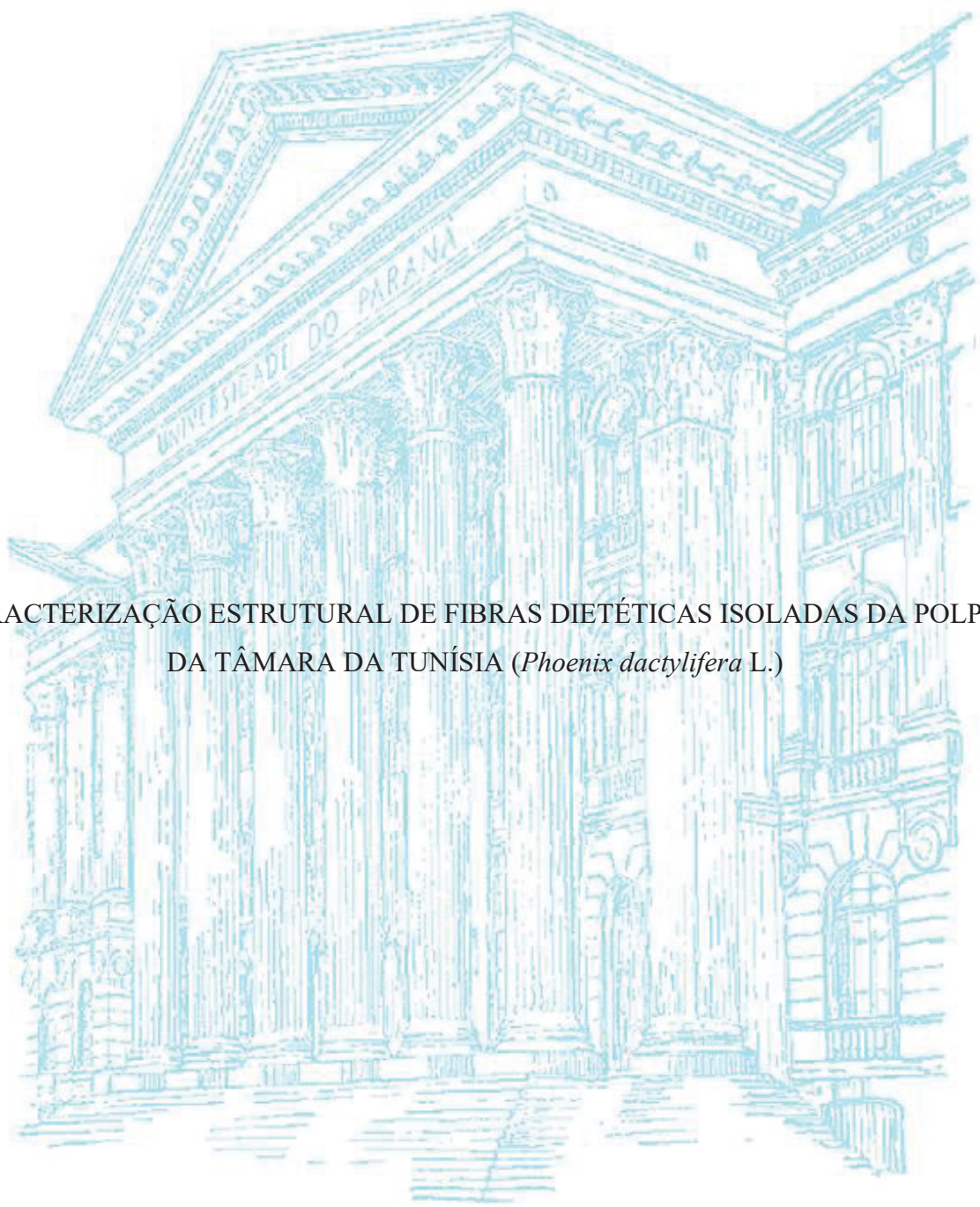


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LAIS BUSARELLO

CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE FIBRAS DIETÉTICAS ISOLADAS DA POLPA
DA TÂMARA DA TUNÍSIA (*Phoenix dactylifera* L.)



CURITIBA

2022

LAIS BUSARELLO

CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE FIBRAS DIETÉTICAS ISOLADAS DA POLPA
DA TÂMARA DA TUNÍSIA (*Phoenix dactylifera* L.)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências – Bioquímica, do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências – Bioquímica.

Orientadora: Profa. Dra. Lucimara Mach Côrtes Cordeiro

Curitiba

2022

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Busarello, Lais

Caracterização estrutural de fibras dietéticas isoladas da polpa da tâmara da Tunísia (*Phoenix dactylifera* L.) / Lais Busarello. – Curitiba, 2022.

1 recurso on-line : PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências (Bioquímica).

Orientador: Profa. Dra. Lucimara Mach Côrtes Cordeiro.

1. Araceae. 2. Fibras na dieta. 3. Polissacarídeos. 4. Tâmara. I. Cordeiro, Lucimara Mach C. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências (Bioquímica). III. Título.

Bibliotecária: Giana Mara Seniski Silva. CRB-9/1406



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 CIÊNCIAS (BIOQUÍMICA) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **LAIS BUSARELLO** intitulada: **CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE FIBRAS DIETÉTICAS ISOLADAS DA POLPA DA TÂMARA DA TUNÍSIA (*Phoenix dactylifera* L.)**, 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 mestra 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, 22 de Fevereiro de 2022.

Assinatura Eletrônica

11/03/2022 21:24:58.0

LUCIMARA MACH CORTES CORDEIRO

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

14/03/2022 11:33:10.0

CAMILA SILVA TAMIELLO

Avaliador Externo (UNITED ARAB EMIRATES UNIVERSITY)

Assinatura Eletrônica

18/03/2022 15:18:39.0

MARCELLO IACOMINI

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - CENTRO POLITÉCNICO - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 81531-980 - Tel: (41) 3361-1672 - E-mail: pgbioq@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 161211

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 161211

Dedico esse trabalho as pessoas mais importantes da minha vida:
ao meu marido Iuram, meus pais Amauri e Ivana e à minha irmã Tamires.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus e a espiritualidade de luz, por terem me sustentado nos momentos de fragilidade, pela proteção e por terem me permitido chegar até aqui.

Ao meu marido Iuram, pelo amor e zelo, por apoiar as minhas decisões, mesmo aquelas que nos tiraram da nossa zona de conforto, por “segurar as pontas” nas minhas ausências, pela paciência e compreensão nos meus “surto” e por tudo que já passamos juntos. Eu te amo!

Aos meus pais Amauri e Ivana, pelo amor incondicional, por sempre terem sido uma base forte e por terem me ensinado, através do exemplo, a ter boa índole e a valorizar a educação.

À minha irmã Tamires, pela parceria de uma vida, pelo carinho e consideração mesmo na distância, por ouvir meus desabafos e pelo incentivo nas horas mais difíceis.

À minha avó Olga (*in memoriam*), que não teve a oportunidade de estudar e cujo sonho sempre foi se tornar professora, pelo afeto e pelo estímulo aos estudos desde a mais tenra idade.

À Rogério e Márcia Becker, que me receberam em sua casa em Curitiba com toda a hospitalidade e confiança.

A prof. Dra. Keila Zaniboni Siqueira Batista por sua acessibilidade e pela conversa generosa e decisiva na época em que eu selecionava o programa de pós-graduação que faria.

À minha orientadora, prof. Dra. Lucimara Mach Cortes Cordeiro, por ter me dado oportunidade em circunstâncias desafiadoras, por ter confiado na minha capacidade, pela sua disponibilidade em ensinar e sua paciência com as minhas limitações.

Ao professor Dr. Marcello Iacomini e a Dra Camila Silva Tamiello da Rosa por terem aceitado participar da banca.

A todos os colegas do grupo de pesquisa “Química de carboidratos” dos laboratórios 247, 250, 252 e E1 pela parceria de estudo nas disciplinas, por me ensinarem e auxiliarem no laboratório, mas principalmente por me proporcionarem momentos de descontração. Cabe também um agradecimento especial a Vanessa Schneider, por te me ensinado grande parte do que sei sobre a rotina de laboratório e por ter me ajudado nos experimentos e análises. Agradeço também a Giulliana, Shyanne e Maria Paula por me ajudarem sempre que precisei e por serem minhas mãos no laboratório incontáveis vezes.

Aos professores, técnicos e responsáveis pelas análises, principalmente ao Prof. Dr. Guilherme Sasaki, Arquimedes Santana, Keylla Lençone e Rosane Bagatin.

A Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-graduação em Ciências (Bioquímica) pela estrutura e oportunidade de aprender. Tenho plena ciência de que o acesso a uma educação desse nível foi um privilégio, reservado a poucos.

E por fim, a todos que de alguma forma ajudaram no desenvolvimento deste trabalho.
Gratidão!

