples		Frequency (Hz)			
		0.02	0.1	1	10
PFPP 2%	G' (Pa)	3.70 ± 0.21	4.75 ± 0.36	5.44 ± 0.42	nd
	G'/G''	7.4 ± 0.88	11.05 ± 1.77	5.08 ± 0.8	nd
PFPP 4%	G' (Pa)	42.48 ± 1.66	53.54 ± 2.04	64.94 ± 2.05	80.10 ± 2.33
	G'/G''	6.65 ± 0.63	8.26 ± 0.91	5.48 ± 0.67	2.72 ± 0.3
PFPP 1%	G' (Pa)	1.80 ± 0.28	2.56 ± 0.40	3.28 ± 0.61	nd
25% Suc.	G'/G''	4.86 ± 1.47	4.65 ± 1.66	2.78 ± 1.47	nd
PFPP 1%	G' (Pa)	12.34 ± 4.25	24.20 ± 3.14	42.45 ± 0.22	67.32 ± 0.29
50% Suc.	G'/G''	3.72 ± 2.52	3.46 ± 0.64	2.50 ± 0.22	1.51 ± 0.02
PFPP 2%	G' (Pa)	17.05 ± 0.75	25.55 ± 0.69	34.72 ± 2.47	49.35 ± 3.14
25% Suc.	G'/G''	4.06 ± 0.58	5.42 ± 0.52	3.97 ± 0.54	2.00 ± 0.22
PFPP 2%	G' (Pa)	36.88 ± 14.44	63.84 ± 11.95	96.87 ± 13.87	148.48 ± 20.38
50% Suc.	G'/G''	3.37 ± 2.28	4.02 ± 1.18	3.13 ± 0.77	1.73 ± 0.41

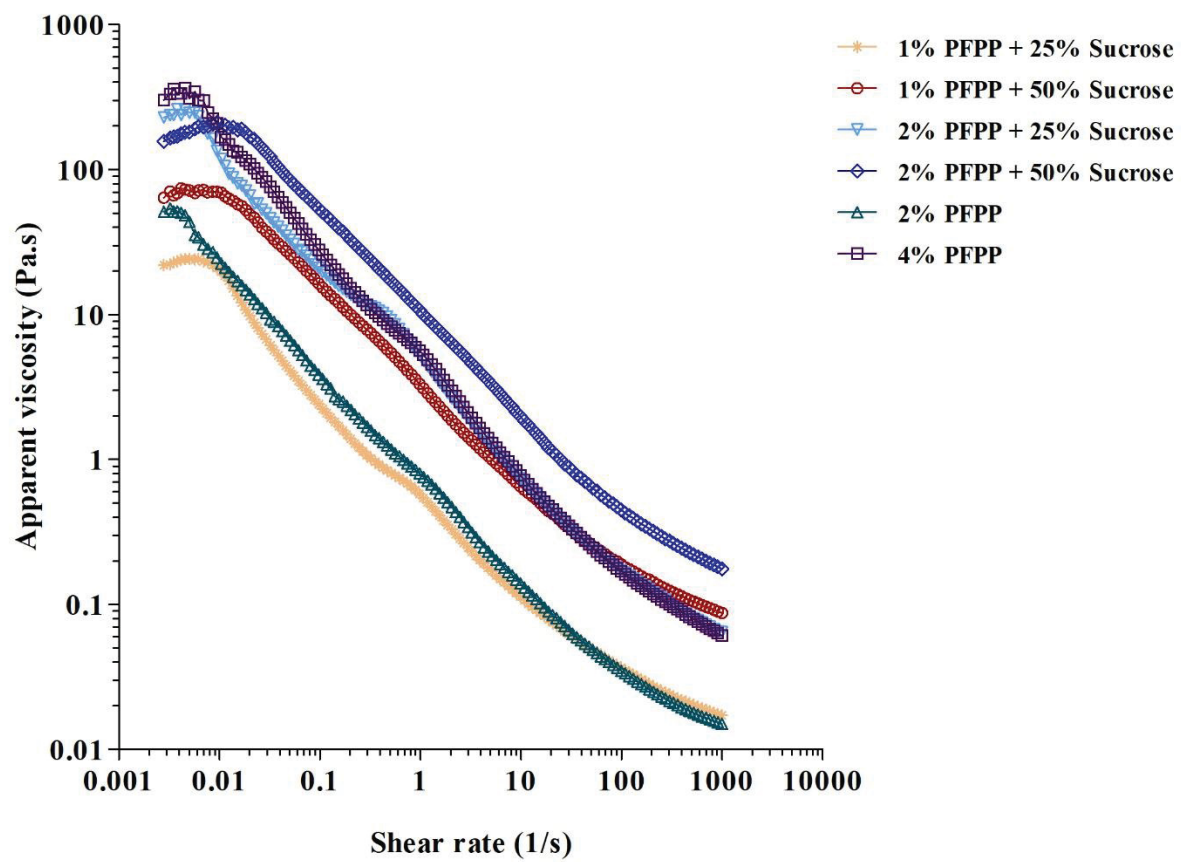


Figure 1

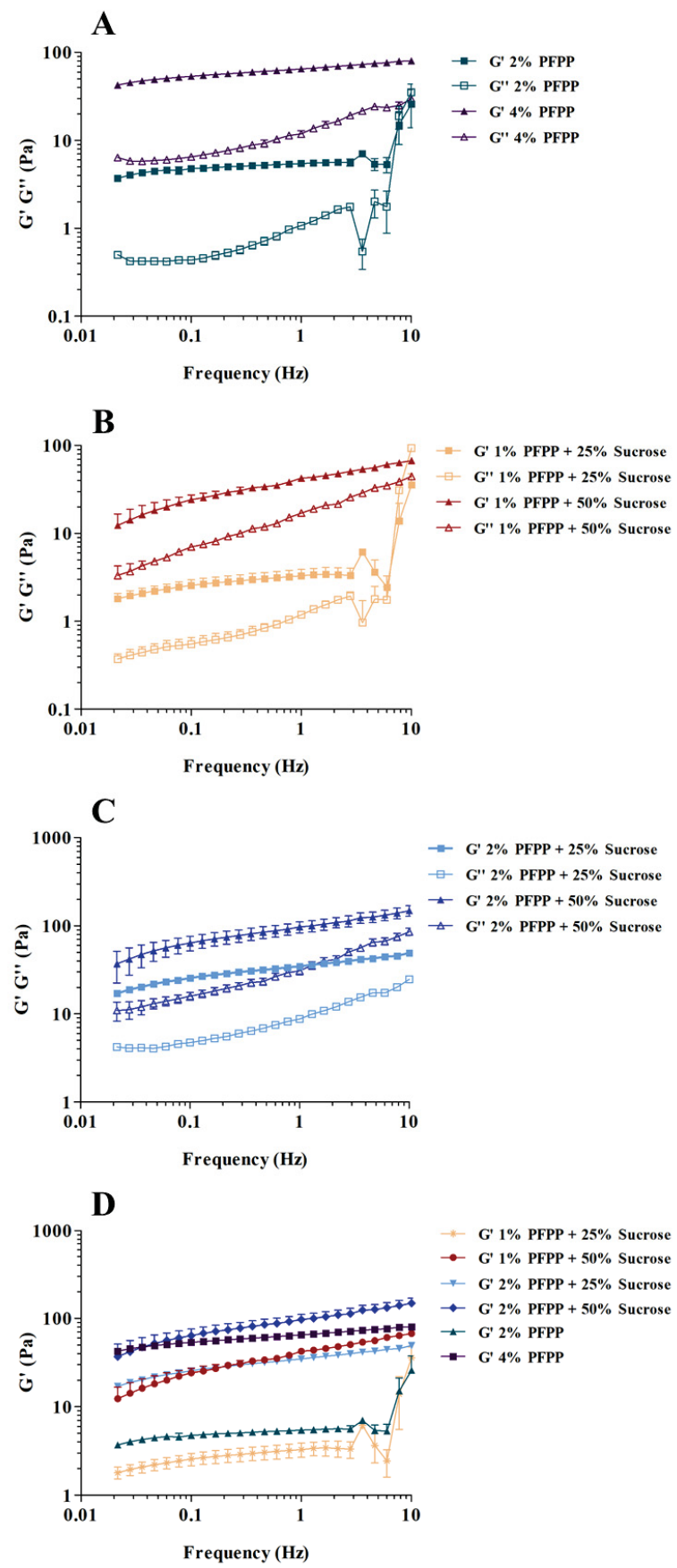


Figure 2

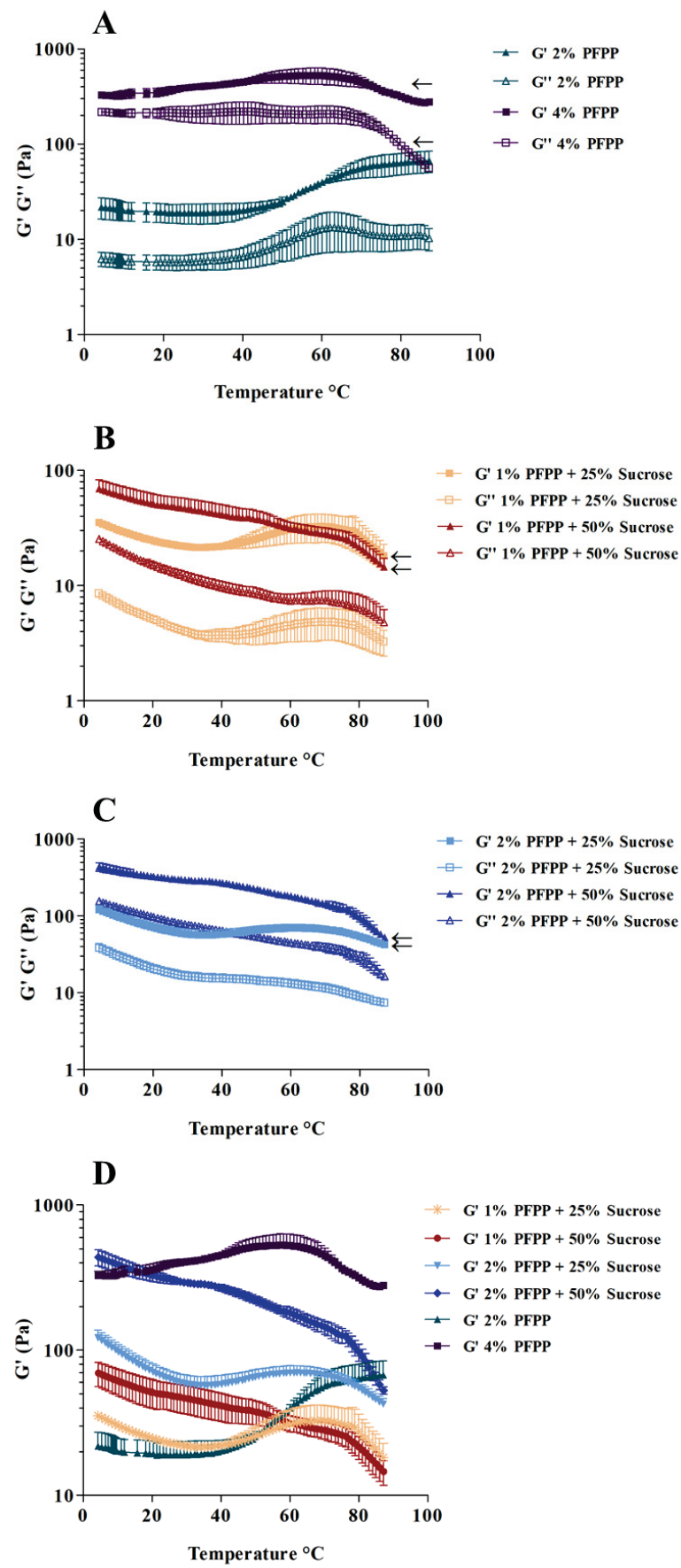


Figure 3

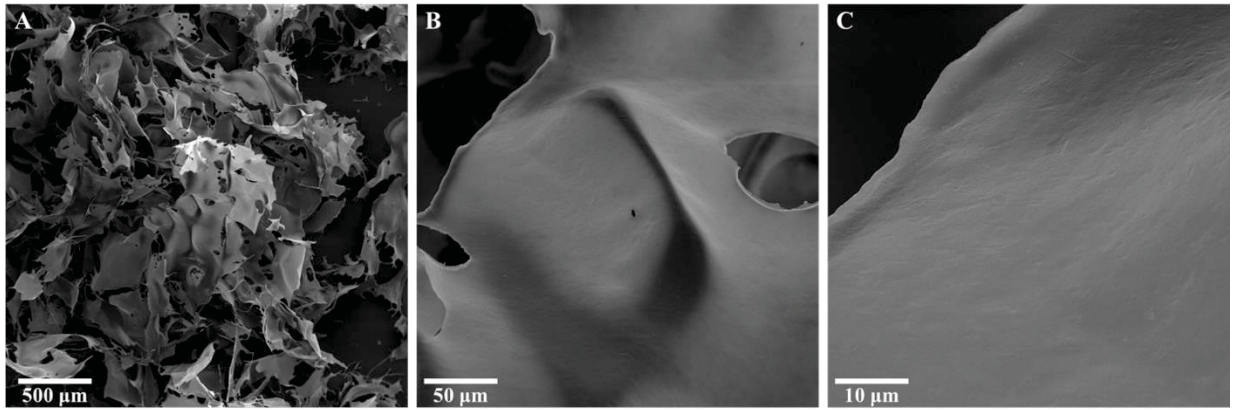


Figure 4

5 ARTIGO III

**Structurally diverse arabinoxylans in Arecaceae family: new insights
for understanding the chemotaxonomy of commelinid monocot cell
walls**

Thaísa Moro Cantu-Jungles^{a*}, Kahlile Youssef Abboud^{a*}, Elisvânia Freitas Dos Santos^b, Marcello Iacomini^a, Lucimara M. C. Cordeiro^a

*Both authors contributed equally to this work.

^a *Department of Biochemistry and Molecular Biology, Federal University of Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil.*

^b *School of Pharmaceutical Sciences, Food and Nutrition, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brazil.*

Corresponding author: Lucimara M. C. Cordeiro - Phone: +55 (41) 33611655; Fax: +55 (41) 32662042; *E-mail address:* lucimaramcc@ufpr.br

Abstract

Glucuronoarabinoxylans (GAXs) are the major polymers found in commelinid monocot cell walls. An exception would be the Arecaceae family, represented by palms, which studies with few species suggest to contain a primary cell wall composition that resemble that from the non-commelinid group and GAXs carrying very low amounts of Araf. In this study other palm species were evaluated regarding the structures of their cell wall heteroxylans. These were extracted from fruit pulp of *Bactris setosa* Mart. (tucum), *Mauritia flexuosa* L. f. (buriti), *Euterpe oleracea* Mart. (açaí), *Bactris gasipaes* Kunth (peach palm) and *Astrocaryum aculeatum* (tucumã). Analyses of methylated derivatives were performed in purified samples in order to elucidate the linkage pattern. All isolated fractions presented arabinoxylans, substituted at *O*-2 and/or *O*-3. The different ratios of 2,3-Me-Xyl-ol, 3-Me-Xyl-ol and 2-Me-Xyl-ol derivatives in all isolated fractions demonstrate the diverse arabinoxylan structure found in each Arecaceae fruit fraction, regarding more linear or more branched polymers. The amounts of arabinose and glucuronic acid side chains also varied among the samples. We observed that both linear xylans and glucuronoxylans characteristic of non-commelinid monocots and highly substituted AXs characteristic of commelinid monocots may be found in species from Arecaceae family. The great diversity in the xylan structures analyzed adds to the point that as a basal family in the commelinid clade of monocots, Arecaceae family species may possess a cell wall composition characteristic of commelinid and/or non-commelinid plants, supporting the idea of Arecaceae members as evolutionary intermediates within commelinid and non-commelinid plants.

Keywords: Arecaceae; palm cell walls; arabinoxylans; heteroxylans; commelinid monocots.