“Há duas formas para viver a sua vida. Uma é acreditar que não existe milagre.
A outra é acreditar que todas as coisas são um milagre.”
Albert Einstein

RESUMO

As tâmaras são os frutos da tamareira (*Phoenix dactylifera* L.), espécie da Família Arecaceae, que é provavelmente uma das mais antigas plantas cultivadas pelo homem e possui importância econômica, religiosa e nutricional para comunidades de países desérticos. O objetivo desta pesquisa é a extração, purificação e caracterização química estrutural das fibras dietéticas extraídas da polpa das tâmaras da Tunísia. Esses frutos foram adquiridos no mercado municipal de Curitiba (Paraná, Brasil) e suas sementes foram retiradas manualmente. A polpa foi triturada com água em liquidificador e submetida à digestão enzimática sequencial para extração das fibras dietéticas, resultando nas frações TAS (fibra solúvel) e TAI (fibra insolúvel). A fração TAS teve um rendimento de 1,5% e é composta por pectinas com alto grau de metilesterificação, com domínios de homogalacturonana e arabinogalactana do tipo II. A fração TAI (rendimento de 6,5%) passou por extração alcalina sequencial, através da solubilização com solução de hidróxido de sódio 1%, gerando as frações sobrenadante (TAIKS1M) e precipitado (TAIKP1M), com rendimentos de 1,4% e 1,1%, respectivamente. Subsequentemente o resíduo da extração à 1% foi solubilizado em solução de hidróxido de sódio 10%, originando as frações sobrenadante (TAIKS10M) e precipitado (TAIKP10M), com rendimentos de 0,3% e 0,5%, respectivamente. Os resultados de caracterização das frações TAIKS1M e TAIKS10M indicam a presença de arabinoxilanas, enquanto que arabinogalactanas do tipo I foram observadas na fração TAIKP1M e glucuronoxilanas na fração TAIKP10M. Novos processos de purificação são necessários a fim de realizar a caracterização da estrutura química fina desses polissacarídeos.

Palavras-chaves: tâmaras; Arecaceae; polissacarídeos; fibra dietética; xilana; arabinogalactana

ABSTRACT

Dates are berries from *Phoenix dactylifera* L. palm trees, a species of the Family Areaceae, which is probably one of the oldest plants cultivated by men which have economic, religious and nutritional significance for desert countries communities. The aim of this research is the extraction, purification and chemical structural characterization of dietary fibers extracted from the pulp of Tunisian dates. These fruits were purchased at the public market in Curitiba (Paraná, Brazil) and the seeds were manually removed. The pulp was grinded with water in a blender and submitted to sequential enzymatic digestion to extract dietary fibers, resulting in the TAS (soluble fiber) and TAI (insoluble fiber) fractions. The TAS fraction had a 1.5% yield and was composed of pectins with a high degree of methylesterification, holding homogalacturonan and type II arabinogalactan domains. The TAI fraction (6.5% yield) underwent sequential alkaline extraction, through solubilization with 1% sodium hydroxide solution, producing the supernatant (TAKS1M) and precipitate (TAIKP1M) fractions, with yields of 1.4% and 1.1%, respectively. Subsequently, the residue from the 1% extraction was solubilized in 10% sodium hydroxide solution, yielding the supernatant (TAKS10M) and the precipitate (TAIKP10M) fractions, with yields of 0.3% and 0.5%, respectively. The characterization results of the TAIKS1M and TAIKS10M fractions indicate the presence of arabinoxylans, while type I arabinogalactans have been observed in TAIKP1M fraction, and glucuronoxylans in the TAIKP10M fraction. New purification processes are required in order to characterize the fine chemical structure of these polysaccharides.

Keywords: dates; Areaceae; polysaccharides; Dietary fiber; xylan; arabinogalactan

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Diferentes estágios de amadurecimento das tâmaras conforme o DPP. Adaptado de AL-ALAWI et.al., 2017.

FIGURA 2 – Organização dos componentes da estrutura da parede celular primária de vegetais. Adaptado de SCHELLER e ULVSKOV, 2010.

FIGURA 3 – Estruturas dos polissacarídeos pécticos e seus quatro domínios principais.
a) homogalacturonanas (HG), b) rhamnogalacturonanas do tipo I (RG-I),
c) rhamnogalacturonanas do tipo II (RG-II), d) xilogalacturonanas (XGA).
Adaptado de JIN et al., 2021.

FIGURA 4 – Polissacarídeos hemicelulósicos de plantas e sua ligação β -(1 $\rightarrow$ 4) em configuração equatorial em C-1 e C-4. Adaptado de SCHELLER e ULVSKOV (2010).

FIGURA 5 – Fluxograma de extração dos polissacarídeos presentes na polpa das tâmaras pelo método enzimático-gravimétrico.

FIGURA 6 – Fluxograma de extração de polissacarídeos de tâmaras obtidos por extração alcalina sequencial da fração TAI.

FIGURA 7 – Esquema da extração e purificação de polissacarídeos da polpa das tâmaras da Tunísia. *: rendimento relativo ao peso seco das tâmaras. **: rendimento relativo a quantidade de fração utilizada no tratamento de Fehling.

FIGURA 8 – Perfil de eluição da fração TAS obtido por HPSEC. Detector de índice de refração.

FIGURA 9 – Mapa de correlação direta HSQC da fração TAS. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em ppm. Sinais em verde claro representam -CH₂- no experimento HSQC-DEPT. Experimento realizado em D₂O, a 70 °C.

FIGURA 10 – Mapa de correlação direta HSQC da fração TAS-SFS. Os deslocamentos

químicos (δ) são expressos em ppm. Sinais em verde claro representam -CH₂- no HSQC-DEPT. Experimento realizado em D₂O, a 70 °C.

FIGURA 11 – Perfil de eluição por HPSEC da fração TAS-SFS. Detector de índice de refração.

FIGURA 12 – Perfil de eluição por HPSEC da fração TAS-SFP. Detector de índice de refração.

FIGURA 13 – Perfil de eluição por HPSEC da fração TAIKS1M. Detector de índice de refração.

FIGURA 14 – Mapa de correlação direta HSQC da fração TAIKS1M. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em ppm. Sinais em verde claro representam -CH₂- no HSQC-DEPT. Experimento realizado em D₂O, a 70 °C.

FIGURA 15 – Sobreposição dos perfis de eluição por HPSEC das frações TAIKS1M (em vermelho) e TAIKS1M-SF (em preto). Detector de índice de refração.

FIGURA 16 – (A) Mapa de correlação direta HSQC da fração TAIKS1M-SF. Sinais em verde claro representam -CH₂- no HSQC-DEPT. (B) Espectro de r.m.n-¹³C da fração TAIKS1M-SF. Experimentos realizados em D₂O, a 70 °C. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em ppm.

FIGURA 17 – Mapa de correlação direta HSQC da fração TAIKP1M. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em ppm. Sinais em verde claro representam -CH₂- no HSQC-DEPT. Experimento realizado em DMSO-d₆, a 70 °C. *Apenas fração solúvel em DMSO-d₆ foi enviada para análise.

FIGURA 18- **A)** Perfil de eluição por HPSEC da fração TAIKS10M. Detector de índice de refração. **B)** Sobreposição dos perfis de eluição por HPSEC das frações TAIKS1M (em vermelho) e TAIKS10M (em preto). Detector de índice de refração.

FIGURA 19- Mapa de correlação direta HSQC do sobrenadante da fração TAIKS10M em DMSO-d₆. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em ppm. Sinais em verde claro representam -CH₂- no HSQC-DEPT. Experimento realizado em DMSO-d₆, a 70 °C.

FIGURA 20- **A)** Mapa de correlação direta HSQC do sobrenadante da fração TAIKS10M-SF. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em ppm. Sinais em verde claro representam -CH₂- no HSQC-DEPT. Experimento realizado em DMSO-d₆, a 70 °C. **B)** Sobreposição dos mapas de correlação direta HSQC do sobrenadante da fração TAIKS10M-SF (em azul e verde) e da fração de origem TAIKS10M (em vermelho e rosa), **C)** Sobreposição dos mapas de correlação direta HSQC do sobrenadante da fração TAIKS10M-PF (em azul e verde) e da TAIKS10M-SF (em vermelho e rosa).

FIGURA 21- **A)** Mapa de correlação direta HSQC da fração TAIKP10M. Sinais em verde claro representam -CH₂- no HSQC-DEPT. **B)** Espectro de r.m.n.-¹³C da fração TAIKP10M. Experimentos realizados em DMSO-d₆, a 70 °C. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em ppm.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Composição monossacarídica e dosagem de ácidos urônicos da fração TAS extraída pelo Método enzimático-gravimétrico da polpa do fruto de *Phoenix dactylifera L.*

TABELA 2 – Dosagem de proteínas e compostos fenólicos das frações TAS, TAIKS1M, TAIKS10M, TAIKP1M e TAIKP10M obtidas através extração de polissacarídeos da polpa das tâmaras da Tunísia.

TABELA 3 – Composição monossacarídica das frações TAS-SFS e TAS-SFP obtidas pelo tratamento com solução de Fehling da fração TAS.

TABELA 4 – Composição monossacarídica das frações TAIKS1M, TAIKS1M-SF, TAIKS1M-PF, TAIKP1M, TAIKS10M, TAIKS10M-SF, TAIKS10M-PF e TAIKP10M obtidas por extração alcalina sequencial da fração TAI.

TABELA 5- Tipos de ligação baseados na análise de acetato de alditóis parcialmente *O*-metilados, obtido da fração metiladas TAIKP1M-Cl provenientes da polpa das tâmaras (*Phoenix dactylifera*).