1. Introduction

Xylans are the major hemicellulosic polysaccharide in angiosperms contributing 15–30% of the total dry weight, being less abundant in gymnosperms, which contain 7–12% (Haltrich, Nidetzky, Kulbe, Steiner, & Zupancic, 1997). These xylans comprehend a heterogeneous group of polymers, that have as a common feature a 1,4-linked β -D-Xylp backbone, that may or may not be substituted by distinct side chains according to the plant type and specific tissue where it is found. In general, side chains may possess arabinose, xylose, galactose, D-glucuronic (GlcA) acid and/or 4-O-methyl-D-glucuronic acid. Most of these side-group attachments are made through arabinose which is linked to the xylan backbone mainly at O-3 position. However, glucuronic acid and its methylated form can also be found directly attached to the xylan backbone at O-2, or less frequently, at O-3 position (Ebringerova & Heinze, 2000).

In monocots, the occurrence of xylans as well as its structural variations was previously hypothesized to follow a specific pattern depending on the clade and species that it belongs (Peña et al., 2016). Two clades are distinguished based on the presence or absence of ester-linked ferulic acid in the primary cell walls of monocots: commelinids (ferulic acid present group) and non-commelinids (ferulic acid absent group) (Harris & Hartley, 1980). While xylans in non-commelinids are a minor component in the primary plant cell wall and possess GlcA and 4-O-methyl-GlcA as the only backbone substituents, constituting the glucuronoxylans (GXs), in commelinid plants xylans are the major polymer found and it is branched with arabinose, constituting the arabinoxylans (AXs) or branched with arabinose and GlcA constituting the glucuronoarabinoxylans (GAXs) (Harris, Kelderman, Kendon, & McKenzie, 1997; Harris & Hartley, 1980; Peña et al., 2016). An exception would be the

Arecaceae family, a basal family in the commelinid clade of monocots, that contain a primary cell wall composition that resemble that from the non-commelinid group, rich in pectins and featuring low occurrence of xylans (Harris et al., 1997). More recently MALDI-TOF MS analysis of xylo-oligosaccharides generated from 29 monocots whole plant extracts (that could contain both, primary and secondary cell walls) indicate greater amounts of GlcpA than Araf units as xylan side chains in the Arecaceae species of *Sabal etonia* Swingle ex Nash, *Cocos nucifera* L. and *Howea forsteriana* Becc. (Peña et al., 2016). The authors concluded that palms produce xylans that have structural homology with non-commelinid GXs instead of with commelinid GAXs. However, Bendahou, Dufresne, Kaddami, & Habibi (2007) observed that *Phoenix dactylifera* L. contained both GAXs and GXs as cell wall hemicelluloses. Besides, in our research group, a detailed structural study conducted on a purified polysaccharide from the fruit pulp of *Astrocaryum aculeatum* (tucumã) revealed the presence of a highly branched GAX as its main cell wall component (Cantu-Jungles, Iacomini, Cipriani, & Cordeiro, 2017c). As only few palm species have been studied up to now regarding its non-cellulosic polysaccharides, here we further describe the occurrence of AXs in other fruit pulps from Arecaceae family such as *Bactris setosa* (tucum), *Mauritia flexuosa* (buriti), *Euterpe oleracea* (açaí) and *Bactris gasipaes* (peach palm). A discussion about the composition of palm cell walls considering the phylogeny of commelinid and non-commelinid monocots is also included.

2. Material and Methods

2.1 Plant material

Fresh ripe fruits of *M. flexuosa* (buriti), *E. oleracea* (açai) and *B. gasipaes* (pupunha), were purchased at local markets in the cities of Cruzeiro do Sul (state of Acre), Belém (state of Pará) and Manaus (state of Amazonas), respectively, in Brazil. *B. setosa* (tucum) was collected in Corumbá city (February/2017, state of Mato Grosso do Sul, at 18 34 35.6 S/57 1 5.6 W).

2.2 Extraction and purification of polysaccharides

A general extraction procedure was applied with small modifications according to each fruit cell wall composition in order to obtain the AXs. With exception of açai and tucum, which possess a thin peel layer strongly attached to the pulp, all fruits were peeled off before extraction procedures. Fruit pulps were manually separated from the seeds, freeze-dried and milled. Dried pulp powder was defatted with chloroform-methanol (1:1) in a Soxhlet apparatus to remove lipids, pigments and other hydrophobic materials. The polysaccharides were exhaustively extracted from the residue using 1 L of distilled water for each extraction, under reflux, at 100 °C for 2 h. Aqueous extracts were separated from their residue by centrifugation (10,000 g/15 °C/15 min), joined and concentrated under reduced pressure. The polysaccharides were precipitated with EtOH (3 vol.), collected by centrifugation (10,000 g/ 15 °C/15 min) and freeze-dried. Polysaccharides precipitated from the aqueous extract of *B. setosa* were named SW (Fig. 1A).

The residues from all aqueous extractions were submitted to alkaline extraction with aq. 10% NaOH at 100 °C for 2 h (3 ×, 1 L each). Alkaline extracts were obtained by centrifugation (10,000 g/15 °C/15 min), joined, neutralized, dialyzed (12-14 kDa MWCO, Spectra-Por®), concentrated under reduced pressure and freeze-dried, yielding

fractions SK, GK, OK, FK and TK for *B. setosa*, *B. gasipaes*, *E. oleracea*, *M. flexuosa* and *A. aculeatum*, respectively (Fig 1A).

Yields of polysaccharide fractions were expressed as percent based on the weight of dried fruit pulps that were submitted to extraction.

2.2.1 Arabinoxylan purification

E. oleracea, *M. flexuosa* and *A. aculeatum*: A freeze-thaw treatment was applied in fraction OK, FK and TK, to give cold-water soluble (SOK, SFK and STK, respectively) and insoluble fractions. In this procedure, the samples were frozen and then thaw at room temperature followed by centrifugation (10,000 g/15 °C/15 min). Fractions SOK, SFK and STK were further treated with Fehling solution as previously described (Jones & Stoodley, 1965) and the precipitated materials separated from the soluble materials by centrifugation. The Cu²⁺-supernatants were neutralized with AcOH, dialyzed against tap water (12-14 kDa MWCO, Spectra-Por®), deionized with cationic resin and then freeze-dried (Fig 1A). The Cu²⁺-insoluble complex from *E. oleracea* (fraction PF-SOK) was also neutralized, dialyzed, treated with cationic resin and freeze-dried, as it was done for SF-SOK. Further, PF-SOK was fractionated by successive membrane ultrafiltration (100 kDa, 30kDa and 10 kDa), to give xylan-containing fractions (PF-SOK-100R, PF-SOK-30R and PF-SOK-10R) (Fig 1B).

B. gasipaes: In order to remove starch, GK was extensively treated with α -amylase (from *Bacillus licheniformis*, Sigma A3403) and pullulanase (from *Enterobacter aerogenes*, Sigma P2138) and further dialyzed, yielding fraction GK-AP. This was then submitted to Fehling treatment as described above for *E. oleracea*, *M. flexuosa* and *A. aculeatum*. The supernatant from Fehling treatment in *B. gasipaes* was

named SF-GK-AP (Fig 1A). Due to the presence of small amounts of contaminant xyloglucan, this fraction was submitted to enzymatic hydrolysis with cellulase (endo-1,4- β -D-glucanase, from *Trichoderma longibrachiatum*, Megazyme[®]) according to manufacturer instructions, to produce the AX-containing fraction named SF-GK-AP-XYG (Fig 1B).

B. setosa: Fraction SW was treated with Fehling solution as described above, yielding the AX-containing fraction (SF-SW). Moreover, fraction SK also contained an AX and was used as it is for structural elucidation (Fig 1A).

2.3 Sugar composition

Neutral monosaccharide components of the polysaccharides were determined after hydrolysis with 2 M TFA (8 h/100 °C), followed by conversion to alditol acetates with successive NaBH₄ reduction, and acetylation with Ac₂O-pyridine (1:1, v/v, 1ml) at 100 °C for 30 min. These were analyzed through GC–MS using a Varian gas chromatograph and mass spectrometer, model Saturn 2000R, with He as carrier gas. A capillary column (30 m x 0.25 mm i.d.) of DB-225, held at 50 °C during injection for 1 min, then programmed at 40 °C/min to 220 °C and held at this constant temperature for 19.75 min. was used for the quantitative analysis.

Uronic acid contents were determined spectrophotometrically using the modified *m*-hydroxybiphenyl method (Filisetti-Cozzi & Carpita, 1991).

2.4 Methylation analysis

Fractions SF-SW, SK, SF-SFK, SF-SOK and SF-GK-AP-XYG were *O*-methylated according to the method of Ciucanu and Kerek (Ciucanu & Kerek, 1984). The per-*O*-methylated polysaccharide was then submitted to methanolysis in 3% HCl–MeOH (80 °C, 2 h) followed by hydrolysis with H₂SO₄ (0.5 M, 8 h) and neutralization with BaCO₃. These conditions were previously used for the structural elucidation of the AX from *A. aculeatum* (SF-STK) by Cantu-Jungles et al. (2017). The resulting material was submitted to reduction and acetylation as described above for sugar composition, except that the reduction was performed using NaBD₄. The products (partially *O*-methylated alditol acetates) were examined by capillary GC-MS. A capillary column of DB-1, held at 100 °C during injection for 1 min, then programmed at 5 °C/min to 220 °C and then to 280 °C at 18 °C/min was used for separation. The partially *O*-methylated alditol acetates were identified by their typical electron impact breakdown profiles and retention times (Sasaki, Gorin, Souza, Czelusniak, & Iacomini, 2005).

2.5 Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy

¹H/¹³C HSQC-DEPT NMR spectra were acquired at 70 °C on a Bruker AVANCE III 400 NMR spectrometer, operating at 9.5 T, observing ¹H at 400.13 MHz and ¹³C at 100.61 MHz, equipped with a 5-mm multinuclear inverse detection probe with z-gradient. The samples were acquired in D₂O or Me₂SO-d₆ with chemical shifts expressed as δ PPM, using the ¹³C/¹H resonances of CH₃ groups of acetone (δ_C 30.2/δ_H 2.22) or Me₂SO-d₆ (δ_C 39.7/δ_H 2.6) as internal references. All pulse programs were supplied by Bruker.

2.6 Size exclusion chromatography

High performance size exclusion chromatography (HPSEC) was applied to access the homogeneity and relative molecular weight (M_w) of soluble polysaccharides. The samples were dissolved in the mobile phase at a concentration of 1 mg/mL, filtered in 0.22 μ m membrane (Millipore) and analysed on a Waters chromatograph equipped with four Ultrahydrogel columns connected in series (2000, 500, 250, 120; with size exclusion of 7×10^6 Da, 4×10^5 Da, 8×10^4 Da and 5×10^3 Da; Milford, MA, USA), coupled to a Waters 2410 (Milford, MA, USA) differential refractometer (RI) detector. The mobile phase used was 0.1 mol/L sodium nitrite containing 0.2 g/L sodium azide at a flow rate of 0.6 mL/min and at 25 °C. To calculate the molecular weight, standard dextrans (487 kDa, 266 kDa, 124 kDa, 72.2 kDa, 40.2 kDa, 17.2 kDa and 9.4 kDa, from Sigma) were employed to obtain the calibration curve.

3. Results and discussion

Polysaccharides from *B. setosa* (SF-SW and SK), *B. gasipaes* (SF-GK-AP-XYG), *E. oleracea* (SF-SOK) and *M. flexuosa* (SF-SFK) were obtained according to Figure 1. Moreover, data from fraction SF-STK previously obtained from tucumã (*A. aculeatum*) and characterized as an AX by Cantu-Jungles et al. (2017c), was used for comparative analysis.

According to monosaccharide composition data (Table 1), xylose and arabinose were the main monosaccharides in all analyzed fractions, ranging from 28.0 to 90.1% for xylose and 7.9 to 54.7% for arabinose. Galactose was also present (2.0 to 19.5%) in all analyzed fractions, while uronic acids were absent in SK and their content varied from trace amounts to 13.0% in other fractions. Small amounts of rhamnose were present in fractions from *E. oleraceae* (SF-SOK, PF-SOK and PF-SOK-30R) and *M.*

flexuosa (SF-SFK) while fucose was present in fraction SF-SW from *B. setosa* fraction, SF-GK-AP-XYG from *B. gasipaes* and SF-SOK, PF-SOK and PF-SOK-30R from *E. oleraceae*. These data are coherent with the presence of AXs in all analyzed fractions. To further elucidate the linkage pattern, methylation analysis was conducted (Table 2). Derivatives of the 4-*O*-linked xylan backbone (2,3-Me₂-Xyl-ol acetate) could be observed in all analyzed samples in distinct proportions. Side chains were attached to the 4-*O*-linked xylan backbone at *O*-2 or *O*-3 as could be observed by the presence of derivatives 3-Me-Xyl-ol and 2-Me-Xyl-ol acetate, respectively. Moreover, the presence of non-methylated xylose in SF-GK-AP-XYG, SF-SOK and SF-SFK indicates that in these fractions the 4-*O*-linked xylan backbone was substituted at both, *O*-2 and *O*-3 positions.

The linkage pattern of arabinose in the side chains differed between each fruit type analyzed. With the exception of *A. aculeatum* (SF-STK), arabinose side chains were present mainly as terminal units in all analyzed fruits, as could be observed by the presence of the derivative 2,3,5-Me₃-Ara-ol acetate (ranging from 8.2 – 25.1%). Significant amounts of 2,3-Me₂-Ara-ol acetate in fractions SF-SW (8.0%), SF-GK-AP-XYG (8.2%), SF-SOK (7.0%), SF-SFK (13.4%) and SF-STK (20.8%), indicate that 5-*O*-linked arabinose was also present as an important side chain constituent in most fractions. Arabinose was also found 2-*O*-linked in SF-SFK (2.5%) and SF-STK (11.4%), 3-*O*-linked in SF-SW (1.8%), SF-GK-AP-XYG (2.9%) and SF-SFK (2.6%) and 3,5-di-*O*-linked in SF-SOK (2.9%) and SF-SFK (6.0%).

The presence of the 2,3,4,6-Me₄-Gal-ol acetate derivative in all fractions (ranging from 2.1 to 11.9%) indicate that terminal galactose could also be present in the side chains of these AXs. Notably, fractions SF-SW and SF-SOK presented other galactose linkage patterns uncommon in AXs such as 6-*O*, 3,6-di-*O* and 4,6-di-*O*-

substituted units (from 1.6 to 5.8%). These could have arisen from the contaminant arabinogalactans in these fractions. However, even if part of the arabinose units belongs to these arabinogalactans, the occurrence of di-substituted xylose units (2,4-Xylp and 3,4-Xylp) in substantial amounts in all samples confirms that at least some arabinose residues are linked to the xylan backbone, constituting AXs. Moreover, SF-SOK and SF-SFK also presented Rha as terminal units, SF-SW and SF-GK-AP-XYG had Fuc and SF-SOK had both, Rha and Fuc as non-reducing end units. Fucose and rhamnose are not known to compose AX structures in grasses and cereals. The hypothesis that these Fuc units could result from small amounts of contaminant fucosylated xyloglucan was rejected since fraction SF-GK-AP-XYG was treated with cellulase (Fig. 1C).

We have observed the presence of small amounts of xyloglucan in SF-GK-AP by NMR and monosaccharide composition analyses. Its ^{13}C NMR spectrum (Fig. 2A) presented typical signals of AX and xyloglucan. Those from AX are at δ 107.6-108.7 from $\alpha\text{-L-Araf}$, while those at δ 101.2 is from $\rightarrow 4\text{-}\beta\text{-D-Xylp-(1}\rightarrow$ (Simas-Tosin et al., 2014). Typical xyloglucan anomeric signals could be seen at δ 102.4 from $\rightarrow 4\text{-}\beta\text{-D-Glcp-(1}\rightarrow$ units and at δ 98.9 from $\alpha\text{-D-Xylp-(1}\rightarrow$ units (Hoffman et al., 2005; Watt, Brasch, Larsen, & Melton, 1999). The Xyl and Glc signals from xyloglucan disappeared after the cellulase hydrolysis, as well as the signal at δ 99.4 (C-1) from $\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow$ units. Interestingly the second anomeric signal of Fucp at δ 99.2 and those from C-6 at δ 15.9 and 15.6 remained in the cellulase-treated fraction SF-GK-AP-XYG (Fig. 2B), indicating that this Fucp signal should belong to AX structure. It is noteworthy that non-reducing ends of Fucp units were found in glucuronoxylans extracted from seed endosperm of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. fruit, a dicot from Cactaceae family (Habibi, Mahrouz, & Vignon, 2005). Moreover, the presence of terminal Fucp units was first cited as unusual in arabinoxylan from gum exudate of *Livistona chinensis* (Jacq.)

R. Br. ex Mart. palm (Maurer-Menestrina, Sassaki, Simas, Gorin, & Iacomini, 2003). Further studies on gum exudates from other palm species, showed that these end-units were not so unusual since they have also been present in highly branched arabinoxylans from *Scheelea phalerata* (Mart. Ex Spreng) Burret (Simas et al., 2004), *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman (Simas et al., 2006) and *C. nucifera* L. (Simas-Tosin et al., 2014). Furthermore, these studies first suggested that this monosaccharide could be used as a chemotaxonomic marker for palm plants. In the present study, as cited above, Fucp end-units were found in AXs from *B. setosa*, *B. gasipaes* and *E. oleracea*, and in trace amounts in *A. aculeatum* (Cantu-Jungles et al., 2017c). Regarding terminal Rha units, it was also observed in AX from the gum exudate of the palm *L. chinensis* (Maurer-Menestrina et al., 2003). These results indicated that terminal Fuc and Rha units may be structural elements of palm arabinoxylans. Interestingly, with exception of *L. chinensis*, all other palm species with Fuc-containing AX belong to Arecoideae subfamily (Baker et al., 2009). Further studies are encouraged for detecting these units in other palm species.

$^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC-DEPT analysis corroborated the methylation data experiments and confirmed the presence of AXs in all Arecaceae fruit fractions analyzed (Fig. 3). Anomeric signals of the $\rightarrow 4\text{)-}\beta\text{-D-Xylp-(1}\rightarrow$ units that compose the AX main chain appeared at δ 101.2/4.47, except for SK that appeared at δ 101.5/4.39 (Fig. 3B). Anomeric $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ signals of $\alpha\text{-L-Araf}$ units can be observed at δ 107.2/5.39, 109.0/5.25 and 107.5/5.08 in fraction SF-SW (Fig. 3A). Fractions SF-GK-AP-XYG, SF-SOK and SF-SFK; also presented similar anomeric Ara assignments (^{13}C from δ 109.0 – 107.2 with ^1H from δ 5.06 – 5.40) (Fig. 3C, D and E). On the other hand, fraction SK (Fig. 3B) presented a single anomeric Araf signal at δ 106.9/5.43, corroborating the methylation data that indicated that SK is mainly linear, branched by few terminal Araf units only.

Moreover, inverted C-5/H-5 signals in $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC-DEPT NMR experiment (marked with an *) appeared at δ 61.0-61.6/3.61-3.77 for terminal α -L-Araf, at δ 66.7/3.90-3.81 for 5-*O*-linked α -L-Araf units and at δ 62.8/4.10-3.40 for β -D-Xylp units. Anomeric Galp signals appeared in all fractions in the region from δ 103.1-104.2/4.62. Signals of Fucp units were more visible in SF-SBK-AP-XYG fraction (which contained the highest amount of this sugar when compared with the other fractions, Table 1 and 2), with anomeric signal at δ 99.2/5.27, and C-6/H-6 at δ 15.6/1.22. A small signal of the C-6/H-6 from Fucp units was also visible in SF-SW fraction, at δ 15.8/1.24. Signals of C-6/H-6 from Rhap units were seen at δ 16.6/1.27 and δ 16.3/1.27 in SF-SFK and SF-SOK, respectively, while anomeric signals appeared at δ 98.1/5.30. The anomeric signal at δ 97.4/5.28 in SF-SW could be attributed to anomeric carbons of GlcpA units. Its C-6 is visible in the ^{13}C -NMR spectrum (Fig. 4) at δ 178.1. These units are generally present as terminal units in the AXs and were not visible in the methylation analysis since the fractions have not been carboxyl reduced prior to the analysis. Moreover, variable amounts of uronic acids (4.5-12.1%) are present in almost all the fractions (Table 1). All the NMR assignments are in agreement with published literature data (Bendahou et al., 2007; Hoffman et al., 2005; Odonmazig, Badgaa, Ebringerova, Mihalov, & Alfoldi, 1990; Shatalov, Evtuguin, & Neto, 1999; Simas-Tosin et al., 2014; Thude & Classen, 2005; Watt et al., 1999).

In order to estimate and compare the substitution degree between each Arecaceae fruit arabinoxylan analyzed, the following formula was employed based on linkage type from methylation data (Table 2):

$$\frac{(\rightarrow 4\text{-Xylp})}{(\rightarrow 2,4\text{-Xylp}) + (\rightarrow 3,4\text{-Xylp}) + ((\rightarrow 2,3,4\text{-Xylp}) * 2)}$$

While higher ratios were indicative of more linear polymers, lower ratios were indicative of more branched ones. *B. setosa* presented a more branched AX in fraction SF-SW (ratio of 1.7) and a mostly linear AX in fraction SK (ratio of 10.3). Fraction SF-SOK obtained herein from *E. oleracea* presented a branching ratio of 1.1, suggesting that this xylan backbone had almost every other residue substituted by lateral side chains. Even more branched polymers were found in SF-SFK from *M. flexuosa* (ratio of 0.7), SF-GK-AP-XYG from *B. gasipaes* (ratio of 0.6) and SF-STK from *A. aculeatum* (ratio of 0.2). Similar to *B. setosa*, *E. oleracea*, *M. flexuosa* and *A. aculeatum* also have shown to possess other xylans with distinct branching degrees. Mainly linear neutral or acid xylans were previously characterized by our research group in the fruit pulp of these palms (Cantu-Jungles et al., 2017c; Cantu-Jungles, Iacomini, Cipriani, & Cordeiro, 2017a; Cordeiro, de Almeida, & Iacomini, 2015). Moreover, we observed by NMR analysis that the Cu²⁺-insoluble complex (fraction PF-SOK) obtained from *E. oleracea* also contained xylans. Its ¹³C NMR spectrum (Fig. 5A) presented mainly the five signals of →4)-β-D-Xylp-(1→ units, at δ 101.6 (C-1), δ 76.4 (C-4), δ 73.8 (C-3), δ 72.8 (C-2) and δ 63.0 (C-5). Minor signals at δ 102.3 and δ 99.0 may have arisen from anomeric carbons of β-D-Glcp and α-L-Fucp, respectively, from xyloglucan, while that at δ 97.7 is from anomeric carbon of α-D-GlcpA units. Monosaccharide analysis showed mainly xylose, arabinose and glucose, with minor amounts of fucose, rhamnose and galactose (Table 1). Since PF-SOK showed a heterogeneous elution profile in HPSEC (Fig. 6), we fractionated these polymers by ultrafiltration procedure, through 100 kDa, 30 kDa and 10 kDa cut-off membranes. Fraction PF-SOK-100R showed similar ¹³C NMR spectrum (Fig. 5B) and HPSEC elution profile (data not shown) to native PF-SOK. However, fraction PF-SOK-30R concentrated the xyloglucan, as could be observed by its ¹³C NMR spectrum (Fig. 5C). Signals at δ 102.3, δ 104.8, δ 103.2, δ

98.9 and δ 99.4 corresponded to anomeric carbons of β -D-Glcp, terminal β -D-Galp, 2-*O*-substituted β -D-Galp, α -D-Xylp and α -L-Fucp units, respectively. The signal at δ 15.8 corresponded to C-6/H-6 of α -L-Fucp (Busato et al., 2005; Hoffman et al., 2005; Watt et al., 1999). These data are consistent with the presence of a fucogalactoxyloglucan. Moreover, an GAX is also present in this fraction, due to the presence of the signals at δ 101.6/101.2, δ 97.6, δ 107.5-109.4, which corresponded to anomeric carbons of β -D-Xylp, α -D-GlcpA and α -L-Araf units, respectively. This fraction eluted as a broad peak in the HPSEC analysis (Fig. 6), with relative M_w of 115 kDa. The presence of small amounts of fucogalactoxyloglucan in palms was suggested by Carnachan & Harris (2000) when performing linkage analysis in cell wall preparations from *Phoenix canariensis* Hortorum ex Chabaud and *Rhopalostylis sapida* Wendeland et Drude.

Fraction PF-SOK-10R had a lower relative M_w (6 kDa), was eluted as a single peak in HPSEC analysis (Fig. 6) and showed the presence of a glucuronoarabinoxylan, observed through characteristic ^{13}C NMR signals (Fig. 5D) discussed above in the text. In addition, 4-*O*-Me- α -D-GlcpA units are present in this acid heteroxylan, due to their characteristic signals at δ 59.4 ($-O-\underline{\text{C}}\text{H}_3$) and at δ 82.2 (substituted C-4) (Bendahou et al., 2007; Habibi & Vignon, 2005; Wen et al., 2011). Monosaccharide composition showed lower amounts of Ara and higher amounts of GlcA, if compared with GAXs present in other fractions (Table 1).

Thus, the results above showed a great diversity of arabinoxylan structures in the studied fruit palms, from low to highly branched main chains and varying amounts of Araf and GlcpA. Considering the taxonomy and the composition of cell walls, palms belong to Arecaceae family, which is a basal family in the commelinid clade of monocots. Besides, commelinid primary cell walls differs from those of non-commelinids and eudicots. These have type I primary cell walls, with pectin and

xyloglucan as main non-cellulosic polysaccharides (and small amounts of xylan), while commelinids (Poaceae members are the most studied) presented type II primary cell walls, where GAX is the predominant non-cellulosic polysaccharide, together with variable amounts of (1→3)(1→4)- β -glucans and relatively small amounts of pectin and xyloglucan (Carpita & Gibeaut, 1993). However, up to now there is limited data on primary cell walls of other commelinids, including species of the Arecaceae family. Preliminary studies have already pointed out the existence of a great heterogeneity on composition of palm cell walls. First studies with four palm species (*Phoenix reclinata* Jacq., *P. canariensis*, *P. dactylifera* and *R. sapida*) indicated a different cell wall composition from those of Poaceae, with a monosaccharide composition similar to those of dicotyledons, having higher proportion of pectic polysaccharides and only small proportions of heteroxylans (Carnachan & Harris, 2000; Harris et al., 1997; Jarvis, Forsyth, & Duncan, 1988). However, *C. nucifera* and *Elaeis guineensis* Jacq. were exceptions, having low amounts of pectins in their cell walls (Jarvis, 1994; Jarvis et al., 1988). Regarding structural diversity of heteroxylans in the cell walls of monocots, Peña et al. (2016) observed that GAXs are only synthesized by commelinids. However, some members of palms (*Caryota mitis* Lour., *H. forsteriana*, *Rhapis excelsa* (Thunb.) A. Henry, *S. etonia* and *C. nucifera*) were also an exception, once they contained mainly GXs in their cell walls. The xylans of *S. etonia*, *C. nucifera* and *H. forsteriana* contained much more GlcpA than Araf, thus having structural homology with non-commelinids GXs.

The studies on polysaccharide chemistry of palm fruits performed in our lab, although not focused on palm taxonomy, also demonstrated a great diversity in the carbohydrate composition of palm cell walls, differing in the type and abundance of their non-cellulosic polysaccharides. Pectin-containing cell walls were observed in *E.*

oleracea, *B. gasipaes* (Cantu-Jungles, Cipriani, Iacomini, Hamaker, & Cordeiro, 2017; Cantu-Jungles et al. 2017a) and *M. flexuosa* (Cantu-Jungles, De Almeida, Iacomini, Cipriani, & Cordeiro, 2015) while pectin was low/absent in *A. aculeatum* and *B. setosa*. Pectins were also extracted from *Borassus aethiopum* Mart. by Assoi et al. (2014). In *A. aculeatum* and *B. setosa*, instead of pectin, other polysaccharides were observed, such as glucomannan (unpublished results) and linear (1→5)-linked α -L-arabinan (Cantu-Jungles et al., 2017c). Glucomannan was also found in *Acrocomia aculeate* (Jacq.) Lodd. ex Mart., *Siagrus romanzoffianum* (Cham.) Glassman and *S. oleracea* (Mart.) Becc. (da Silva, de Medeiros Silva, & Parente, 2009; da Silva & Parente, 2010a, b). It seems that these palms that do not produce high amounts of pectins belong to the subfamily Arecoideae, tribe Cocoseae according Baker et al. (2009). However, studies with more species are encouraged to confirm this hypothesis.

As mentioned by Carnachan & Harris (2000), the polysaccharide composition of palm cell walls is consistent with phylogeny of palms. Based on DNA sequences, among monocots, the commelinids form the terminal clade while non-commelinids comprise the other, less derived clades. Besides, within the commelinids, Arecaceae are basal and Poaceae are terminal clades. Thus, they suggested that the composition of palm primary cell walls may represent a transition from the composition of cell walls of non-commelinids to commelinids less derived than the Poales. Peña et al. (2016) also suggested that the evolution and diversification of wall composition within commelinids were accompanied by modifications in xylan structure, mainly regarding the appearance of Ara_f as side chains. Ara_f-containing side chains predominated in Poaceae GAXs, while similar proportions of Ara_f and Glc_pA-/MeGlc_pA-containing side chains were found in Cyperaceae, Bromelinaceae and all the Zingiberales and Commelinales. From the results they had on the five studied palm species, they observed that the abundance

of Araf side chains is reduced to its lowest level in GAXs from Arecales, resulting in xylans with structural homology to GXs of the non-commelinid monocots. However, it is possible to observe herein that a great variety of xylan structures can be synthesized by palms, from linear (1→4)-linked β-D-xylans (in *E. oleraceae*, (Cantu-Jungles, Iacomini, Cipriani, & Cordeiro, 2017b) to GXs (*A. aculeatum*, (Cantu-Jungles et al., 2017c) and GAXs with varying degrees of branching and amounts of Araf and GlcpA (this study). Bendahou et al. (2007) also observed that *P. dactylifera* contained both GAXs and GXs as cell wall hemicelluloses. These findings show that palms may not contain only GAXs with very low amounts of Araf as postulated by Peña et al. (2016). Thus, both linear xylans and GXs characteristic of non-commelinid monocots and highly substituted GAXs characteristic of commelinid monocots may be found in species from Arecaceae family. Interestingly, most of the palm species studied by Peña et al. (2016) belongs to Coryphoideae subfamily, while most of the palm species studied here belongs to Arecoideae subfamily. If there is any relationship between xylan structures (and pectin content) and the tribes and subfamilies of palms (Baker et al., 2009; Dransfield et al., 2005) is still unknown, and should be evaluated by studying more species from different taxonomic palm groups

Finally, this adds to the point that as a basal family in the commelinid clade of monocots, Arecaceae family species may possess a cell wall composition characteristic of commelinid and/or non-commelinid plants, supporting the idea of Arecaceae members as evolutionary intermediates within commelinid and non-commelinid plants.

Author's Contributions

T.M.C.J. and K.Y.A. carried out the experiments and wrote the manuscript., E. F. S. collected and processed some plant samples. M.I. and L.M.C.: conceived and guided the experiments and reviewed the manuscript.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements

This research was supported by Projeto Universal (Process 477971/2012-1, 310332/2015-0) provided by CNPq foundation (Brazil). The author TMCJ *received a fellowship* from CNPq foundation - Brazil (Process 150235/2017-8). The author KA *received a fellowship* from Capes - Brazil (Process 1564544). The authors are grateful to NMR Center of UFPR for recording the NMR spectra.

Figure Legends

Fig. 1. Simplified scheme of procedures applied to each Arecaceae fruit to obtain arabinoxylans (A), scheme of fractionation of açai (*E. oleraceae*) xylans (B) and scheme of purification of pupunha (*B. gasipaes*) arabinoxylan (C). ^a This work. ^b From Cantu-Jungles et al., 2017c. Yields of polysaccharide fractions were expressed as percent based on the weight of dried fruit pulps that were submitted to extraction.