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Frações obtidas de *Phoenix dactylifera L.*

TA	Polpa das tâmaras.
TAS	Fibras solúveis da polpa das tâmaras.
TAI	Fibras insolúveis da polpa das tâmaras.
TAIKS1M	Sobrenadante do extrato alcalino (NaOH 1%) obtido da fibra insolúvel das tâmaras.
TAIKS1M-SF	Sobrenadante de Fehling de TAIKS1M.
TAIKS1M-PF	Precipitado de Fehling de TAIKS1M.
TAIKP1M	Precipitado do extrato alcalino (NaOH 1%) obtido da fibra insolúvel das tâmaras.
TAIKP1M-CL	TAIKP1M que passou por clareamento.
TAIKS10M	Sobrenadante do extrato alcalino (NaOH 10%) obtido da fibra insolúvel das tâmaras.
TAIKS10M-SF	Sobrenadante de Fehling de TAIKS10M.
TAIKS10M-PF	Precipitado de Fehling de TAIKS10M.
TAIKP10M	Precipitado do extrato alcalino (NaOH 10%) obtido da fibra insolúvel das tâmaras.

Compostos químicos e termos associados

Ac ₂ O	Anidrido acético
TCA	Ácido tricloroacético
D ₂ O	Água deuterada
KOH	Hidróxido de potássio

NaOH	Hidróxido de sódio
NaBH ₄	Boroidreto de sódio
TFA	Ácido trifluoroacético

Técnicas de análise e termos associados

DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (Aprimoramento sem Distorção por Transferência da Polarização)
GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectrometry (Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massa)
HPSEC	High Performance Size Exclusion Chromatography (Cromatografia de exclusão estérica de alto desempenho)
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation Spectroscopy (Espectrometria de Correlação Heretonuclear Quântica Simples)
MALLS	Multi-Angle Laser Light Scattering (Espalhamento de luz laser em Múltiplos Ângulos)
RMN	Ressonância Magnética Nuclear

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3 OBJETIVOS	35
3.1 OBJETIVO GERAL	35
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
4 MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL	36
4.2 EXTRAÇÃO DAS FIBRAS DIETÉTICAS	36
4.2.1 Método enzimático-gravimétrico	36
4.2.2 Solubilização das hemiceluloses presentes na fração TAI	38
4.3 PURIFICAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS	39
4.3.1 Precipitação por Solução de Fehling	40
4.3.2 Despigmentação	41
4.4 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE POLISSACARÍDEOS	42
4.4.1 Métodos químicos	42
4.4.1.1 Composição monossacarídica	42
4.4.1.2 Metilação	43
4.4.2 Métodos Espectrofotométricos	44
4.4.2.1 Dosagem de ácidos urônicos	44
4.4.2.2 Dosagem de proteínas	45
4.4.2.3 Dosagem de compostos fenólicos	45
4.4.3 Métodos Cromatográficos e espectroscópicos	46
4.4.3.1 Cromatografia de exclusão por tamanho de alta performance acoplada à espalhamento de luz (HPSEC-MALLS)	46
4.4.3.2 Cromatografia líquido-gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS)	46
4.4.3.3 Cromatografia Gás-líquido (GLC)	47
4.4.4 Espectroscopia por ressonância magnética nuclear (RMN)	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
6 CONCLUSÕES	76
REFERÊNCIAS	77

1 INTRODUÇÃO

A tamareira (*Phoenix dactylifera* L.) pertence à família Arecaceae, anteriormente chamada de Palmaceae e é constituída de espécies conhecidas genericamente como palmeiras. Seu fruto cumpre um papel significativo no estado nutricional de comunidades de países desérticos, locais onde existe a maior parte do cultivo mundial (ISMAIL et al., 2006; ERSKINE et al., 2011; SIDDIQ e GREIBY, 2013).

A tâmara, fruto dessa espécie, é uma boa fonte energia uma vez que é rica em carboidratos metabolizáveis (AL-FARSI et al., 2005; AL-SHAHIB e MARSHALL, 2003; SIDDIQ e GREIBY, 2013). As tâmaras podem ser consumidas frescas, secas, em forma de pasta, vinagre, xarope, suco concentrado, geléia, manteiga, barra de fruta, molho e pickles (SIDDIQ e GREIBY, 2013).

Esse fruto contém baixo teor de gorduras e alta concentração de açúcares simples, variando conforme o cultivar, o solo, as condições climáticas e o estágio de amadurecimento da fruta (AL-FARSI et al., 2005; AL-SHAHIB e MARSHALL, 2003; SIDDIQ e GREIBY, 2013). A glicose e a frutose são os principais açúcares encontrados (AL-HOOTI et al., 1997; AL-FARSI et al., 2005; SAHARI, BARZEGAR e RADFAR, 2007; AHMED, AHMED e ROBINSON, 1995). Estudos pré-clínicos demonstraram que frações obtidas de tâmaras possuem efeitos antioxidante, antimutagênico, antimicrobiano, anti-inflamatório, gastroprotetor, hepatoprotetor, nefroprotetor, atividades anticâncer e imunoestimulantes (BALIGA et al., 2011).

Estudos também apontam que a tâmara é uma boa fonte de fibras dietéticas, que compõe entre 5,3 e 21,8% do peso seco do fruto. Sendo que 63-94% dessas fibras são insolúveis em água e 6-37% são solúveis (GEORGE et al., 2020; MRABET; 2012; BORCHANI et al, 2010; ELLEUCH et al., 2008; AL-FARSI e LEE, 2008).

A definição mais recente de fibras dietéticas foi proposta pela FAO/WHO (2017): “as fibras dietéticas são polímeros de carboidratos com dez ou mais unidades monoméricas, as quais não são hidrolisadas pelas enzimas endógenas no intestino delgado de humanos”. Esses polímeros estão presentes nos alimentos de maneira natural, podem ser sintéticos ou ainda obtidos de matérias primas alimentares, desde que demonstrem efeitos fisiológicos benéficos à saúde (FAO/WHO, 2017).

Diferentes fibras dietéticas conferem distintos benefícios à saúde, uma vez que estruturas específicas de cada tipo de fibra promovem respostas fisiológicas distintas. Características, como comprimento do polímero (massa molecular), composição (tipos de monossacarídeos), estrutura do polímero (tipos de ligações) e compostos associados determinam viscosidade, capacidade de formação de gel, solubilidade e fermentabilidade dessas fibras pela microbiota intestinal. Estas propriedades modificam a distensão e o esvaziamento gástrico, a absorção de nutrientes, a fermentação colônica, a saciedade, a glicemia e insulinemia pós prandiais, os níveis de colesterol sanguíneo, a resposta inflamatória e o tempo de trânsito intestinal, gerando efeitos positivos na saúde do indivíduo (POTANEN et al., 2018).

Uma vez associadas a prevenção e tratamento de patologias, as fibras dietéticas tem sido foco de interesse de estudos científicos (CAPRITA et al., 2010). Entretanto, até o momento, não existem informações disponíveis sobre quais polímeros de carboidratos constituem as fibras solúveis e insolúveis das tâmaras.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 TÂMARAS

A tamareira (*Phoenix dactylifera* L.) parece ter uma história de cerca de 7.000 anos e é provavelmente uma das mais antigas plantas cultivadas pelo homem. Tem uma origem incerta, porém possivelmente provém da África e da região do Golfo Pérsico. Seu cultivo foi levado para a região mediterrânea pelos fenícios, uma das primeiras civilizações humanas. Em 4.000 A.C. as tamareiras já eram cultivadas na baixa Mesopotâmia. Em 3000 A.C. o desenho do tronco da tamareira simbolizava um ano e o cacho das tâmaras um mês nos templos do Vale do Nilo (ZIHAD et al., 2021; ERSKINE et al., 2011; ASHRAF e HAMIDI-ESFAHANI, 2011).

As tâmaras, frutos da tamareira, foram por muitos anos a principal fonte de riqueza dos povos do deserto, nômades do Oriente Médio, devido à sua alta capacidade de adaptação à altos níveis de salinidade no solo e verões longos e secos, além de serem alimento básico com papel importante no estado nutricional dessas comunidades (ERSKINE et. al, 2011; ISMAIL et al., 2006; SIDDIQ e GREIBY, 2013). A Tunísia, país desértico que está entre os dez maiores produtores mundiais, teve em 2019 uma produção média de 288.700 toneladas de tâmaras (FAOSTAT, 2021). O país produz predominantemente (65% da produção total) as tâmaras do tipo ‘Deglet Nour’, que é considerada uma variedade de grande qualidade sensorial e valor comercial (YAHMED et al., 2021).

Essa espécie também possui importância para as três maiores religiões bíblicas. Suas folhas são usadas no “Domingo de Ramos” dos cristãos. Seus frutos são considerados um dos setes alimentos sagrados do judaísmo. E tanto a tamareira quanto as tâmaras são mencionadas no Livro Sagrado Muçulmano “Al-Qur'an (fAlcorão)”, além de serem usualmente escolhidas

para quebrar o jejum “Ramadã” no mês sagrado para os muçulmanos (ALI et al., 2012; SIDDIQ e GREIBY, 2013).

A tamareira é uma monocotiledônea que pertence à família botânica Arecaceae, uma família que inclui espécies conhecidas genericamente como palmeiras. É uma espécie dióica, ou seja, possui indivíduos masculinos e indivíduos femininos, e podem atingir até 30 metros de altura (ERSKINE et al., 2011; SIDDIQ e GREIBY, 2013).

As tâmaras são frutos constituídos por apenas uma semente, um mesocarpo carnoso (polpa) e um fino epicarpo (parte externa). Cerca de 20 a 60 tâmaras se arranjam em pequenas espigas e algumas dessas são ligadas a um eixo central formando um cacho. Cada tamareira pode ter entre 5 e 30 cachos. Uma tamareira produtiva gera entre 8 a 10 cachos de tâmaras, pesando de 60 a 100 kg (HUSSAIN, FAROOQ e SYED, 2020; ERSKINE et. al, 2011; AHMED, AHMED e ROBINSON, 1995).