Fig. 2. Anomeric ¹³C NMR spectra region of fractions SF-GK-AP (A) and after its hydrolysis with cellulase (endo-1,4-β-D-glucanase, Megazyme[®]) enzyme, fraction SF-GK-AP-XYG (B), obtained from pupunha (*B. gasipaes*) fruit pulp. Samples dissolved in D₂O.

Fig. 3. ¹H/¹³C HSQC-DEPT NMR correlation maps of arabinoxylans from tucum (*B. setosa*), fractions SF-SW (A) and SK (B); from pupunha (*B. gasipaes*), fraction SF-GK-AP-XYG (C); from açai (*E. oleraceae*), fraction SF-SOK and from buriti fruits (*M. flexuosa*), fraction SF-SFK (E). All SF-named fractions were dissolved in D₂O, while fraction SK was dissolved in DMSO-*d*₆. DEPT inverted signals are marked with an asterisk (*).

Fig. 4. ¹³C NMR spectrum of arabinoxylan (fraction SF-SW) from tucum (*B. setosa*). Sample dissolved in D₂O.

Fig. 5. ¹³C NMR spectra of xylan-containing fractions PF-SOK (A), PF-SOK-100R (B), PF-SOK-30R (C) and PF-SOK-10R (D) obtained from açai (*E. oleraceae*) fruit pulp. Samples dissolved in D₂O.

Fig. 6. SEC elution profile of xylan-containing fractions PF-SOK, PF-SOK-30R and PF-SOK-10R obtained from açai (*E. oleraceae*) fruit pulp. Refractive index detector.

Table 1

Monosaccharide composition of fractions containing arabinoxylans from tucum (*B. setosa*), pupunha (*B. gasipaes*), açai (*E. oleracea*), buriti (*M. flexuosa*) and tucumã (*A.*

	Fraction	Neutral sugars ^a						Uronic
		Fuc	Rha	Ara	Xyl	Gal	Glc	acid ^b
Tucum	SF-SW	1.5	-	26.5	59.2	8.3	-	4.5
	SK	-	-	7.9	90.1	2.0	-	-
Pupunha	SF-GK-AP	6.0	1.4	45.0	27.6	10.0	10.0	nd ^c
	SF-GK-AP-XYG	7.0	-	42.0	36.6	2.3	-	12.1
Açai	SF-SOK	1.5	1.3	47.9	29.8	19.5	-	tr ^d
	PF-SOK	2.7	2.5	16.0	58.5	4.1	16.2	nd ^c
	PF-SOK-100R	-	-	10.4	84.3	1.3	4.0	nd ^c
	PF-SOK-30R	3.8	1.0	35.9	33.8	6.0	19.5	nd ^c
	PF-SOK-10R	-	-	16.0	70.0	-	tr ^d	13.0
Buriti	SF-SFK	-	6.2	54.7	28.0	3.0	-	8.1
Tucumã	SF-STK*	tr ^c	-	45.1	39.7	6.9	-	8.3

aculeatum)*

^a % of peak area relative to total peak areas, determined by GC-MS.

^b Determined using the modified *m*-hydroxybiphenyl method (Filisetti-Cozzi & Carpita, 1991).

^c Not determined.

^d Trace amounts (<1%).

*SF-STK (arabinoxylan from *A. aculeatum*): data extracted from Cantu-Jungles et al. (2017c)

Table 2

Linkage types based on analysis of partially *O*-methyl alditol acetates obtained from methylated fractions containing arabinoxylans from tucum (*B. setosa*), pupunha (*B. gasipaes*), açai (*E. oleracea*), buriti (*M. flexuosa*) and tucumã (*A. aculeatum*)*

Partially <i>O</i> -methylallditol acetate	Tucum		Pupunha	Açaí	Buriti	Tucumã	Linkage type ^c
	SF-SW	SK	SF-GK- AP-XYG	SF-SOK	SF-SFK	SF-STK*	
2,3,4-Me ₃ -Xyl ^a	2.6 ^b	2.5	4.9	4.9	-	2.4	Xylp-(1→
2,3-Me ₂ -Xyl	37.3	79.5	22.6	25.7	16.0	7.1	→4)-Xylp-
2-Me-Xyl	16.3	4.4	4.6	8.7	9.4	17.6	→3,4)-Xylp-
3-Me-Xyl	5.1	3.2	10.8	8.9	10.1	14.5	→2,4)-Xylp-
Xyl	-	-	9.7	3.4	2.3	-	→2,3,4)-Xylp-
2,3,5-Me ₃ -Ara	17.7	8.2	15.9	14.8	25.1	18.9	Araf-(1→
3,5-Me ₂ -Ara	-	-	-	-	2.5	11.4	→2)-Araf-
2,5-Me ₂ -Ara	1.8	-	2.9	-	2.6	-	→3)-Araf-
2,3-Me ₂ -Ara	8.0	-	8.2	7.0	13.4	20.8	→5)-Araf-
2-Me-Ara	-	-	-	2.9	6.0	-	→3,5)-Araf-
2,3,4,6-Me ₄ -Gal	4.6	2.1	11.9	5.1	6.9	7.3	Galp-(1→
2,3,4-Me ₃ -Gal	3.0	-	-	3.1	-	-	→6)-Galp-
2,3-Me ₂ -Gal	-	-	-	5.8	-	-	→4,6)-Galp-
2,4-Me ₂ -Gal	1.6	-	-	2.9	-	-	→3,6)-Galp-
2,3,4-Me ₃ -Rha	-	-	-	4.2	5.7	-	Rhap-(1→
2,3,4-Me ₃ -Fuc	2.1	-	8.5	2.8	-	-	Fucp-(1→

^a 2,3,4-Me₃-Xyl = 2,3,4-tri-*O*-Methylxylitol acetate, etc.

^b % of peak area of *O*-methylallditol acetates relative to total area, determined by GC-MS.

^c Based on derived *O*-methylallditol acetates.

*SF-STK (arabinoxylan from *A. aculeatum*): data extracted from Cantu-Jungles et al. (2017c)

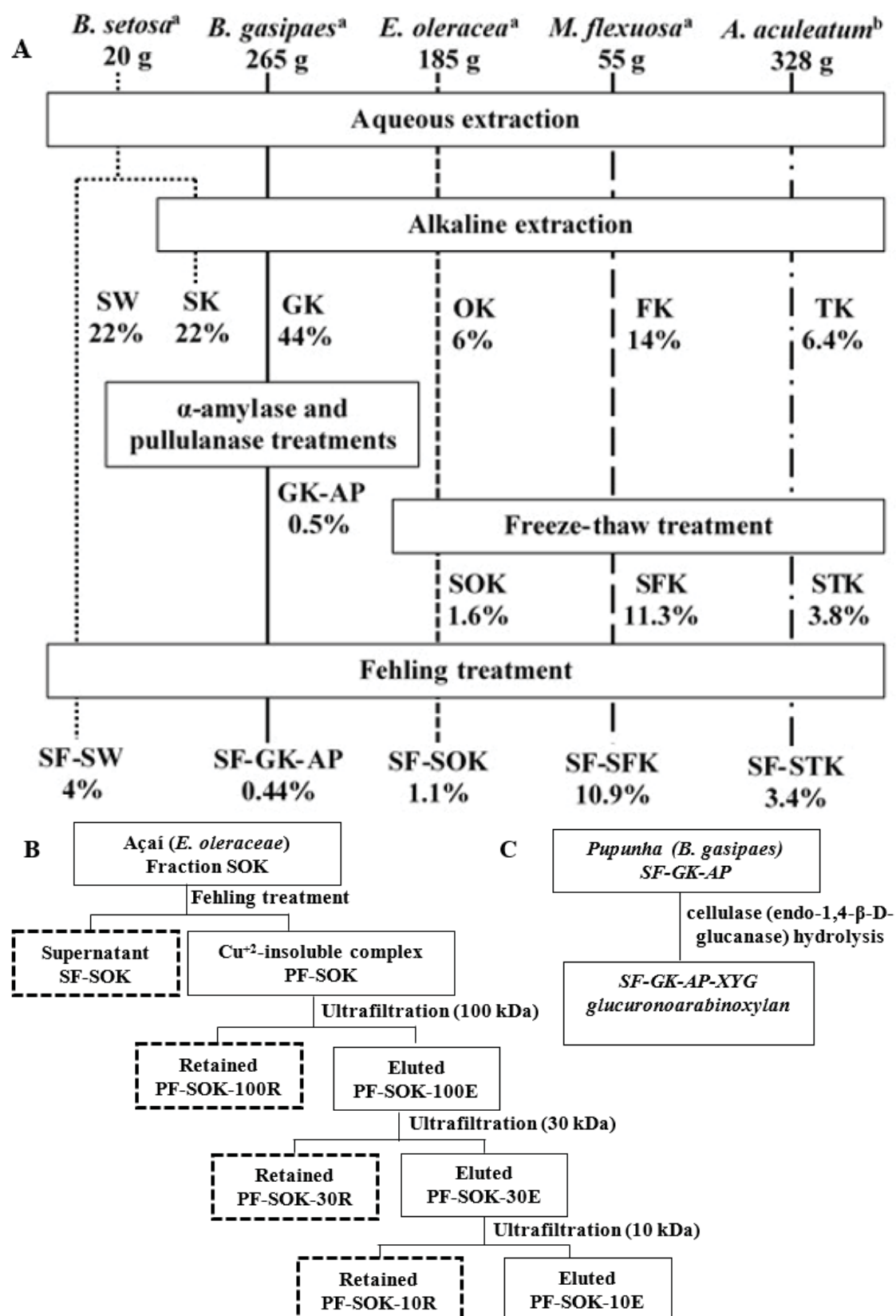


Figure 1

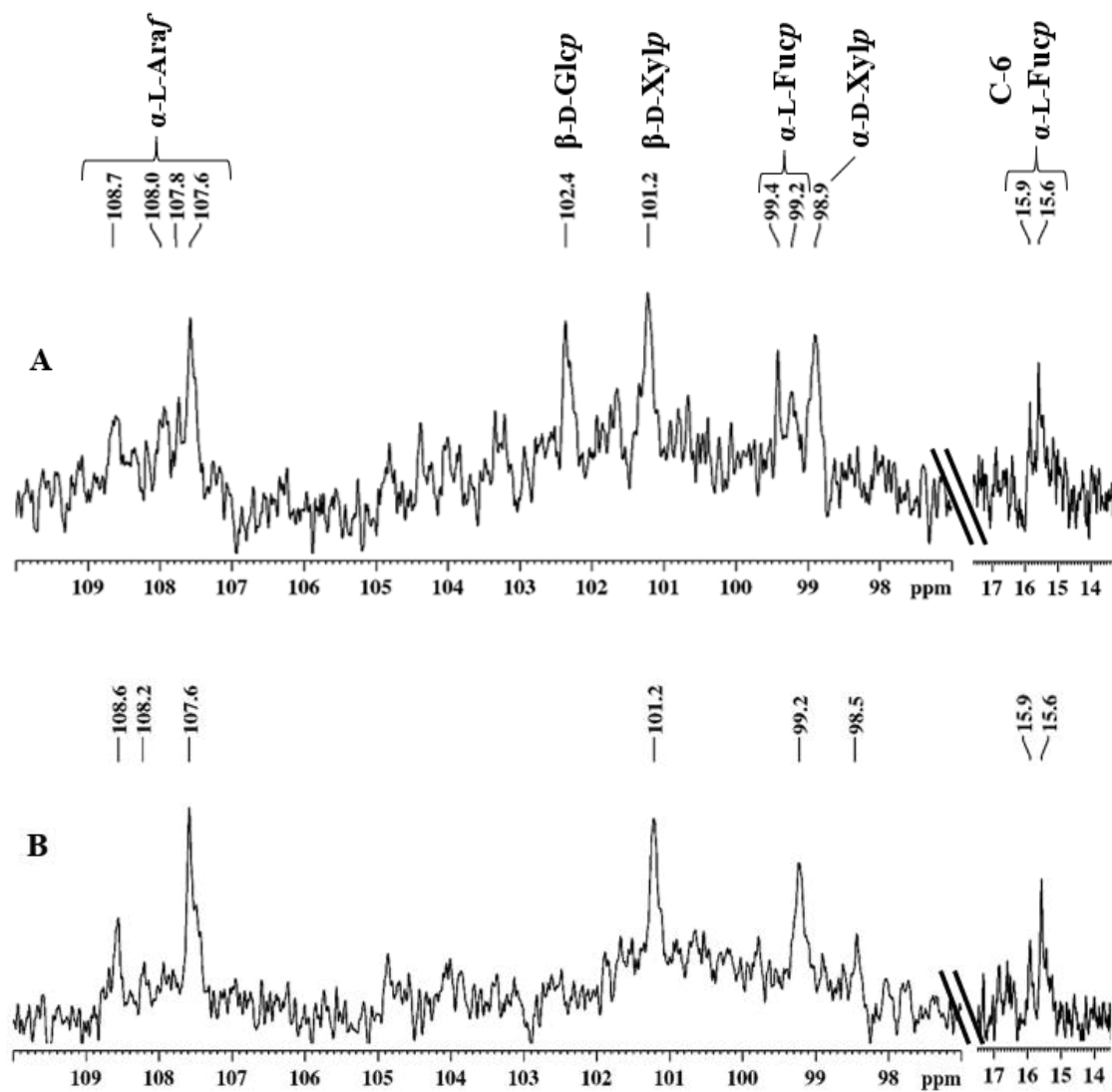


Figure 2

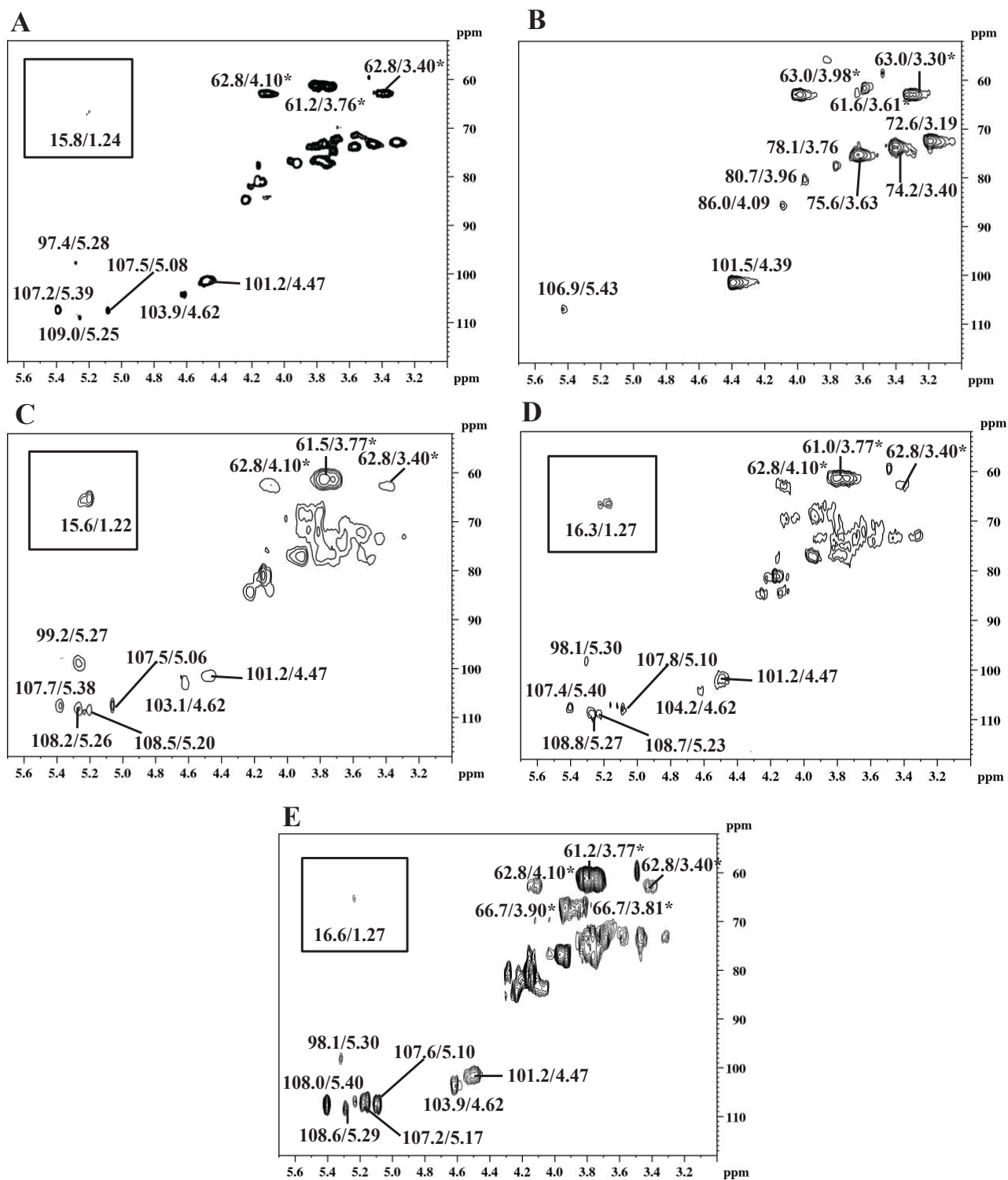


Figure 3

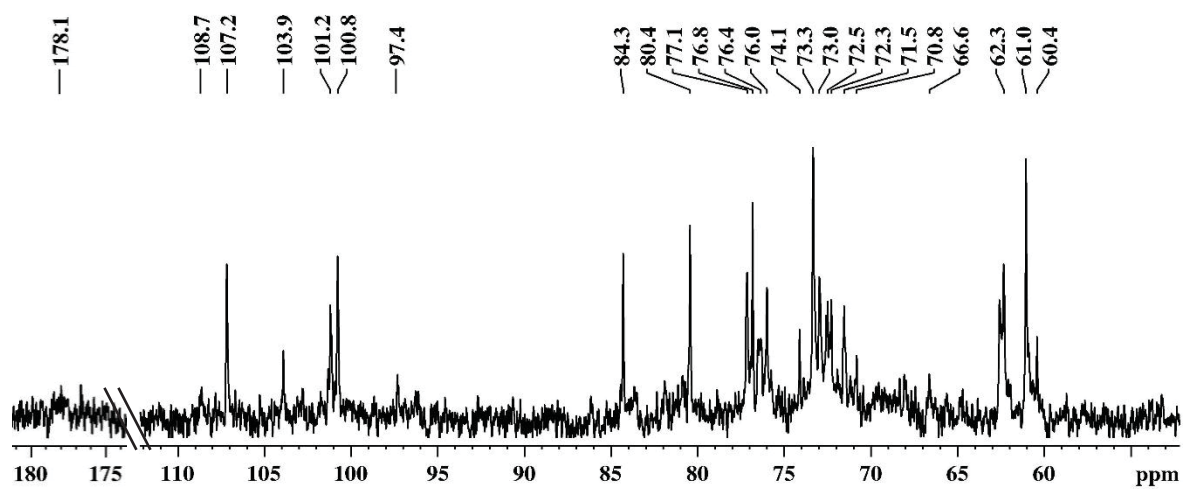


Figure 4

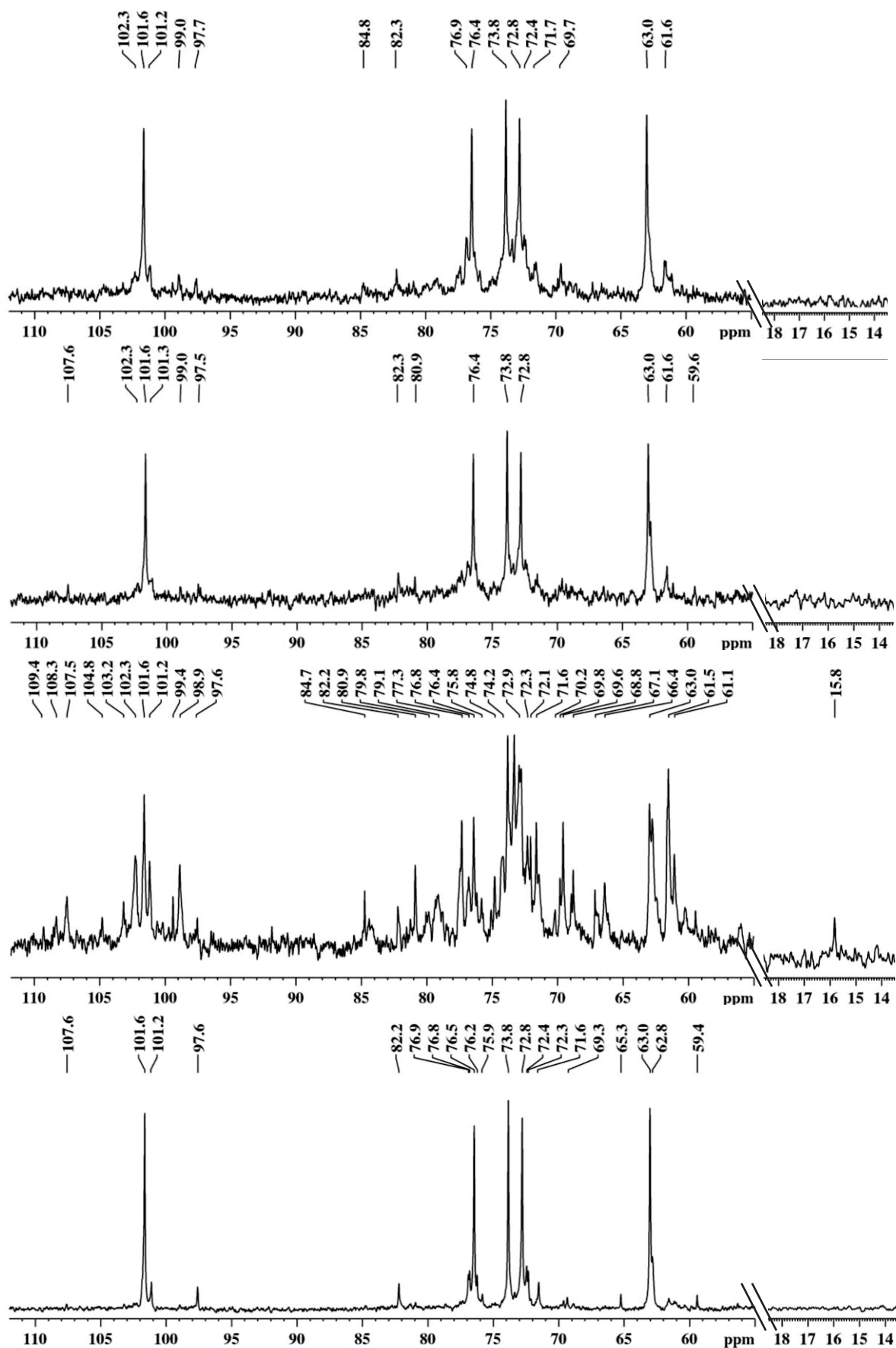
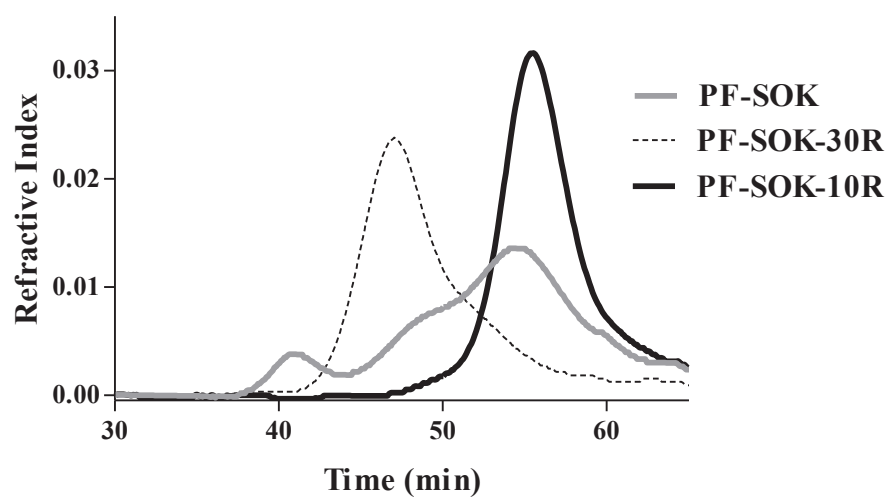


Figure 5

**Figure 6**

6 CONCLUSÃO

O estudo das características químicas das FD contribui para o melhor entendimento da sua ação na promoção da saúde, na prevenção de doenças, bem como na aplicação tecnológica. Além disso, contribui para um direcionamento mais adequado e específico de sua aplicação e recomendação. A fibra dietética solúvel (FDS) foi extraída da casca do maracujá e caracterizada como uma homogalacturonana, com 92 % de ácidos urônicos e sinais característicos pela análise de RMN-¹³C, com cerca de 70% de metil-esterificação, homogênea e massa molecular de 53 kDa. Esta fração apresentou atividade gastroprotetora em modelo animal de ulcera gástrica induzida por etanol, contribuindo para a soma dos benefícios do consumo da fibra solúvel da casca do maracujá. Também foi demonstrado que esta fração pode ser explorada a nível comercial, tendo em vista seu comportamento reológico. A fração demonstrou comportamento de gel distinto de HMP comerciais, onde, nos testes de viscosidade e dinâmico oscilatórios, as dispersões aquosas demonstraram comportamento não-Newtoniano pseudoplástico e de gel, mesmo sem a adição de sacarose ou acidificação, ampliando assim as possibilidades de aplicação e uso, e contribuindo para a sustentabilidade ambiental, tendo em vista a grande quantidade de resíduos que a indústria de suco de maracujá pode gerar. Por sua vez, as fibras dietéticas também foram extraídas do tucum, e arabinoxilanas foram purificadas e caracterizadas. Arabinoxilanas têm sido estudadas quanto ao seu efeito na microbiota intestinal e ao seu potencial prebiótico, no entanto, as fontes usuais de arabinoxilanas são os cereais. Como mencionado anteriormente, o Brasil ainda possui centenas de frutos que ainda não foram estudados e que provavelmente são potenciais para a descoberta de diferentes estruturas de fibras dietéticas, com diferentes efeitos na saúde e possibilidades de aplicações tecnológicas. Assim, este estudo contribui para ampliar o conhecimento acerca das frutas nativas brasileiras, valorizando o potencial de aplicações destes frutos, contribuindo para sua preservação e aproveitamento de resíduos agroindustriais.

ANEXO I



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Comissão de Ética no Uso de Animais
(CEUA)



Nº 1123

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA/BIO – UFPR), instituída pela Resolução Nº 86/11 do Conselho de Ensino Pesquisa e Extensão (CEPE), de 22 de dezembro de 2011, **CERTIFICA** que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA) estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais para a experimentação animal.

STATEMENT

The Ethics Committee for Animal Use from the Biological Sciences Section of the Federal University of Paraná (CEUA/BIO – UFPR), established by the Resolution Nº 86/11 of the Teaching Research and Extension Council (CEPE) on December 22nd 2011, **CERTIFIES** that the procedures using animals in the research project specified below are in agreement with the Brazilian Guidelines for Care and Use of Animals for Scientific and Teaching purposes established by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and with the international guidelines for animal experimentation.

PROCESSO/PROCESS: 23075.198047/2017-82

APROVADO/APPROVAL: 21/11/2017 – R.O. 10/2017

TÍTULO: Avaliação da atividade gastroprotetora de polissacarídeos pécicos extraídos da casca do Maracujá (*Passiflora edulis*).

TITLE: Evaluation of gastroprotective activity of pectic polysaccharides extracted from passion fruit peel (*Passiflora edulis*).

AUTORES/AUTHORS: Lucimara M. C. Cordeiro, Kahlile Youssef Abboud, Maria Fernanda de Paula Werner, Bruna Barbosa da Luz, Jorge Luiz Dallazen.

DEPARTAMENTO/DEPARTMENT: Bioquímica

Profa. Dra. Katya Naliwaiko
Coordenadora da CEUA

REFERÊNCIAS

- ABBOUD, K. Y.; LUZ, B. B.; DALLAZEN, J. L.; WERNER, M. F. P.; CAZARIN, C. B. B.; JUNIOR, M. R. M.; IACOMINI, M.; CORDEIRO, L. M. C. Gastroprotective effect of soluble dietary fibres from yellow passion fruit (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) peel against ethanol-induced ulcer in rats. **Journal of Functional Foods**, v. 54, p. 552-558, 2019.
- ABBEELE, P. V.; VENEMA, K.; WIELE, T. V.; VERSTRAETE, W.; POSSEMIERS, S. Different human gut models reveal the distinct fermentation patterns of arabinoxylan versus inulin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 9819-9827, 2013.
- ADETUNJI, L. R.; ADEKUNLE, A.; ORSAT, V.; RAGHAVAN, V. Advances in the pectin production process using novel extraction techniques: a review. **Food Hydrocolloids**, 62, 239-250, 2017.
- AFSHIN, A.; et al. Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. **The Lancet**, v. April, p. 1-15. 2019.
- AGUIRRE, M.; SOUZA, C. B. & VENEMA, K. The Gut Microbiota from Lean and Obese Subjects Contribute Differently to the Fermentation of Arabinogalactan and Inulin. **PLoS One**, v. 11, n. 7, p. e0159236, 2016.
- ALBUQUERQUE M. A. C.; ALBUQUERQUE C.; LIVITC R.; BERESD C.; BEDANIA R.; LEBLANC A.M.; SAAD S. M. I.; LEBLANC J.G. Tropical fruit by-products water extracts as sources of soluble fibres and phenolic compounds with potential antioxidant, anti-inflammatory, and functional properties. **Journal of Functional Foods**, v. 52, p. 724–733, 2019.
- ALEXANDROU A.N.; MCGILVREAY T.M.; BURGOS G. Steady Herschel–Bulkley fluid flow in three-dimensional expansions. **Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics**, v. 100(1), p. 77-96, 2001.
- AMICUCCI, M.J.; NANDITA, E.; & LEBRILLA, C.B. Function without structures: the need for in depth analysis of dietary carbohydrates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67 (16), p. 4418-4424, 2019.
- ASSOI, S.; KONAN, K.; WALKER, L. T.; HOLSER, R.; AGBO, G. N.; DODO, H.; Wicker, L. Functionality and yield of pectin extracted from Palmyra palm (*Borassus aethiopum* Mart) fruit. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58 (1), p. 214–221, 2014.
- BAKER, W. J.; SAVOLAINEN, V.; ASMUSSEN-LANGE, C. B.; CHASE, M. W.; DRANSFIELD, J.; FOREST, F.; WILKINSON, M. Complete Generic-Level Phylogenetic Analyses of Palms (Arecaceae) with Comparisons of Supertree and Supermatrix Approaches. **Systematic Biology**, v. 58 (2), p. 240–256, 2009.