Esse fruto sofre modificações ao longo dos seus estágios de crescimento e desenvolvimento. Desde a polinização, leva de 150 a 200 dias para chegar ao estágio em que está totalmente maduro. *Hababouk*, *Kimri*, *Khalal*, *Rutab* e *Tamr* são termos árabes que representam respectivamente, o fruto após a polinização, a tâmara verde imatura, a madura colorida (amarela ou vermelha dependendo da variedade), a marrom macia e o estágio firme, tipo passa (HUSSAIN, FAROOQ e SYED, 2020; AHMED, AHMED e ROBINSON, 1995; AL-SHAHIB e MARSHALL, 2003; ERSKINE et. al, 2011). A **Figura 1** mostra fotos dos diferentes estágios de amadurecimento das tâmaras, conforme os dias após a polinização (DPP).

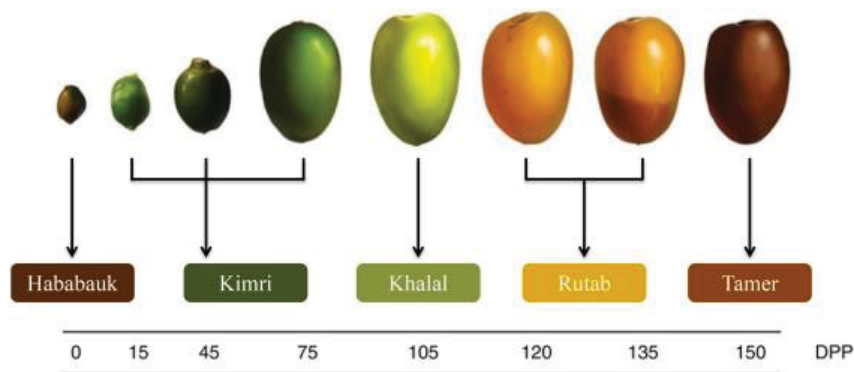


Figura 1. Diferentes estágios de amadurecimento das tâmaras conforme o DPP. Adaptado de AL-ALAWI et.al., 2017.

Esses frutos podem ser consumidos frescos nos estágios *Khalal* e *Rutab* ou ainda no estágio *Tamr*, que tem uma maior validade. Mas também são consumidos localmente em forma de pasta, vinagre, xarope, extrato, suco concentrado, geléia, manteiga, barra de fruta, bolo de fruta, molho e pickles (SIDDIQ e GREIBY, 2013; SAHARI, BARZEGAR e RADFAR, 2007; AHMED, AHMED e ROBINSON, 1995).

O formato, tamanho, peso e teor de umidade dos frutos diferem conforme a variedade e as condições de cultivo. O teor de umidade diminui conforme o amadurecimento do fruto, com aproximadamente 85% de umidade no estágio *Kimri*, 50-60% no estágio *Khalal*, 35-40% no estágio *Rutab* e aproximadamente 20% no estágio *Tamr* (BIGLARI, ALKARKHI e EASA, 2008; ASSIS, MELO e QUEIROZ, 1999).

Baseado em seu teor de umidade e de açúcares solúveis, no estágio *Tamr* as tâmaras também são classificadas no estágio *Tamr*, em tâmaras moles, tâmaras semi-secas e tâmaras secas, conforme sua textura. As tâmaras moles, apresentam teor de umidade geralmente superior a 30%; as tâmaras semi-secas entre 20 e 30% e as tâmaras secas menos de 20% (BIGLARI, ALKARKHI e EASA, 2008; ASSIS, MELO e QUEIROZ, 1999).

Em termos de composição nutricional, as tâmaras têm baixos níveis de lipídios e proteínas, sendo constituídas principalmente por carboidratos. Em se tratando desses

carboidratos, o fruto tem alta concentração de açúcares simples, o que o torna boa fonte de energia rápida, e cujos níveis também variam conforme o cultivar, o solo, as condições climáticas, práticas de cultivo e o estágio de amadurecimento da fruta (HUSSAIN, FAROOQ e SYED, 2020; SIDDIQ e GREIBY, 2013; AL-FARSI et al., 2005).

A glucose e a frutose são os principais açúcares redutores encontrados, principalmente nos estágios *Rutab* e *Tamr*, devido ao aumento da atividade da enzima invertase ao longo do amadurecimento do fruto, que hidrolisa a sacarose (AL-HOOTI et al., 1997; AL-FARSI et al., 2005; SAHARI, BARZEGAR e RADFAR, 2007; AHMED, AHMED e ROBINSON, 1995).

Os compostos fenólicos, como flavonóides e ácidos fenólicos, carotenóides, fitoesteróis e fitoestrógenos, também fazem parte da composição das tâmaras, principalmente no estágio *Kimri*, porém seu teor é reduzido progressivamente conforme o amadurecimento do fruto (ALAM et. al, 2021; BIGLARI, ALKARKHI e EASA, 2008; AL-ALAWI et al., 2017).

Tanto os frutos, quanto as sementes, pólen, folhas e outros derivados da *Phoenix dactylifera* são empregados no tratamento de doenças e promoção de saúde, em sistemas de saúde tradicionais e de maneira popular. As pesquisas disponíveis sugerem que essa espécie tem efeitos antioxidante, antiangiogênico, anti-inflamatório, antimicrobiano, anti-hiperglicêmico, anti-hiperlipidêmico, hepatoprotetor, nefroprotetor, neuroprotetor, anticâncer e de melhora da fertilidade (ECHEGARAY et.al.; 2020, EL-FAR et al.; 2018, TALEB et. al.; 2016).

As tâmaras também são uma boa fonte de fibras dietéticas, compondo entre 3,6 a 20,2% do peso seco do fruto. Sendo que 63-94% dessas fibras são insolúveis em água e 6-37% são solúveis. O principal componente das fibras insolúveis parece ser a lignina, um polímero complexo, não-carboidrato, presente principalmente no epicarpo do fruto (GEORGE et al., 2020; BORCHANI et al, 2010; ELLEUCH et al., 2008; AL-FARSI e LEE, 2008; MRABET; 2012; SHAFIEI et al., 2010).

2.2 FIBRAS DIETÉTICAS

Fibra dietética (FD) é um conceito proveniente da ciência da nutrição (POUTANEN et al., 2018). A sua primeira definição foi introduzida na literatura científica em 1953 (HIPSLEY, 1953). No entanto, até a década de 1970 existiam poucas informações sobre o assunto e as fibras eram definidas apenas como carboidratos que resistiam à digestão e melhoravam o trânsito intestinal (JONES, 2014). Até hoje muitas definições são encontradas em organizações oficiais nacionais e internacionais. De maneira geral, todas definem fibras dietéticas como polímeros de carboidratos que não são digeridos e absorvidos na parte superior do trato gastrointestinal humano. Porém diferem na inclusão ou não de compostos sintéticos ou isolados (que não fazem parte naturalmente do alimento) e na exigência de efeitos fisiológicos na saúde documentados (e do tipo de efeito fisiológico) (CAPUANO, 2017).

A definição mais recente de fibras dietéticas foi proposta pela FAO/WHO (2017):

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

- Polímeros de carboidratos comestíveis que estão presentes naturalmente em alimentos;
- Polímeros de carboidratos obtidos a partir de matérias-primas alimentares, por meios físicos, enzimáticos ou químicos e que tenham demonstrado um efeito fisiológico de benefício à saúde, conforme demonstrado por evidências científicas aceitas pelas autoridades competentes;
- Polímeros sintéticos de carboidratos, os quais apresentam efeito fisiológico de benefício à saúde, comprovado por evidências científicas aceitas pelas autoridades competentes (FAO/WHO, 2017).

Apesar da lignina não ser um carboidrato, este grupo heterogêneo de polímeros fenólicos está inserido na maioria das definições de fibras dietéticas (CAPUANO, 2017). Segundo a própria FAO/WHO (2017), as fibras alimentares provenientes de vegetais podem

incluir frações de lignina e/ou outros compostos associados à polissacarídeos nas paredes das células vegetais. Esses compostos só não estão incluídos na definição de fibra alimentar quando extraídos e reintroduzidos em um alimento. Esta organização também considera que a inclusão de carboidratos de 3 a 9 unidades monoméricas na definição de fibras alimentares é facultada às autoridades de cada país (FAO/WHO, 2017).

A palavra “carboidrato” é um termo genérico que inclui monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos, bem como algumas substâncias derivadas de monossacarídeos. Os polímeros de carboidratos que constituem as fibras dietéticas são formados por várias unidades de monossacarídeos unidas umas às outras por ligações glicosídicas, sendo denominados polissacarídeos (MCNAUGHT, 1996).

As longas cadeias de monossacarídeos que compõem os polissacarídeos podem ser ligadas em várias posições e algumas contêm ainda cadeias laterais de vários comprimentos, o que aumenta muito o número de estruturas possíveis (BUCHANAN, GRUISSEML, JONES, 2015).

Além disso, as fibras dietéticas podem ser classificadas conforme suas propriedades físico-químicas como: solúveis em água e essencialmente fermentáveis (pectinas, inulina, mucilagens, glucomananas e β -glucanas) ou insolúveis em água, menos fermentáveis e não viscosas (celulose, hemiceluloses, lignina e alguns tipos de amido resistente). Elas também podem ser classificadas com base em sua composição química, sendo divididas em: polissacarídeos não amiláceos, poli e oligossacarídeos resistentes, amido resistente, lignina e outras substâncias vegetais (VERSPREET et al, 2016; WEICKERT e PFEIFFER, 2018).

As fibras dietéticas são o principal componente da parede celular das plantas. A parede celular vegetal é uma estrutura que delimita o formato, confere proteção e rigidez à célula e modula sua comunicação com o meio ambiente, o que é essencial para a sua sobrevivência. A parede celular das plantas é composta por duas camadas distintas: uma parede celular primária

que se forma durante o crescimento e uma parede celular secundária que se forma após as plantas terem completado seu crescimento (CAPUANO, 2017; BUCHANAN, GRUISSEML, JONES, 2015; OCHOA-VILLARREAL et al., 2012).

Os polissacarídeos que compõem as paredes celulares primárias de vegetais são a celulose, as hemiceluloses e as pectinas e podem ser observados na **Figura 2**. A celulose forma uma matriz cristalina de microfibrilas e essa matriz é imersa em uma massa amorfa de pectinas, que formam uma fase em gel. As hemiceluloses estão ligadas na superfície da celulose e impedem o contato direto entre as microfibrilas. Algumas proteínas e compostos fenólicos também estabilizam a parede celular de vegetais (DEY e HARBORNE, 1997; OCHOA-VILLARREAL et al., 2012).

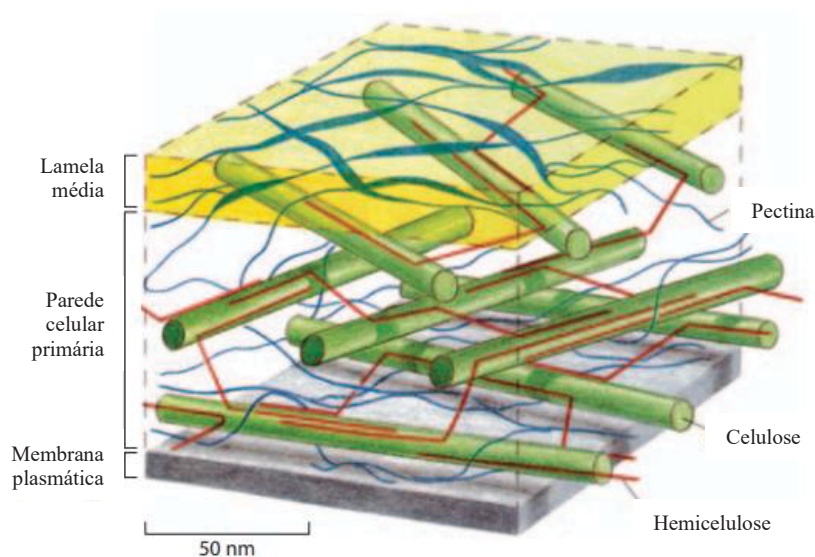


Figura 2. Organização dos componentes da estrutura da parede celular primária de vegetais.

Adaptado de SCHELLER e ULVSKOV, 2010.

Em dicotiledôneas e em monocotiledôneas não gramíneas, como as tâmaras (*Phoenix dactylifera*), objeto de estudo deste trabalho, a parede celular primária é rica em pectinas e hemiceluloses. Essas paredes celulares primárias são denominadas como paredes celulares do tipo 1. Diferente das paredes celulares primárias das monocotiledôneas do grupo das gramíneas

(Família Poaceae) que são denominadas paredes celulares primárias do tipo 2 e que contêm pequenas porções de pectinas e mais hemiceluloses. (DEY e HARBORNE, 1997).

2.2.1 Pectinas

As pectinas ou polissacarídeos pécticos são polímeros abundantes nas paredes celulares primárias e lamelas médias das plantas. São formadas principalmente por unidades monossacarídicas de D-ácido galacturônico (GERSCHENSON, 2016; CAFFALL e MOHNEN, 2009; OCHOA-VILLARREAL et al., 2012). Este monossacarídeo é um açúcar ácido, composto por seis átomos de carbono e cuja estrutura corresponde à estrutura do monossacarídeo galactose oxidado em C-6 (GERSCHENSON, 2016).

As pectinas se distinguem por diferentes domínios denominados de homogalacturonanas (HG), ramnogalacturonanas do tipo I (RG-I), ramnogalacturonanas do tipo II (RG-II), xilogalacturonanas (XGA) e apiogalacturonanas (AGA) (GAWKOWSKA; CYBULSKA; ZDUNEK, 2018; CAFFALL e MOHNEN, 2009).

As HG são as pectinas mais abundantes nas plantas. São formadas por longas cadeias lineares de D-GalA (ácido galacturônico) que estão α -(1 $\rightarrow$ 4) ligadas e constituem cerca de 60% dos polissacarídeos pécticos encontrados nas paredes celulares vegetais. Alguns dos grupamentos carboxílicos das HG podem ser metilesterificados em C-6 e acetil-esterificados nas posições O-2 e/ou O-3, dependendo da espécie de planta, do tecido vegetal e estado de maturação (CUI, 2005, CAFFALL e MOHNEN, 2009; OCHOA-VILLARREAL et al., 2012; GERSCHENSON, 2016).

As XGA consistem na substituição do C-2 ou C-3 do polímero de D-GalA por unidades de xilose. Já as AGA são resultantes da substituição por unidades de apiose em C-2 ou C-3 de unidades de D-GalA (JIN et al., 2021; CUI, 2005; GERSCHENSON, 2016).

As RG-I são caracterizadas por uma cadeia principal formada pelo dissacarídeo α -(1 $\rightarrow$ 4)-D-GalA- α -(1 $\rightarrow$ 2)-L-Rha com substituições parciais nas posições O-4 e /ou O-3 das unidades de α -L-Rha. Essas substituições variam em composição e comprimento, mas se constituem principalmente por unidades de L-ramnose ou ainda por cadeias poliméricas como as arabinanas, galactanas ou arabinogalactanas dos tipos 1 e 2. Também podem estar presentes em sua constituição a α -L-fucose, o β -D-ácido glucurônico, 4-O-metil- β -D-ácido glucurônico e os ácidos ferúlico e cumárico (OCHOA-VILLARREAL et al., 2012, CUI, 2005; JIN et al., 2021).

Já as RG-II são pectinas de baixo peso molecular que são encontradas em menor proporção nos vegetais. Sua composição é reconhecida como um trecho de estrutura da HG, tendo cerca de sete a nove unidades de D-GalA de comprimento, com seis cadeias laterais bem definidas, designadas de A a F, que substituem os grupamentos hidroxila nas posições O-2 e O-3. Essas cadeias laterais são bastante complexas, porém possuem uma estrutura que parece ser altamente conservada entre várias espécies de plantas. Essas cadeias laterais contêm ramnose e monossacarídeos raros como a 2-O-metil-xilose, a 2-O-metil-fucose, o ácido acérico, o KDO (ácido 3-desoxi-D-manno-octulósico) e o DHA (ácido 3-desoxi-D-lyxo-heptulosárico) (JIN et al., 2021; CAFFALL e MOHNEN, 2009; OCHOA-VILLARREAL et al., 2012; CUI, 2005).

É possível observar as estruturas dos principais domínios estruturais das pectinas na **Figura 3**.

As pectinas também podem ser classificadas com base no grau de esterificação dos grupamentos carboxílicos. As que contêm menos de 50% de ésteres metílicos são pectinas LM (com baixo teor de grupamentos metil) e as que contêm mais de 50% de ésteres metílicos são pectinas HM (com alto teor de grupamentos metil). O grau de esterificação interfere na conformação e nas propriedades de solução destes polissacarídeos (CHENGXIAO et al., 2021; CUI, 2005).

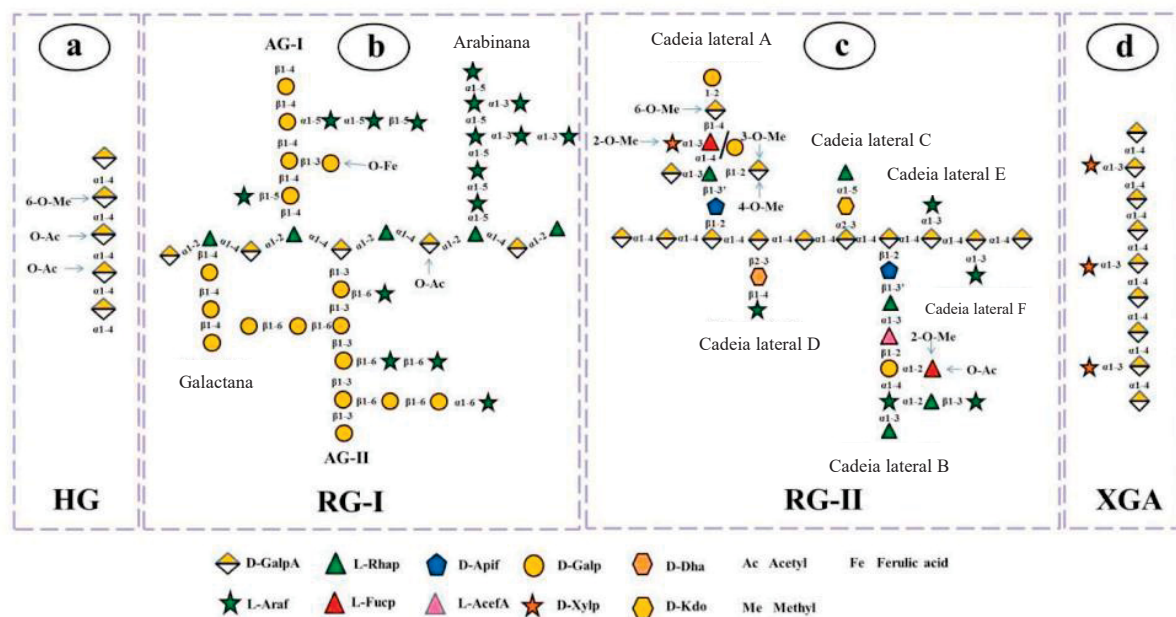


Figura 3. Estruturas dos polissacarídeos pectícos e seus quatro domínios principais. a) homogalacturonanas (HG), b) rhamnogalacturonanas do tipo I (RG-I), c) rhamnogalacturonanas do tipo II (RG-II), d) xilogalacturonanas (XGA). Adaptado de JIN et al., 2021.