- BARBIERI, S.F.; AMARAL, S.C.; RUTHES, A.C.; PETKOWICZ, C.L.O.; KERKHOVEN, N.C.; SILVA, E.R.A.; SILVEIRA, J.L.M. Pectins from the pulp of gabioba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg): Structural characterization and rheological behaviour. **Carbohydrate Polymers**, v. 214, p. 250-258, 2019a.
- BARBIERI, S.F.; PETKOWICZ, C.L.O.; GODOY, R.C.B.; AZEREDO, H.C.M.; FRANCO, C.R.C.; SILVEIRA, J.L.M. Pulp and jam of gabioba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg): Characterization and rheological properties. **Food Chemistry**, v. 263: p. 292-299, 2019b.
- BARBOSA, P.R.; VALVASSORI, S.S.; BORDIGNON, C.L.; KAPPEL, V.D.; MARTINS, M.R.; GAVIOLI, E.C.; QUEVEDO, J.; REGINATTO, F.H. The aqueous extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* reduce anxiety-related behaviors without affecting memory process in rats. **Journal of Medicinal Food**, v. 11, p. 282–288, 2008.
- BEMILLER, J. N. **Carbohydrate chemistry for food scientists**. Third edition. Elsevier. Whistler center for carbohydrate research. West Lafayette, Indiana. 2019.
- BENDAHO, A.; DUFRESNE, A.; KADDAMI, H.; HABIBI, Y. Isolation and structural characterization of hemicelluloses from palm of *Phoenix dactylifera* L. **Carbohydrate Polymers**, v. 68 (3), p. 601–608, 2007.
- BESTEN, G.; EUNEN, K.; GROEN, A. K.; VENEMA, K.; REIJNGOUD, D-J.; BAKKER, B. M. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. **Journal of Lipid Research**, v. 54, p. 2325-2340, 2013.
- BINDELS, L. B.; NEYRINCK, A. M.; SALAZAR, N.; TAMINIAU, B.; DRUART, C.; MUCCIOLI, G. G.; FRANÇOIS, E.; BLECKER, C.; RICHEL, A.; DAUBE, G.; MAHILLON, J.; REYES-GAVILÁN, C. G.; CANI, P. D.; DELZENNE, N. M. Non digestible oligosaccharides modulate the gut microbiota to control the development of leukemia and associated cachexia in mice. **PLoS One**, v. 10, n. 6, p. e0131009, 2015.
- BRACCINI, I.; RODRÍGUEZ-CARVAJAL, M. A.; PÉREZ, S. Chain-chain interactions for methyl polygalacturonate: models for high methyl-esterified pectin junction zones. **Biomacromolecules**, v. 6, p. 1322-1328, 2005.
- BRASIL. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 360**, sobre o regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. Brasília, DF. 2003.
- BRASIL. **MINISTÉRIO DA JUSTIÇA**. Flora do Brasil 2020. 2019.
- BRASIL. **MINISTÉRIO DA SAÚDE**. Guia alimentar para a população Brasileira. Brasília, DF. 2014.
- BRASIL. **MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE**. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potenciais. Plantas para o futuro – Região centro-oeste.

Ministerio do Meio Ambiente. Secretaria de Biodiversidade; Roberto Fontes Vieira (Ed.). Julceia Camillo (Ed.). Lidio Coradin (Ed.). Brasília, DF: MMA, 2016.

BROWNLEE, I. The impact of dietary fibre intake on the physiology and health of the stomach and upper gastrointestinal tract. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 4, p. 155-169, 2014.

BURTON, R. A.; GIDLEY, M. J. & FINCHER, G. B. Heterogeneity in the chemistry, structure and function of plant cell walls. **Nature Chemical Biology**, v. 6, p. 724-732, 2010.

BUSATO, A. P.; VARGAS-RECHIA, C. G.; GORIN, P. A. J.; PETKOWICZ, C. L.; TISCHER, C. A.; BOCHICCHIO, R.; REICHER, F. New 4-*O*-substituted xylosyl units in the xyloglucan from leaves of *Hymenaea courbaril*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 35 (5), p. 277-282, 2005.

BUYKEN, A. E.; MELA, D. J.; DUSSORT, P.; JOHNSON, I. T.; MACDONALD, I. A.; STOWELL, J. D.; BROUNS, F. J. P. H. Dietary carbohydrates: a review of international recommendations and the methods used to derive them. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, p. 1625-1643, 2018.

CAFFAL, K. H. & MOHNEN, D. The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides. **Carbohydrate Research**, v. 344, p. 1879-1900, 2009.

CANFORA, E. E.; MEEEX, R. C. R.; VENEMA, K. & BLAAK, E. E. Gut microbial metabolites in obesity, NAFLD and T2DM. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 15, p. 261-273, 2019.

CANFORA, E. E.; JOCKEN, J. W. & BLAAK, E. E. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 10, n. 10, p. 577-591, 2015.

CANTERI, M. H.; SCHEER, A.; PETKOWICKZ, C.; GINIES, C.; RENARD, C.; WOSIACK, G. Physicochemical composition of the yellow passion fruit pericarp fractions and respective pectic substances. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 49, n. 3, p. 113-122, 2010.

CANTU-JUNGLES, T. M.; CIPRIANI, T. R.; IACOMINI, M.; HAMAKER, B. R.; CORDEIRO, L. M. C. (2017). A pectic polysaccharide from peach palm fruits (*Bactris gasipaes*) and its fermentation profile by the human gut microbiota in vitro. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 9, p. 1-6, 2017.

CANTU-JUNGLES, T.M.; IACOMINI, M.; CIPRIANI, T.R.; CORDEIRO, L.M.C. Extraction and characterization of pectins from primary cell walls of edible açai (*Euterpe oleraceae*) berries, fruits of monocotyledon palm. **Carbohydrate Polymers**, v. 158, p. 37-43, 2017.

CANTU-JUNGLES, T.M.; IACOMINI, M.; CIPRIANI, T.R.; CORDEIRO, L.M.C. Structural diversity of alkali-soluble polysaccharides from the fruit cell walls of tucumã

(*Astrocaryum aculeatum*), a commelinid monocotyledon from the family Arecaceae. **Plant physiology and biochemistry**, v. 118, p. 356-361, 2017.

CANTU-JUNGLES, T. M.; IACOMINI, M.; CIPRIANI, T. R.; CORDEIRO, L. M. C. Isolation and characterization of a xylan with industrial and biomedical applications from edible açai berries (*Euterpe oleraceae*). **Food Chemistry**, v. 221, p. 1595-1597, 2017.

CANTU-JUNGLES, T. M.; ALMEIDA, C. P.; IACOMINI, M.; CIPRIANI, T. R.; CORDEIRO, L. M. C. Arabinan-rich pectic polysaccharides from buriti (*Mauritia flexuosa*): an Amazonian edible palm fruit. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 276-281, 2015.

CANTU-JUNGLES, T. M.; MARIA-FERREIRA, D.; SILVA, L. M.; BAGGIO, C. H.; WERNER, M. F. P.; IACOMINI, M.; CIPRIANI, T. R.; CORDEIRO, L.M.C. Polysaccharides from prunes: Gastroprotective activity and structural elucidation of bioactive pectins. **Food Chemistry**, v. 146, p. 492-499, 2014.

CAPUANO, E. The behavior of dietary fiber in the gastrointestinal tract determines its physiological effect. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 16, p. 3543-3564, 2017.

CARNACHAN, S. M. & HARRIS, P. J. Polysaccharide compositions of primary cell walls of the palms *Phoenix canariensis* and *Rhopalostylis sapida*. **Plant Physiology and Biochemistry**, 38(9), 699–708, 2000.

CARPITA, N. C. & GIBEAUT, D. M. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. **The Plant Journal**, v. 3, n. 1, p. 1-30, 1993.

CAZARIN, C. B. B.; RODRIGUEZ-NOGALES, A.; ALGIERI, F.; UTRILLA, M. P.; RODRÍGUEZ-CABEZAS, M. E.; GARRIDO-MESA, J.; GUERRA-HERNÁNDEZ, E.; BRAGA, P. A. C.; REYES, F. G. R.; JR MARÓSTICA, M. R.; GÁLVEZ, J. Intestinal anti-inflammatory effects of *Passiflora edulis* peel in the dextran sodium sulfate model of mouse colitis. **Journal of Functional Foods**, v. 26, p. 565-576, 2016.

CAZARIN, C.B.B.; SILVA, J.K.; COLOMEU, T.C.; BATISTA, A.G.; VILELLA, C.A.; FERREIRA, A.L.; JUNIOR, S.B.; FUKUDA, K.; AUGUSTO, F.; MEIRELLES, L.R.; ZOLLNER, R.L.; JUNIOR, M.R.M. *Passiflora edulis* peel intake and ulcerative colitis: Approaches for prevention and treatment. **Experimental Biology and Medicine**, v. 239, p. 542-551, 2014a.

CAZARIN, C.B.B.; SILVA, J.K.; COLOMEU, T.C.; ZOLLNER, R.L.; JUNIOR, M.R.M. Capacidade antioxidante e composição química da casca de maracujá (*Passiflora edulis*). **Ciência Rural**, 44(9), 1699-1704, 2014b.

CHAN, S.Y.; CHOO, W. S.; YOUNG, D. J.; LOH, X. J. Pectin as a rheology modifier: origin, structure, commercial production and rheology. **Carbohydrate Polymers**, v. 161, p. 118-139, 2017.

CIPRIANI T.R.; MELLINGER C.G.; SOUZA L.M.; BAGGIO C.H.; FREITAS C.S.; MARQUES M.C.A.; GORIN P.A.J.; SASSAKI G.L.; IACOMINI M. Polygalacturonic acid: Another anti-ulcer polysaccharide from the medicinal plant *Maytenus ilicifolia*. **Carbohydrate Polymers**, v. 78 (2), p. 361-363, 2009.

CIPRIANI T.R.; MELLINGER C.G.; SOUZA L.M.; BAGGIO C.H.; FREITAS C.S.; MARQUES M.C.A.; GORIN P.A.J.; SASSAKI G.L.; IACOMINI M. A Polysaccharide from a Tea (Infusion) of *Maytenus ilicifolia* Leaves with Anti-ulcer Protective Effects. **Journal of Natural Products**, v. 69 (7), p. 1018-1021, 2006.

CIRIMINNA, R.; FIDALGO, A.; DELISI, R.; ILHARCO, L. M.; PAGLIARO, M. Pectin production and global Market. **Agro FOOD Industry Hi Tech**, v. 27, n. 5, p. 17-20, 2016.

CIUCANU, I. & KEREK, F. A simple and rapid method for the permethylation of carbohydrates. **Carbohydrate Research**, v. 131, p. 209–217, 1984.

COLODEL C.; VRIESMANN, L. C.; PETKOWICZ, C. L. O. Rheological characterization of a pectin extracted from ponkan (*Citrus reticulata* blanco cv. ponkan) peel. **Food Hydrocolloids**, v. 94, p. 326-332, 2019.

CONTRERAS-ESQUIVEL, J.C.; AGUILAR, C.N.; MONTANEZ, J.C.; BRANDELLI, A.; ESPINOZA-PEREZ, J.D.; RENARD, C.M.G.C. Pectin from Passion Fruit Fiber and its modification by Pectinmethylesterase. **Journal of Food Science and Nutrition**, v. 15, p. 57-66, 2010.

CORDEIRO, L. M. C.; DE ALMEIDA, C. P.; IACOMINI, M. Unusual linear polysaccharides: (1→5)- α -L-Arabinan, (1→3)-(1→4)- α -D-glucan and (1→4)- β -D-xylan from pulp of buriti (*Mauritia flexuosa*), an edible palm fruit from the Amazon region. **Food Chemistry**, v. 173, p. 141–146, 2015.

CORNE, S.J.; MORRISSEY, S.M.; WOODS, R.J. A method for the quantitative estimation of gastric barrier mucus. **Journal of Physiology**, v. 242, p. 116–117, 1974.

CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. 6 volumes. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional.

CORRÊA, E.M.; MEDINA, L.; BARROS-MONTEIRO, J.; VALLE, N.O.; SALES, R.; MAGALHÃES, A.; SOUZA, F.C.A.; CARVALHO, T.B.; LEMOS, J.R.; LIRA, E.F.; LIMA, E.S.; GALENO, D.M.L.; MORALES, L.; ORTIZ, C.; Carvalho, R.P. The intake of fiber mesocarp Passion Fruit (*Passiflora edulis*) lowers levels of triglyceride and cholesterol decreasing principally insulin and leptin. **Journal of Aging Research and Clinical Practice**, v. 3, n. 1, p. 31-35, 2014.

CORRÊA-FERREIRA, M. L.; FERREIRA, D. M.; DALLAZEN, J. L.; SILVA, A. M.; DE PAULA WERNER, M. F.; DE OLIVEIRA PETKOWICZ, C. L. Gastroprotective effects and structural characterization of a pectic fraction isolated from *Artemisia campestris* subsp *maritima*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 2395-2403, 2017.

COSGROVE, D. J. Growth of the plant cell wall. **Nature Reviews – Molecular Cell Biology**, v. 6, p. 850-861, 2005.

CUI, S. W. Structural analysis of polysaccharides. IN: **Food Carbohydrates: Chemistry, physical properties and applications**. Taylor & Francis. 2005.

CUMMINGS, J. H. & STEPHEN, A. M. Carbohydrate terminology and classification. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 61, supplement 1, p. S5-S18, 2007.

CUNHA, M. S. B. & ARRUDA, S. F. Tucum-do-cerrado (*Bactris setosa* mart.) may promote anti-aging effect by upregulating sirt1-nrf2 pathway and attenuating oxidative stress and inflammation. **Nutrients**. v. 9, n. 11, p. 1-17, 2017.

DA SILVA, B. P. & PARENTE, J. P. Chemical properties and antiinflammatory activity of a galactomannoglucan from *Arecastrum romanzoffianum*. **Phytochemistry Letters**, v. 3 (3), p. 109–112, 2010.

Da SILVA, B. P. & PARENTE, J. P. Chemical properties and antiulcerogenic activity of a galactomannoglucan from *Syagrus oleracea*. **Food Chemistry**, v. 123 (4), p. 1076–1080, 2010.

DA SILVA, B. P.; DE MEDEIROS SILVA, G.; PARENTE, J. P. Chemical properties and adjuvant activity of a galactoglucomannan from *Acrocomia aculeata*. **Carbohydrate Polymers**, v. 75 (3), p. 380–384, 2009.

DE QUEIROZ, M.S.R.; JANEIRO, D.I.; CUNHA, M.A.L.; MEDEIROS, J.S.; SABAA-SRUR, A.U.O.; DINIZ, M.F.F.M.; SANTOS, S.C. (2012). Effect of the yellow passion fruit peel flour (*Passiflora edulis f. flavicarpa* deg.) in insulin sensitivity in type 2 diabetes mellitus patients. **Nutrition Journal**, v. 11, p. 89-96, 2012.

DE SOUZA C.B.; JONATHAN M.; SAAD S.M.I.; SCHOLS H.A.; VENEMA K. Characterization and in vitro digestibility of byproducts from Brazilian food industry: cassava bagasse, orange bagasse and passion fruit peel. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 16, p. 90-99, 2018.

DEBMANDAL, M. & MANDAL, S. Coconut (*Cocos nucifera* L.: Arecaceae) in health promotion and disease prevention. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**. v. 4, n. 3, p. 241-247. 2011.

DELZENNE, N. M.; OLIVARES, M.; NEYRINCK, A. M.; BEAUMONT, M.; KJOLBAEK, L.; LARSEN, T. M.; BENÍTEZ-PÁEZ, A.; ROMANÍ-PÉREZ, M.; GARCIA-CAMPAYO, V.; BOSSCHER, D.; SANZ, Y.; KAMP, J-W. Nutritional interest of dietary fiber and prebiotics in obesity: lessons from the MyNewGut consortium. **Clinical Nutrition**. In press, 2019.

DEVRIES, J. W. Validating official methodology commensurate with dietary fibre research and definitions. IN: **Dietary fibre: new frontiers for food and health**. KAMP, J. W.; JONES, J.; MCCLEARY, B.; TOPPING, D. Wageningen Academic Publishers. 2010.