Os polissacarídeos pectícos formam géis através das ligações de hidrogênio entre os grupamentos carboxila livres da pectina e os grupamentos hidroxila do composto adjacente. A pectinas HM formam géis em condições ácidas e na presença de açúcares, enquanto que as LM formam géis em presença de íons divalentes como o cálcio, que se ligam aos grupamentos carboxila livres. A capacidade de formar soluções viscosas e de gelificação das pectinas é uma característica bastante interessante para a indústria de alimentos e para algumas das propriedades fisiológicas benéficas das pectinas, como a capacidade de redução da absorção de glicose e lipídeos no trato gastrointestinal (KUMAR et al., 2021; GERSCHENSON, 2016).

2.2.2 Hemiceluloses

Depois da celulose, os polissacarídeos mais abundantes na natureza são as hemiceluloses, que são extraídas da parede celular apenas com soluções aquosas alcalinas, independentemente da sua estrutura. Possuem baixo peso molecular e também são chamadas de glicanas de reticulação, estando ligadas à celulose e a lignina na parede celular vegetal (BUCHANAN, GRUISSEML, JONES, 2015; OCHOA-VILLARREAL et al., 2012; SPIRIDON e POPA, 2008; EBRINGEROVÁ; HROMÁDKOVÁ e HEINZE, 2005).

Os três principais grupos de hemiceluloses são as xilanas, as mananas e as xiloglucanas, as quais apresentam cadeia principal formadas por unidades de D-Xilose, D-Manose e D-Glucose, respectivamente, unidas por ligações β -(1 $\rightarrow$ 4). As xiloglucanas se distinguem da estrutura da celulose pela presença de unidades de D-Xilose ligadas à cadeia principal (CUI, 2005). Em plantas terrestres, as xilanas possuem ramificações constituídas por cadeias curtas de ácido glucurônico ou seu éter 4-O-metílico, L-arabinose e/ou oligossacarídeos compostos por D-Xilose, L-Arabinose, D- ou L-Galactose e D-Glucose (EBRINGEROVÁ; HROMÁDKOVÁ e HEINZE, 2005). As gramíneas, outro grupo de monocotiledôneas comelinídeas, tendem a ter substituições de arabinofuranose nas posições O-2 e/ou O-3 das unidades de xilose da cadeia principal, constituindo as arabinoxilanas (SCHELLER e ULVSKOV, 2010).

Na **Figura 4** é possível observar a estrutura de polissacarídeos hemicelulósicos de plantas e suas ligações glicosídicas.

2.2.3 Celulose

Descoberta pela primeira vez por Anselme Payene, a celulose é um dos polímeros mais abundantes do planeta, compreendendo cerca de um terço da massa total da parede celular vegetal. É um polissacarídeo de estrutura simples, constituído por uma sequência longa e linear de unidades de D-glucose unidas por ligações glicosídicas do tipo β -(1 $\rightarrow$ 4) (HE et al., 2021; LIU et al., 2021; DEY e HARBORNE, 1997; OCHOA-VILLARREAL et al., 2012).

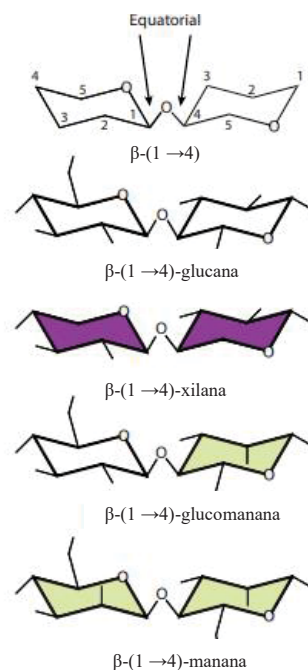


Figura 4. Polissacarídeos hemicelulósicos de plantas e sua ligação β -(1 $\rightarrow$ 4) em configuração equatorial em C-1 e C-4. Adaptado de SCHELLER e ULVSKOV (2010).

Na parede celular vegetal, as cadeias de celulose se agregam, formando as microfibrilas de celulose, o que dá suporte à planta. Estas estruturas são altamente cristalinas e insolúveis, quimicamente estáveis e resistentes à ação de enzimas (OCHOA-VILLARREAL et al., 2012).

2.3 POLISSACARÍDEOS DE FRUTOS DE PALMEIRAS

Tendo em vista as monocotiledôneas comelinídeas em geral, os polissacarídeos das paredes celulares da família Poaceae, que inclui os cereais e as gramíneas, são os mais estudados devido à sua importância econômica. Os principais polissacarídeos não celulósicos encontrados em suas espécies são as glucuronoarabinoxilanas, além de quantidades variáveis de (1→3) (1→4)-β-D-glucanas (HARRIS et al., 1997; HARRIS, 2005).

Por outro lado, o número de estudos sobre a composição da parede celular de plantas pertencentes às outras famílias de monocotiledôneas comelinídeas é limitado. Em se tratando da família Arecaceae, suas espécies parecem ter uma composição mais semelhante às dicotiledôneas e às monocotiledôneas não comelinídeas. De maneira geral, consta que são constituídas por grandes proporções de pectinas, pequenas proporções de glucuronoarabinoxilanas e xiloglucanas, e ausência de (1→3) (1→4)-β-D-glucanas (HARRIS et al., 1997; HARRIS, 2005). Porém estudos do nosso grupo de pesquisa sobre polissacarídeos de frutos de espécies da família Arecaceae mostram uma heterogeneidade maior.

Cantu-Jungles e colaboradores (2017a) estudaram a pupunha (*Bactris gasipaes*), fruto de uma palmeira da família Arecaceae, e obtiveram uma homogalacturonana linear altamente metil esterificada com pequenas porções de xilogalacturonana, além de uma rhamnogalacturonana do tipo I. Já em estudos com a polpa do buriti (*Mauritia flexuosa*), foram encontrados polissacarídeos pécnicos e hemicelulósicos quase que em quantidades iguais. Os polissacarídeos obtidos desse fruto por Cantu-Jungles e colaboradores (2015) foram homogalacturonanas HM, além de (1→5)-α-L-arabinanas ramificadas nas posições O-2 e O-3 ligadas à rhamnogalacturonana do tipo I. Ainda, Cordeiro, de Almeida e Iacomini (2015) isolaram desse mesmo fruto polissacarídeos hemicelulósicos lineares incomuns em palmeiras:

uma (1→3)(1→4)- α -D-glucana linear, uma (1→5)- α -L-arabinana linear e uma (1→4)- β -D-xilana linear.

Em se tratando do açaí (*Euterpe oleraceae*), foram encontrados maiores rendimentos de xilanas, que são hemiceluloses, do que de polissacarídeos pécnicos. Segundo os autores, este fato poderia ser atribuído a uma possível diminuição da proporção de polissacarídeos pécnicos durante o amadurecimento do fruto (CANTU-JUNGLES et al, 2017b). Os polissacarídeos do açaí isolados até o momento foram uma homogalacturonana HM, uma arabinogalactana do tipo II com porções elevadas de cadeias contendo unidades de Galp ligadas nas posições O-6 e O-3,6, pequenas quantidades de glucomananas e uma (1→4)- β -D-xilana majoritariamente linear (CANTU-JUNGLES et al, 2017b; CANTU-JUNGLES et al, 2017c).

O mesmo ocorreu no estudo com a polpa do tucumã *Astrocaryum aculeatum* (Cantu-Jungles et al, 2017d), onde os autores obtiveram maior rendimento de polissacarídeos hemicelulósicos do que de pectinas. Entre as hemiceluloses, a galactoarabinoxilana ácida foi obtida em maior proporção, seguida por arabinanas, glucuronoxilanas e pequenas porções de xiloglucanas.

Vale também ressaltar outros polissacarídeos isolados dos frutos de outras espécies da família Arecaceae. Silva e Parente (2001) obtiveram do mesocarpo dos frutos de *Orbignya phalerata* uma α -D-glucana (1→4)-ligada, com pontos de ramificação formados por unidades de D-glucose nas posições O-3 e O-6.

Além disso, do mesocarpo da macaúba (*Acrocomia aculeata*) foi isolada uma galactoglucomanana constituída por uma cadeia principal formada por unidades de (1→4)- β -D-Manp associadas a uma cadeia inicial de unidades de (1→3)- β -D-Galp e uma cadeia terminal de unidades de (1→4)- α -D-Glcp ligados (SILVA; SILVA e PARENTE, 2009). Dois polissacarídeos de estruturas similares foram isolados do mesocarpo dos frutos de *Arecastrum*

romanzoffianum e também do mesocarpo dos frutos do catolé (*Syagrus oleracea*) por esses mesmos autores (SILVA e PARENTE, 2010a; SILVA e PARENTE, 2010b).

Os estudos mostrados acima sugerem que as paredes celulares das espécies que pertencem a família Arecaceae podem possuir composições variadas, diferentes daquelas previstas por Harris e colaboradores (1997) e Harris (2005).

Em relação aos estudos prévios sobre polissacarídeos de tâmaras, Ishurd e colaboradores (2002, 2007) e Ishurd e Kennedy (2007) foram os primeiros pesquisadores a sugerir a presença de β -glucanas lineares com ligações (1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 4) e (1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 6) na polpa das tâmaras.

Mais recentemente, George e colaboradores (2020) analisaram o conteúdo de fibra dietética total em dez variedades de tâmaras coletadas nos Emirados Árabes Unidos (EAU). Estes autores utilizaram o método Uppsala que consiste na remoção de açúcares simples e amido utilizando amilase termoestável e precipitação com etanol, seguido de hidrólise com ácido sulfúrico para determinação dos açúcares neutros por Cromatografia Gás-Líquido (GLC) e determinação de lignina pelo método Klason. O teor total de fibra dietética encontrado nas dez variedades de tâmaras foi de 5,3 a 8,4%, sendo que a lignina variou entre 25 a 40% do total de fibras dietéticas. A partir da composição monossacarídica obtida dessas fibras, estes autores presumiram a presença de celulose, β -D-glucana, arabinoxilana, galactomanana, pectinas e lignina nos frutos da tamareira (GEORGE et.al, 2020).

Não existem estudos científicos que determinem com precisão a estrutura química fina dos polissacarídeos presentes na polpa das tâmaras até o momento. Levando em consideração que as características da estrutura química como a anomericidade, arranjo espacial e tipo de ligações glicosídicas estão relacionadas a atividade biológica dos polissacarídeos e que as fibras dietéticas de plantas demonstram ter propriedades terapêuticas positivas para a saúde, esta elucidação se faz relevante. Além disso, informações sobre os polissacarídeos presentes nas

paredes celulares de frutos de monocotiledôneas comelinídeas da família Arecaceae podem agregar informações importantes para os estudos taxonômicos desta família.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Extrair, purificar e caracterizar estruturalmente as fibras dietéticas da polpa da tâmara da Tunísia (*Phoenix dactylifera L.*).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter as fibras dietéticas solúveis e insolúveis da polpa da tâmara pelo método enzimático-gravimétrico;
- Purificar as frações polissacarídicas presentes nas frações que constituem as fibras dietéticas solúveis e insolúveis;
- Realizar a caracterização da estrutura química fina dos polissacarídeos obtidos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL

As tâmaras da Tunísia (*Phoenix dactylifera L.*) foram adquiridas no estágio *Tamr*, conforme são comercializadas para o consumo humano, em Outubro de 2019, no Mercado Municipal da cidade de Curitiba, no estado do Paraná. As suas sementes foram retiradas manualmente e a polpa foi acondicionada em geladeira até o início da extração de polissacarídeos. Foram utilizados 711 g de tâmaras sem sementes para a extração e outras 81 g foram congeladas e liofilizadas para o cálculo da umidade da amostra. O teor de água foi calculado com base na diferença entre o peso úmido inicial e peso seco após liofilização.

4.2 EXTRAÇÃO DAS FIBRAS DIETÉTICAS

4.2.1 Método enzimático-gravimétrico

O primeiro tratamento realizado foi o método enzimático-gravimétrico oficial da AOAC (Método 991.43) para obtenção de fibras alimentares solúveis e insolúveis (LEE, S.C.; PROSKY, L.; VRIES, 1992). Inicialmente, cerca de 100 g da polpa das tâmaras (TA) foram trituradas com água em um liquidificador doméstico. De acordo com este método, amostras com teor de lipídios menor que 10% não precisam passar por deslipidificação. Segundo Hussain, Farooq e Syed (2020) as tâmaras apresentam 0,12–0,72% de lipídeos totais. Assim sendo, a amostra suspensa em água foi então diretamente submetida à digestão enzimática sequencial para remoção de amido e proteínas.

A TA suspensa em água foi inicialmente aquecida à 90 °C, adicionada de 200 µL de α -amilase e com manutenção da temperatura por 2 h. Em seguida o tratamento foi resfriado e

estabilizado em 60 °C. Logo após foi adicionado 100 µL de amiloglucosidase e essas condições foram mantidas por 1,5 h. Após esse período foi realizado o teste do Lugol para confirmar a ausência de amido. Esse teste consiste em se adicionar uma gota da amostra em uma placa de Petri e posteriormente adicionar uma gota da solução de Lugol, observando a presença ou ausência da coloração azul.

Após confirmação da ausência de amido (ausência da coloração azul no Teste do Lugol), manteve-se ainda a temperatura à 60 °C, sendo adicionado posteriormente 200 µL de protease. Este sistema foi conservado por mais 2 h. Em seguida, a suspensão tratada enzimaticamente foi centrifugada à 8.000 rpm por 20 minutos e o sobrenadante (contendo fibra dietética solúvel) foi separado do precipitado (contendo fibra dietética insolúvel). Para remoção dos açúcares de baixa massa, como monossacarídeos, di- e oligossacarídeos, tanto o sobrenadante quanto o precipitado foram submetidos à diálise contra água da torneira à temperatura ambiente por 24 h, em membranas semipermeáveis de exclusão por tamanho de 12 a 14 kDa (Spectra Por®).

As 711 g de TA foram fracionadas em sete partes e tratadas separadamente, logo o processo descrito acima foi realizada sete vezes. As frações contendo as fibras solúveis (TAS) resultantes destes sete processos foram reunidas, concentradas em rotaevaporador e liofilizadas. O mesmo se deu para as frações contendo as fibras insolúveis (TAI), que posteriormente foram submetidas a extração alcalina.

Os rendimentos foram determinados e expressos como uma porcentagem com base no peso seco inicial da TA. A **Figura 5** apresenta esquematicamente o processo de extração descrito e as frações obtidas.

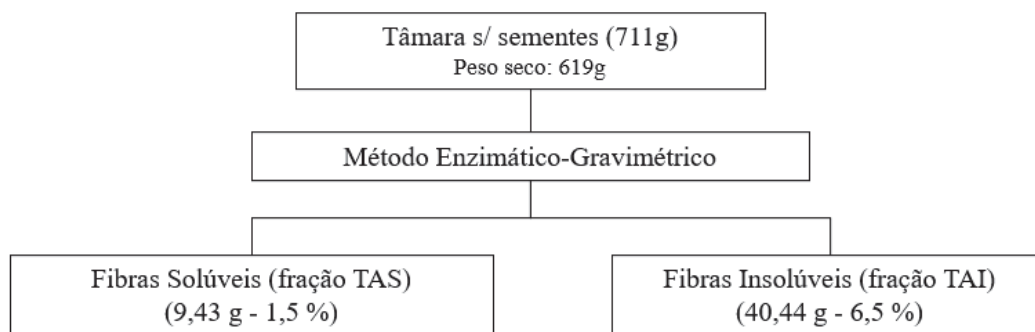


Figura 5. Fluxograma de extração dos polissacarídeos presentes na polpa das tâmaras pelo método enzimático-gravimétrico.

4.2.2 Solubilização das hemiceluloses presentes na fração TAI

A fração TAI contém as fibras dietéticas insolúveis, que podem apresentar a presença de pectinas (que não foram solubilizadas pelo método enzimático-gravimétrico descrito acima), hemiceluloses e celulose. Visando a solubilização dessas pectinas residuais e de hemiceluloses, a fração TAI passou por extração alcalina sequencial. Primeiro em solução de NaOH 1% sob refluxo, em banho-maria aquecido à 100 °C, por 2 h. Seguido por centrifugação à 8000 rpm por 10 minutos, gerando o extrato alcalino (sobrenadante) e o resíduo da extração (precipitado).

O extrato alcalino (TAIK1M) foi neutralizado com ácido acético glacial, ocorrendo a formação de precipitado, o qual foi separado por centrifugação à 8000 rpm por 10 minutos. Esse procedimento gerou duas novas frações, a TAIKS1M (sobrenadante) e TAIKP1M (precipitado) as quais foram concentradas em rotaevaporador, dialisadas por 48 h e liofilizadas.

O resíduo proveniente da extração com solução de NaOH 1% passou por nova extração alcalina, em solução de NaOH 10% sob refluxo, em banho-maria aquecido à 100 °C, por 2 h. Em seguida, foi submetido à centrifugação à 8000 rpm por 10 minutos, gerando o extrato alcalino (sobrenadante) e o resíduo da extração (precipitado). O extrato alcalino (TAIK10M) também foi neutralizado com ácido acético glacial, ocorrendo a formação de precipitado, o qual

foi separado por centrifugação à 8000 rpm por 10 minutos. Esse procedimento gerou as frações TAIKS10M (sobrenadante) e TAIKP10M (precipitado). Essas frações também foram concentradas, dialisadas e liofilizadas.

As 40,44g de TAI foram fracionadas em três partes e tratadas separadamente, logo o processo descrito acima foi realizada três vezes. Os rendimentos dessas frações também foram determinados e expressos como uma porcentagem com base no peso seco inicial das tâmaras. A **Figura 6** apresenta esquematicamente o processo de extração alcalina sequencial descrito e as frações obtidas.