- DICKINSON, E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 6, p. 1473-1482, 2009.
- DONATO, P.; POLI, A.; TAURISANO, V. & NICOLAUS, B. **Polysaccharides: applications in biology and biotechnology/polysaccharides from bioagro-waste new biomolecules-life**. Ramawat K., Mérillon JM. (eds). Springer, Cham. 2014.
- DORAN, P. M. **Bioprocess Engineering Principles**. 2° edition. Elsevier. USA. 2013.
- DOURADO, F., CARDOSO, S. M., SILVA, A. M. S., GAMA, F. M. & COIMBRA, M. A. NMR structural elucidation of the arabinan from *Prunus dulcis* immunobiological active pectic polysaccharides. **Carbohydrate Polymers**, v. 66 (1), p. 27–33, 2006.
- DRANSFIELD, J.; BAKER, W. J.; HARLEY, M. M.; UHL, N. W.; ASMUSSEN, C. B. & LEWIS, C. E. A new phylogenetic classification of the palm family, Arecaceae. **Kew Bulletin**, v. 60 (4), p. 559–569, 2005.
- EBRINGEROVA, A. & HEINZE, T. (2000). Xylan and xylan derivatives - Biopolymers with valuable properties, 1 - Naturally occurring xylans structures, procedures and properties. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 21 (9), p. 542–556, 2000.
- EINHORN-STOLL, U. Pectin-water interactions in foods – from powder to gel. **Food Hydrocolloids**. v. 78, p. 109-119, 2017.
- EL KAOUTARI, A.; ARMOUGOM, F.; GORDON, J. L.; RAOULT, D.; HENRISSAT, B. The abundance and variety of carbohydrate-active enzymes in the human gut microbiota. **Nature Reviews Microbiology**, v.11, n. 7, p. 497-504, 2013.
- ENGLYST, K. N.; LIU, S. & ENGLYST, H. N. Nutritional characterization and measurement of dietary carbohydrates. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 61, supplement 1, p. S19-S39, 2007.
- ESPÍRITO-SANTO A. P., LAGAZZO, A., SOUZA, A. L. O. P., PEREGO, P., CONVERTI, A., OLIVEIRA, M. N. (2013). Rheology, spontaneous whey separation, microstructure and sensorial characteristics of probiotic yoghurts enriched with passion fruit fiber. **Food Research International**, v. 50, p. 224-231, 2013.
- ESPÍRITO SANTO, A. P.; CARTOLANO, N. S.; SILVA, T. F.; SOARES, F. A. S. M.; GIOIELLI, L. A.; PEREGO, P. et al. (2012a). Fibers from fruit by-products enhance probiotic viability and fatty acids profile and increase CLA content in yogurts. **International Journal of Food Microbiology**, v. 154, p. 135–144, 2012a.
- ESPÍRITO-SANTO, A. P.; PEREGO, P.; CONVERTI, A. & OLIVEIRA, M. N. Influence of milk type and addition of passion fruit peel powder on fermentation kinetics, texture profile and bacterial viability in probiotic yogurts. **LWT — Food Science and Technology**, v. 47(2), p. 393–399, 2012b.

FAO/WHO Food Standards Programme CODEX Alimentarius Commission Codex Alimentarius (CODEX) Guidelines on Nutrition Labelling CAC/GL 2-1985 as last amended 2010. Rome (Italy): FAO. 2010.

FILISSETTI-COZZI, T.M.C.C. & CARPITA, N.C. Measurement of uronic acids without interference of neutral sugars. **Analytical Biochemistry**, v. 197, p. 157-162, 1991.

FRACASSO, A. F.; PERUSSELLO, C. A.; CARPINÉ, D.; PETKOWICZ, C. L. O.; HAMINIUK, C. W. I. Chemical modification of citrus pectin: structural, physical and rheological implications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 109, p. 784-792, 2018.

FUENTES-ZARAGOZA, E.; RIQUELME-NAVARRETE, M. J.; SÁNCHEZ-ZAPATA, E.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A. Resistant Starch as functional ingredient: a review. **Food Research International**, v. 43, p. 931-942, 2010.

FUSTINONI-REIS A. M.; ARRUDA, S. F.; DOURADO, L. P. S.; CUNHA, M. S. B.; SIQUEIRA, E. M. A. Tucum-do-cerrado (*Bactris setosa* Mart.) consumption modulates iron homeostasis and prevents iron-induced oxidative stress in the rat liver. **Nutrients**, v. 8, n. 38, p. 1-14, 2016.

GIACOMAZZA, D.; BULONE, D.; BIAGIO, P. L. S.; MARINO, R.; LAPASIN R. The role of sucrose concentration in self-assembly kinetics of high methoxyl pectin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 112, p. 1183-1190, 2018.

GIACOMAZZA, D.; BULONE, D.; BIAGIO, P. L. S.; LAPASIN R. The complex mechanism of HM pectin self-assembly: a rheological investigation. **Carbohydrate Polymers**, v. 146, p. 181-186, 2016.

GRASDALEN, H.; BAKØY, O. E.; LARSEN, B. Determination of the degree of esterification and the distribution of methylated and free carboxyl groups in pectins by H-N.M.R. spectroscopy. **Carbohydrate Research**, v. 184, p. 183-191, 1988.

GUILLON, F. & CHAMP, M. Structural and physical properties of dietary, and consequences of processing on human physiology. **Food Research International**, v. 33, p. 233-245, 2000.

GUINÉ, R.P.F.; DUARTE, J.; FERREIRA, M.; CORREIA, P.; LEAL, M.; RUMBAK, I.; BARIC, I.C.; KOMES, D.; SATALIC, Z.; SARIC, M.M.; TARCEA, M.; FAZAKAS, Z.; JOVANOSKA, D.; VANEVSKI, D.; VITTADINI, E.; PELLEGRINI, N.; SZÜCS, V.; HARANGOZO, J.; EL-KENAWY, A.; EL-SHENAWY, O.; YALÇIN, E.; KÖSEMECI, C.; KLAVA, D.; STRAUMITE, E. Knowledge about sources of dietary fibres and health effects using a validated scale: a cross-country study. **Public Health**, v. 141, p. 100-112, 2016.

HABIBI, Y., MAHROUZ, M., & VIGNON, M. R. D-Xylans from seed endosperm of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. **Comptes Rendus Chimie**, v. 8 (6-7 SPEC. ISS.), p. 1123-1128, 2005.

HABIBI, Y., & VIGNON, M. R. Isolation and characterization of xylans from seed pericarp of *Argania spinosa* fruit. **Carbohydrate Research**, v. 340 (7), p. 1431–1436, 2005.

HARRIS, P. J. & SMITH, B. G. Plant cell walls and cell-wall polysaccharides: structures, properties and uses in food products. *International Journal of Food Science and Technology*. v. 41, suppl. 2, p. 129-143. 2006.

HALTRICH, D.; NIDETZKY, B.; KULBE, K. D.; STEINER, W.; ZUPANCIC, S. Production of fungal xylanases. **Bioresource Technology**, v. 58, p. 137–161, 1996.

HARRIS, P. J.; KELDERMAN, M. R.; KENDON, M. F.; Mckenzie, R. J. Monosaccharide Compositions of Unlignified Cell Walls of Monocotyledons in Relation to the Occurrence of Wall-bound Ferulic Acid. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 25 (2), p. 167–179, 1997.

HARRIS, P. J. & HARTLEY, R. D. Phenolic constituents of the cell walls of monocotyledons. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 8 (2), p. 153–160, 1980.

HERNÁNDEZ-SANTOS, B.; VIVAR-VERA, M. A.; RODRÍGUEZ-MIRANDA, J.; HERMAN-LARA, E.; TORRUCO-UCO, J. G.; ACEVEDO-VENDRELL, O.; MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, C. E. Dietary fibre and antioxidante compounds in passion fruit (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) peel and depectinised peel waste. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 50, p. 268-274, 2014.

HOFFMAN, M., JIA, Z., PEÑA, M. J., CASH, M., HARPER, A., BLACKBURN, A. R.; YORK, W. S. Structural analysis of xyloglucans in the primary cell walls of plants in the subclass Asteridae. **Carbohydrate Research**, v. 340 (11), p. 1826–1840, 2005.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE PESQUISAS GEOGRÁFICAS. **Produção Agrícola Municipal 2018**. Produção Agrícola Municipal. Rio de Janeiro, v. 45, p.1-8. 2018.

IZYDORCZYK, M.; CUI, S. W. & WANG, Q. Polysaccharide gums: structures, functional properties, and applications. IN: **Food Carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications**. editor: CUI, S. W. Taylor & Francis. 2005.

JARVIS, M. C. Solid-state NMR study of leaf cell walls of oil palm. **Phytochemistry**, v. 35 (2), p. 485–487, 1994.

JARVIS, M. C.; FORSYTH, W. & DUNCAN, H. J. A Survey of the Pectic Content of Nonlignified Monocot Cell Walls. **Plant Physiology**, v. 88 (2), p. 309–314.

JONES, J. M. CODEX-aligned dietary fiber definitions help to bridge the ‘fiber gap’. **Nutrition Journal**, v. 13, n. 34, p. 1-10, 2014.

JONES, J. K. N., & STOODLEY, R. J. **Fractionation using copper complexes**. In *Methods in carbohydrate chemistry* (pp. 36–38), 1965.

JUNGHANS, T.G.; JESUS, O. N. **Maracujá: do cultivo à comercialização**. Embrapa. Brasília, DF. 2017.

KLIEMANN, E.; SIMAS, K.N.; AMANTE, E.R.; PRUDÊNCIO, E.S.; TEÓFILO, R.F.; FERREIRA, M.M.C.; AMBONI, R.D.M.C. (2009). Optimisation of pectin acid extraction from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) using response surface methodology. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, p. 476-483, 2009.

KOROPATKIN, N. M.; CAMERON, E. A. & MARTENS, E. C. How glycan metabolism shapes the human gut microbiota. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, p. 323- 335, 2012.

KOWALSKA, H.; CZAJKOWSKA, K.; CICHOWSKA, J.; LENART, A. What's new in biopotential of fruit and vegetable by-products applied in the food processing industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 67, p. 150-159, 2017.

KROEMER, G.; LÓPEZ-OTÍN, C.; MADEO, F.; CABO, R. Carbotoxicity – Noxious effects of carbohydrates. **Cell**, v. 175, p. 605-614, 2018.

LAMOTHE, L. M.; SRICHUWONG, S.; REUHS, B. L.; HAMAKER, B. R. Quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) and amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) provide dietary fibres high in pectic substances and xyloglucans. **Food Chemistry**, v. 167, p. 490-496, 2015.

LAPASIN, R; PRICL, S. **Rheology of polysaccharide systems**. In: Lapasin, R.; Pricl, S. (eds.). Rheology of industrial polysaccharides: Theory and applications. London: Black Academic & Professional, p. 251-293, 1995.

LEVIN, R. J. Digestion and absorption of carbohydrates – from molecules and membranes to humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 59 (supplement), p. 690S-698S, 1994.

LEWIS M. & HEPPELL, N. **Continuous Thermal Processing of Foods Pasteurization and UHT Sterilization**. Gaithersburg, Maryland, 2000.

LI, J-M. & NIE, S-P. The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods. **Food Hydrocolloids**, v. 53, p. 46-61. 2016.

LI, X.; DONG, Y.; GUO, Y.; ZHANG, Z.; JIA, L.; GAO, H.; XING, Z.; DUAN, F. (2019). Okra polysaccharides reduced the gelling-required sucrose content in its synergistic gel with high-methoxyl pectin by microphase separation effect. **Food Hydrocolloids**, v. 95, p. 506-516, 2019.

LIMA, G. C.; VUOLO, M. M.; BATISTA, A. G.; DRAGANO, N. R. V.; SOLON, C.; JUNIOR, M. R. M. *Passiflora edulis* peel intake improves insulin sensitivity, increasing incretins and hypothalamic satietogenic neuropeptide in rats on a high-fat diet. **Nutrition**, v. 32, p. 863-870, 2016.

LIN, S.; ZHANG, C. & LIN, S. Carbohydrates: not all that bad? **Cell Metabolism**, v. 28, i. 5, p. 671-672, 2018.

LOPES DA SILVA, J. A. & RAO, M. A. **Pectins**: Structure, Funcionalidade, and uses. In Stephen, A. M., Phillips, G. O., Williams P. A. (Eds.), Food polysaccharides and their applications (pp. 353-412). Taylor & Francis, 2006.

LÓPEZ-VARGAS, J. H.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; VIUDA-MARCOS, M. Chemical, physico-chemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of dietary fiber powder obtained from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) co-products. **Food Research International**, v. 51, p. 756-763, 2013.

MACAGNAN, F. T.; SILVA, L. P. & HECKTHEUER, L. H. Dietary fibre: The scientific search for an ideal definition and methodology of analysis, and its physiological importance as a carrier of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 85, p. 144-154, 2016.

MACAGNAN F. T.; SANTOS L. R.; ROBERTO B. S.; MOURA F. A.; BIZZANI M.; SILVA L. P. Biological properties of apple pomace, orange bagasse and passion fruit peel as alternative sources of dietary fibre. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, V. 6 (1), p. 1-6, 2015.

MAKKI, K.; DEEHAN, E. C.; WALTER, J.; BÄCKHED, F. The impact of dietary fiber on gut microbiota in host health and disease. **Cell Host & Microbe**, v. 23, p. 705-715, 2018.

MARCHESI, J. R.; ADAMS, D. H.; FAVA, F.; HERMES, G. D. A.; Hirschfield, G. M.; HOLD, G.; QURASHI, M. N.; KINROSS, J. SMIDT, H.; TUOHY, K. M.; THOMAS, L. V.; ZOETENDAL, E. G.; HART, A. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. **Gut**, v. 65, p. 330-339, 2016.

MARQUES, S.S.F.; LIBONATI, R.M.F.; SABAA-SRUR, A.U.O.; LUO, R.; SHEJWALKAR, P.; HARA, K.; DOBBS, T.; SMITH, R.E. Evaluation of the effects of passion fruit peel flour (*Passiflora edulis* fo. *flavicarpa*) on metabolic changes in HIV patients with lipodystrophy syndrome secondary to antiretroviral therapy. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, p. 420–426, 2016.

MARTINS, Z.E.; PINHO, O.; FERREIRA, I.M.P.L.V.O. Food industry by-products used as functional ingredients of bakery products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 67, p. 106-128, 2017.

MAURER-MENESTRINA, J.; SASSAKI, G. L.; SIMAS, F. F.; GORIN, P. A. J. & IACOMINI, M. Structure of a highly substituted β -xylan of the gum exudate of the palm *Livistona chinensis* (Chinese fan). **Carbohydrate Research**, v. 338 (18), p. 1843–1850, 2003.

MAY, C. D. Industrial Pectins: Sources, production and applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 12, p. 79-99, 1990.

- MEDEIROS, J. S.; DINIZ, M. F. F. M.; SRUR, A. U. O. S.; PESSOA, M. B.; CARDOSO, M. A. A.; CARVALHO, D. F. Ensaios toxicológicos clínicos da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*, f. *flavicarpa*), como alimento com propriedade de saúde. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2, 2009.
- MELLINGER-SILVA, C.; SIMAS-TOSIN, F.F.; SCHIAVINI, D.N.; WERNER, M. F.; BAGGIO, C. H.; PEREIRA, I. T.; DA SILVA, L.M.; GORIN, P.A.J.; IACOMINI, M. Isolation of a gastroprotective arabinoxylan from sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 10524–10528, 2011.
- MIN, B.; LIM, J.; KO, S.; LEE, K.; LEE, S. H.; LEE, S. Environmentally friendly preparation of pectins from agricultural byproducts and their structural/rheological characterization. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 3855-3860, 2011.
- MOHNEN, D. Pectin structure and biosynthesis. **Current Opinion in Plant Biology**. v. 11, p. 266-277, 2008.
- MORRIS, E. R. **Polysaccharide rheology and in-mouth perception**. In A. M. STEPHEN (Ed.), Food polysaccharides and their application (pp. 517–546). New York: Marcel Dekker, 1995.
- MUHAMMAD, K.; MOHD, N. I.; GANNASIN, S. P.; NORANIZAN, M.; BAKAR, A. J. High methoxyl pectin from dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel. **Food Hydrocolloids**, v. 42, p. 298-297, 2014.
- NASCIMENTO, G. E.; SIMAS-TOSIN, F. F.; IACOMINI, M.; GORIN, P. A. J.; CORDEIRO, L. M. C. Rheological behaviour of high methoxyl pectin from the pulp of tamarillo fruit (*Solanum betaceum*). **Carbohydrate Polymers**. v. 139, p. 125-130, 2016.
- NASCIMENTO, A. M.; SOUZA, L. M.; BAGGIO, C. H.; WERNER, M. F. P.; MARIA-FERREIRA, D.; SILVA, L. M.; SASSAKI, G. L.; GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M.; CIPRIANI, T. R. Gastroprotective effect and structure of a rhamnogalacturonan from *Acmella oleracea*. **Phytochemistry**, v. 85, p. 137-142, 2013.
- NASCIMENTO, T. A.; CALADO, V. & CARVALHO, C. W. P. Development and characterization of flexible film based on starch and passion fruit mesocarp flour with nanoparticles. **Food Research International**, v. 49, p. 588-595, 2012.
- NDEH, D. et al. Complex pectin metabolism by gut bacteria reveals novel catalytic functions. **Nature**, v. 544, n. 65, p. 65-84, 2017.
- NERGARD, C.S.; DIALLO, D.; INNGJERDINGEN, K.; MICHAELSEN, T.E.; MATSUMOTO, T.; KIYOHARA, H.; YAMADA, H.; PAULSEN, B.S. Medicinal use of *Cochlospermum tinctorium* in Mali: anti-ulcer-, radical scavenging- and immunomodulating activities of polymers in the aqueous extract of the roots. **Journal of Ethnopharmacol**, v. 96, p. 255–269, 2005.
- NEYRINCK, A. M.; VAN HÉE, V. F.; BACKER, F.; TOUSSAINT, O.; CANI, P. D.; DELZENNE, N. M. Wheat-derived arabinoxylan oligosaccharides with prebiotic effect

increase satietogenic gut peptides and reduce metabolic endotoxemia in diet-induced obese mice. **Nutrition and Diabetes**, v. 2, p. 1-9, 2012.

NICHOLS, B.L.; AVERY, S.; SEN, P.; Dallas M. SWALLOW, D.M.; HAHN, D.; STERCHI, E. The maltase-glucoamylase gene: Common ancestry to sucrase-isomaltase with complementary starch digestion activities. **PNAS**, v. 100 (3), p. 1432-1437, 2003.

NOREEN, A.; NAZLI, Z.; AKRAM, J.; RASUL, I.; MANSHA, A.; YAQOOB, N.; IQBAL, R.; TABASUM, S.; ZUBER, M.; ZIA, K. M. Pectins functionalized biomaterials; a new viable approach for biomedical applications: a review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 101, p. 254-272, 2017.

ODONMAZIG, P.; BADGAA, D.; EBRINGEROVA, A.; MIHALOV, V.; ALFOLDI, J. An acidic D-xylan from the Siberian apricot (*Armeniaca siberica* L.) fruit. **Carbohydrate Research**, v. 198, p. 163–167, 1990.

OAKENFULL, D. G. The chemistry of high-methoxyl pectins. IN: The chemistry and technology of pectin. Walter, R. H. Academic Press. USA. 1991.

OAKENFULL, D. G. & SCOTT, A. Hydrophobic interaction on the gelation of high methoxyl pectins. *Journal of Food Science*. v. 49, p. 1093-1098. 1984.

OATES, P. J. & HAKKINEN, J. P. Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. **Gastroenterology**, v. 94 (1), p. 10-21, 1998.

OTIENO, D. O. & AHRING, B. K. The potential for oligosaccharide production from the hemicellulose fraction of biomasses through pretreatment processes: xylooligosaccharides (XOS), arabinooligosaccharides (AOS), and mannoooligosaccharides (MOS). **Carbohydrate Research**, v. 360, p. 84-92, 2012.

PEÑA, M. J.; KULKARNI, A.M.; BACKE, J.; BOYD, M.; O'NEILL, M.A.; YORK, W.S. Structural diversity of xylans in the cell wall of monocots. **Planta**, v. 244, p. 589-606, 2016.

PENG, P. & SHE, D. Isolation, structural characterization, and potential applications of hemicelluloses from bamboo: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 112, p. 701-720, 2014.

PINHEIRO, E.R.; SILVA, I.M.D.A.; GONZAGA, L.V.; AMANTE, E.R.; TEÓFILO, E.S.; FERREIRA, M.M.C.; AMBONI, R.D.M.C. Optimization of extraction of high ester pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) with citric acid by using response surface methodology. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 5561-5566, 2008.

POUTANEN, K.S.; FISZMAN, S.; MARSAUX C.F.M.; PENTIKÄNEN, S.P.; STEINERT, R.E.; MELA, D.J. Recommendations for the characterization and reporting of dietary fibers in nutrition research. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 108, p. 437-444, 2018.

QUEIROZ, M.S.R.; JANEIRO, D.I.; CUNHA, M.A.L.; MEDEIROS, J.S.; SABAA-SRUR, A.U.O.; DINIZ, M.F.F.M.; SANTOS, S.C. Effect of the yellow passion fruit peel flour (*Passiflora edulis f. flavicarpa* deg.) in insulin sensitivity in type 2 diabetes mellitus patients. **Nutrition Journal**, v. 11, p. 89-96, 2012.

RAMOS, A.T.; CUNHA M.A.L.; SABAA-SRUR, A.U.O.; PIRES, V.C.F.; CARDOSO, M.A.A.; DINIZ, M.F.F.M.; MEDEIROS C.C.M. Use of *Passiflora edulis f. flavicarpa* on cholesterol reduction. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 4, p. 592-597, 2007.

RAO, M. A. **Rheology of Fluid and Semisolid Foods** - Principles and Applications, second edition. Geneva. 2007.

RIOS-COVIÁN, D.; RUAS-MADIEDO, P.; MARGOLLES, A.; GUEIMONDE, M.; REYES-GAVILÁN, C. G.; SALAZAR, N. Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1-9, 2016.

ROBERT, A.; NEZAMIS, J.; LANCASTER, C.; HANCHAR, A.J. Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl, and thermal injury. **Gastroenterology**, v. 77, p. 433-443, 1979.

ROSA, F. R.; ARRUDA, A. F.; SIQUEIRA, E. M. A.; ARRUDA, S. F. Phytochemical compounds and antioxidant capacity of Tucum-do-Cerrado (*Bactris setosa* Mart), Brazil's native fruit. **Nutrients**, v. 8, n. 110, p. 1-17, 2016.

SASSAKI, G. L.; GORIN, P. A. J.; SOUZA, L. M.; CZELUSNIAK, P. A.; IACOMINI, M. Rapid synthesis of partially O-methylated alditol acetate standards for GC-MS: Some relative activities of hydroxyl groups of methyl glycopyranosides on Purdie methylation. **Carbohydrate Research**, v. 340 (4), p. 731-739, 2005.

SCHRAMM, G. **Reologia e Reometria**: Fundamentos teóricos e práticos. 2ª edição. Artliber Editora Ltda. São Paulo. 2006.

SEDLAK, J. & LINDSAY, R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Methods of Biochemical Analysis**, v. 25, p. 192-205, 1968.

SEIXAS, F. L.; FUKUDA, D. L.; TURBIANI, F. R. B.; GARCIA, P. S.; PETKOWICZ, C. L. O.; JAGADEVAN, S.; GIMENES, M. L. Extraction of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) by microwave-induced heating. **Food Hydrocolloids**, v. 38, p. 186-192, 2014.

SHATALOV, A. A.; EVTUGUIN, D. V. & NETO, C. P. D-xylan from *Eucalyptus globulus* Labill. **Carbohydrate Research**, v. 320, p. 93-99, 1999.

SILVA, J.K.; CAZARIN, C.B.B.; BATISTA, A.G.; MARÓSTICA JR., M. Effects of passion fruit (*Passiflora edulis*) byproduct intake in antioxidant status of Wistar rats tissue. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, p. 1213-1219, 2014.

SILVA, D. C.; FREITAS, A. L. P.; BARROS, F. C. N.; LINS, K. O. A. L.; ALVES, A. P. N. N.; ALENCAR, N. M. N.; FIGUEIREDO, I. S. T.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V.; FEITOSA, J. P. A.; MACIEL, J. S.; PAULA, R. C. M. Polysaccharide isolated from *Passiflora edulis*: Characterization and antitumor properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 139-145, 2012.

SILVA, J. A. L. & RAO, M. A. **Pectin**: structure, functionality, and uses. IN: Food polysaccharides and their applications. STEPHEN, A. M.; PHILLIPS, G. O. & WILLIAMS, P. A. 2° Edition. Taylor & Francis. USA. 2006.

SIMAS-TOSIN, F. F.; BARRAZA, R. R.; MARIA-FERREIRA, D.; WERNER, M. F. D. P.; BAGGIO, C. H.; WAGNER, R.; GORIN, P. A. J. Glucuronoarabinoxylan from coconut palm gum exudate: Chemical structure and gastroprotective effect. **Carbohydrate Polymers**, v. 107 (1), p. 65–71, 2014.

SIMAS, F. F.; MAURER-MENESTRINA, J.; REIS, R. A.; SASSAKI, G. L.; IACOMINI, M.; GORIN, P. A. J. Structure of the fucose-containing acidic heteroxylan from the gum exudate of *Syagrus romanzoffiana* (Queen palm). **Carbohydrate Polymers**, v. 63 (1), p. 30–39, 2006.

SIMAS, F. F.; GORIN, P. A. J.; GUERRINI, M.; NAGGI, A.; SASSAKI, G. L., DELGOBO, C. L.; IACOMINI, M. Structure of a heteroxylan of gum exudate of the palm *Scheelea phalerata* (uricuri). **Phytochemistry**, v. 65 (16), p. 2347–2355, 2004.

SLAVIN, J. Carbohydrates, dietary fiber, and resistant starch in white vegetables: Links to Health Outcomes. **Advances in Nutrition**, v. 4, p. 351S-355S, 2013.

SLAVIN, J. & LLOYD, B. Health benefits of fruits and vegetables. **Advances in Nutrition**, v. 3, p. 506-516, 2012.

SMITH, L. G. Plant cell division: building walls in the right places. **Nature Reviews – Molecular Cell Biology**, v. 2, p. 33-39, 2001.

SONNENBURG, J. L.; BÄCKHED, F. Diet–microbiota interactions as moderators of human metabolism. **Nature**, v. 535, p. 56-64, 2016.

SOUZA, C. B.; JONATHAN, M.; SAAD, S. M. I.; SCHOLS, H. A.; VENEMA, K. Characterization and *in vitro* digestibility of by-products from Brazilian food industry: Cassava bagasse, orange bagasse and passion fruit peel. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 16, p. 90-99, 2018.

SOUZA, J. S. & GERUM A. F. A. A. **Aspectos econômicos da produção do maracujá no Brasil**. In T.G JUNGHANS, O. N. Jesus (Eds.), Maracujá: do cultivo à comercialização (pp. 9-14). Brasília, DF: Embrapa, 2017.

STEPHEN, A. M.; CHAMP, M. M.; CLORAN, S. J.; FLEITH, M.; VAN LIESCHOUT, L.; MEJBORN, H.; BURLEY, V. J. Dietary fibre in Europe: current state of knowledge on definitions, sources, recommendations, intakes and relationships to health. **Nutrition Research Reviews**, v. 30, n. 2, p. 149-190, 2017.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação - Universidade Estadual de Campinas (NEPA/UNICAMP). 4º edição revisada e ampliada. Campinas, SP. 2011.

TANAKA, L. Y. A.; OLIVEIRA, A. J. B.; GONÇALVES, J. E.; CIPRIANI, T. R.; SOUZA, L. M.; MARQUES, M. C. A.; WERNER, M.F.P.; BAGGIO, C.H.; GORIN, P.A.J.; SASSAKI, G.L.; IACOMINI, M. An arabinogalactan with anti-ulcer protective effects isolated from *Cereus peruvianus*. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 714–721, 2010.

TEIXEIRA, N.; Melo, J.C.S.; BATISTA, L.F.; PAULA-SOUZA, J.; FRONZA, P.; BRANDÃO, M.G.L. Edible fruits from Brazilian biodiversity: A review on their sensorial characteristics *versus* bioactivity as tool to select research. **Food Research International**, v.119, p. 325-348, 2019.

THREAPLETON, D. E.; GREENWOOD, D. C.; EVANS, C. E. L.; CLEGHORN, C. L.; NYKJAER, C.; WOODHEAD, C.; CADE, J. E.; GALE, C. P.; BURLEY, V. J. Dietary fibre intake and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. **BMJ**, v. 347, p. 1-12, 2013.

THUDE, S. & CLASSEN, B. High molecular weight constituents from roots of *Echinacea pallida*: An arabinogalactan-protein and an arabinan. **Phytochemistry**, v. 66 (9), p. 1026–1032, 2005.

TREMAROLI, V. & BÄCKHED, F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. **Nature**, v. 489, p. 242-249, 2012.

TUNGLAND, B. C. & MEYER, D. Nondigestible oligo- and polysaccharides (dietary fiber): their physiology and role in human health and food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v.3, p. 90-109. 2006.

VERSPREET, J.; DAMEN, B.; BROEKAERT, W. F.; VERBEKE, K.; DELCOUR, J. A.; COURTIN, C. M. A critical look at prebiotics within the dietary fiber concept. **Annual Reviews on Food Science and Technology**, v. 7, p. 167-190, 2016.

VRIESMANN, L. C. & PETKOWICZ, C. L. O. (2013). Highly acetylated pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) forms gel. **Food Hydrocolloids**, v. 33, p. 58-65, 2013.

VRIESMANN, L. C.; SILVEIRA, J. L. M.; & PETKOWICZ, C. L. O. Rheological behaviour of a pectic fraction from the pulp of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*). **Carbohydrate Polymers**, v. 79 (2), p. 312–317, 2010.

YAHIA, E.M.; ORNELA-PAZ, J.J.; GONZALEZ-AGUILAR, G.A. **Nutritional and health promoting properties of tropical and subtropical fruits**. IN: Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits. Capítulo 2. Woodhead Publishing Limited. 2011.

YAO, B.; FANG, H.; XU, W.; YAN, Y.; XU, H.; LIU, Y.; MO, M.; ZHANG, H.; ZHAO, Y. Dietary fiber intake and risk of type 2 diabetes: a dose–response analysis of prospective studies. **European Journal of Epidemiology**, v. 29, p. 79-88, 2014.

YAPO, B. M. Pectic substances: from simple pectic polysaccharides to complex pectins – a new hypothetical model. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, p. 373-385, 2011.

YAPO, B.M. Biochemical characteristics and gelling capacity of pectin from yellow passion fruit rind as affected by acid extractant nature. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 1572-1578, 2009.

YAPO, B.M. & KOFFI, K.L. Dietary fiber components in yellow passion fruit rinds: a potential fiber source. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 14, p. 5880–5883, 2008.

YAPO, B.M. & KOFFI, K.L. The polysaccharide composition of yellow passion fruit rind cell wall: chemical and macromolecular features of extracted pectins and hemicellulosic polysaccharides. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, p. 2125-2133, 2008.

YAPO, B. M. & KOFFI, K.L. Yellow passion fruit rind: a potential source of low-methoxyl pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2738-2744, 2006.

WANDERS, A. J.; BORNE, J. J. G. C.; GRAAF, C.; HULSHOF, T.; JONATHAN, M. C.; KRISTENSEN, M.; MARS, M.; SCHOLS, H. A.; FESKENS, E. J. M. Effects of dietary fibre on subjective appetite, energy intake and body weight: a systematic review of randomized controlled trials. **Obesity Reviews**. v. 12, n. 9, p.724-739. 2011.

WATT, D. K.; BRASCH, D. J.; LARSEN, D. S.; MELTON, L. D. Isolation, characterization, and NMR study of xyloglucan from enzymatically depectinized and non-depectinized apple pomace. **Carbohydrate Polymers**, v. 39 (2), p. 165–180, 1999.

WEICKERT, M. O. & PFEIFFER A. F. H. Impact of dietary fiber consumption on insulin resistance and the prevention of type 2 diabetes. **The Journal of Nutrition**. v. 148, n. 1, p.7-12. 2018.

WEICKERT, M.O.; MOHLIG, M.; KOEBNICK, C.; HOLST, J.J.; NAMSOLLECK, P.; RISTOW, M.; OSTERHOFF, M.; ROCHLITZ, H.; RUDOVICH, N.; SPRANGER, J.; PFEIFFER, A. F. Impact of cereal fibre on glucose-regulating factors. **Diabetologia**. v. 48, p. 2343–2353. 2005.

WEN, J. L.; XIAO, L. P.; SUN, Y. C.; SUN, S. N.; XU, F.; SUN, R. C.; ZHANG, X. L. Comparative study of alkali-soluble hemicelluloses isolated from bamboo (*Bambusa rigida*). **Carbohydrate Research**, v. 346 (1), p. 111–120, 2011.

WILLATS, W. G. T.; KNOX, J. P.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science & Technology**. v. 17, p. 97-104. 2006.

WHITCOMB, D. C. & LOWE, M. E. Human pancreatic digestive enzymes. **Digestive Diseases and Sciences**. v. 52, p. 1-17. 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Healthy Diet**. Fact sheet number 394 (2018).