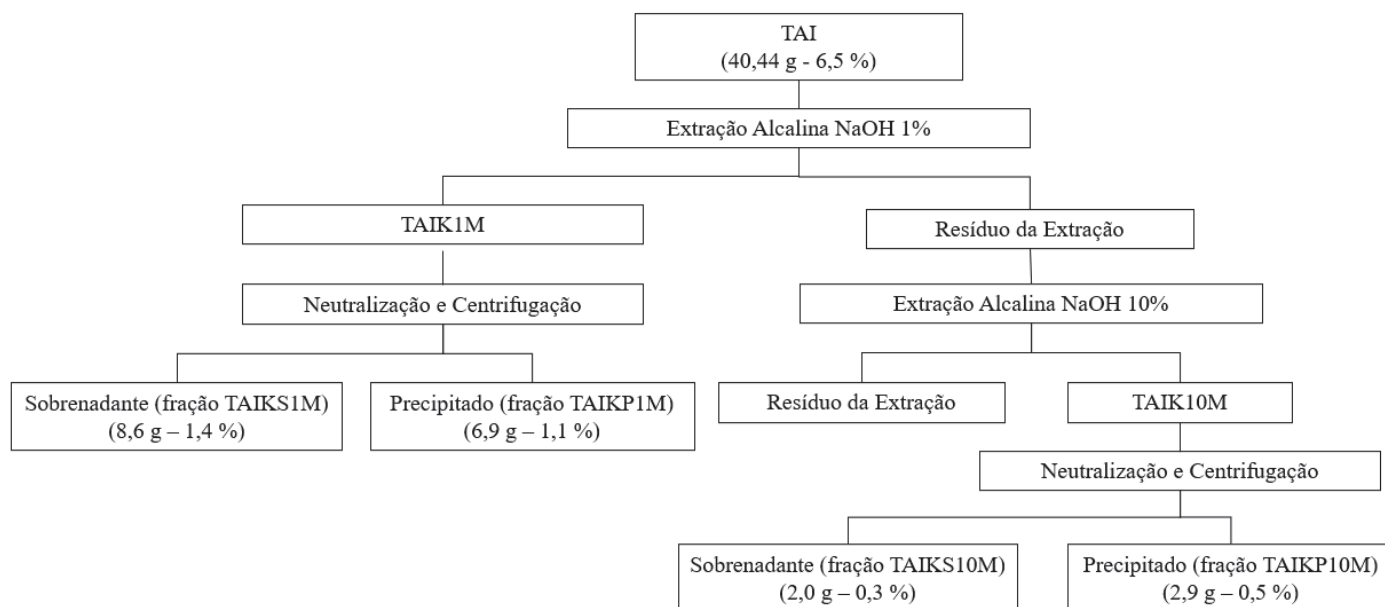


Figura 6. Fluxograma de extração de polissacarídeos de tâmaras obtidos por extração alcalina sequencial da fração TAI.

4.3 PURIFICAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS

As frações brutas obtidas a partir do método enzimático-gravimétrico e da extração alcalina sequencial foram submetidas aos processos de purificação descritos a seguir. A

purificação dessas frações foi acompanhada por análises de composição monossacarídica (por GLC e GC-MS), espectroscopia por ressonância magnética nuclear (RMN) e determinação de homogeneidade (por HPSEC-MALLS).

4.3.1 Precipitação por Solução de Fehling

As frações TAS, TAIKS1M e TAIKS10M foram submetidas à purificação pela precipitação com solução de Fehling, conforme método proposto por Jones e Stoodley (1965). Esse método consiste em um fracionamento através da formação de complexos polissacarídicos insolúveis com cobre.

A fração TAS (2 g) foi dissolvida em 600 mL de água destilada para dar início ao tratamento, porém mesmo em agitação com aquecimento por 16 h, uma parte do material não ficou solúvel. Decidiu-se por centrifugar esse material e utilizou-se apenas o sobrenadante para o tratamento. O precipitado foi congelado e liofilizado tendo rendido 1,08 g, por consequência o sobrenadante correspondeu a 0,92 g. Foi então realizado o tratamento nesse material solúvel com 600 mL de reagente de Fehling. Este reagente consiste em duas soluções (A e B) na proporção 1:1. A solução A é composta por sulfato de cobre e a solução B é composta de KOH e tartarato de sódio e potássio.

Após vigorosa agitação manual, o sistema foi mantido sob refrigeração por 2 h e depois passou por centrifugação (8000 rpm, 20 min) gerando as frações solúvel (TAS-SF) e insolúvel complexada com íons cobre (TAS-PF). As frações obtidas foram neutralizadas com ácido acético glacial e dialisadas contra água corrente, por 48 h em membranas com limites de exclusão de 12-14 kDa. Durante a diálise da fração TAS-SF, houve formação de precipitado no interior da membrana. Desta maneira, esse material foi novamente centrifugado, gerando duas novas frações: o sobrenadante (TAS-SFS) e o precipitado (TAS-SFP). Os materiais dialisados foram submetidos ao tratamento com resina catiônica do tipo SST60 protônica

(Permutation[®]) para remoção do cobre residual. Depois foram filtrados, neutralizados e dialisados por mais 24 h. Os materiais foram subsequentemente concentrados sob pressão reduzida e liofilizados. A fração TAS-SFS teve um rendimento de 10,8% em relação à fração de TAS (0,92 g) utilizado neste tratamento e a fração TAS-SFP teve um rendimento 21,5%.

A fração TAIKS1M (0,7 g) foi dissolvida em 300 mL de água destilada e tratada com 300 mL de reagente de Fehling. O sistema também foi agitado vigorosamente, mantido sob refrigeração por 2 h e centrifugado (8000 rpm, 20 min) gerando as frações solúvel (TAIKS1M-SF) e insolúvel (TAIKS1M-PF) que foram neutralizadas, dialisados e submetidos ao tratamento com resina catiônica. Depois foram filtrados, neutralizados e dialisados por mais 24 h. Os materiais foram também concentrados e liofilizados. As frações TAIKS1M-SF e TAIKS1M-PF tiveram rendimento de 21,9% e 5,7% em relação aos 0,7 g de TAIKS1M, respectivamente.

Já a fração TAIKS10M (1 g) foi dissolvida em 500 mL de água destilada no início do tratamento, porém mesmo em agitação com aquecimento por 16 h, uma parte do material não ficou solúvel. Decidiu-se por centrifugar esse material e utilizou-se apenas o sobrenadante para o tratamento. O precipitado foi congelado e liofilizado tendo rendido 0,26 g, por consequência o sobrenadante (utilizado no tratamento) correspondeu a 0,74 g e foi tratado com 500 mL de reagente de Fehling. O tratamento desse material foi realizado utilizando o mesmo procedimento descrito para a fração TAIKS1M e gerou a fração solúvel denominada TAIKS10M-SF (rendimento de 64,9% em relação aos 0,74 g usados no tratamento) a insolúvel denominada TAIKS10M-PF (1,4%).

4.3.2 Despigmentação

A fração TAIKP1M passou por tratamento de clareamento para redução de pigmentos, lignina e alguns compostos fenólicos ligados aos polímeros de carboidratos (DEY e

HARBORNE, 1997). Foram solubilizados 1 g de TAIKP1M em 100 mL de NaOH 0,5% e 1 mL de hipoclorito de sódio (2-2,5% de p/p de cloro ativo) (MONOBE et al., 2008). A suspensão ficou sob agitação em agitador magnético, em temperatura ambiente por 16 h. Após esse período foi neutralizada com ácido acético glacial, dialisada em membranas semipermeáveis (12-14kDa) contra a água corrente por 24 h e liofilizada. Esse tratamento gerou a fração TAIKP1M-Cl.

4.4 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE POLISSACARÍDEOS

4.4.1 Métodos químicos

4.4.1.1 Composição monossacarídica

As composições monossacarídicas foram determinadas após a hidrólise ácida total de 3 mg das frações com 1 mL de ácido trifluoracético (TFA) 2 M, à 100 °C em estufa por 8 h ou com 1 mL de TFA 1M, à 100 °C em estufa por 16 h. As amostras foram retiradas da estufa e destampadas para evaporação total do TFA. Os resíduos secos foram dissolvidos em 1 mL de água destilada e depois adicionados de 2 mg de NaBH₄ (WOLFROM e THOMPSON, 1963b). O pH alcalino foi confirmado e as amostras foram colocadas na estufa à 100 °C por 10 minutos para a redução dos monossacarídeos em seus respectivos alditóis. A seguir as amostras foram neutralizadas com ácido acético glacial e liofilizadas para a retirada da água.

Os alditóis obtidos foram acetilados com piridina e anidrido acético (1:1 v/v; 1 mL), na estufa à 100 °C por 30 minutos (WOLFROM e THOMPSON, 1963a). Posteriormente as reações foram interrompidas com 1 mL de água destilada e os acetatos de alditóis foram extraídos com clorofórmio e lavados diversas vezes com solução aquosa de CuSO₄ a 5% para

a eliminação da piridina residual. Estas lavagens foram seguidas de lavagens com água destilada para eliminação do sulfato de cobre. Com uma pipeta Pasteur de vidro a fase clorofórmica da amostra foi transferida para um frasco limpo e evaporada em capela à temperatura ambiente. Os acetatos de alditóis foram analisados por GLC ou GC-MS e identificados pelos seus tempos de retenção e/ou perfis de fragmentação obtidos por impacto de elétrons.

4.4.1.2 Metilação

A metilação dos polissacarídeos presentes na fração TAIKP1M-Cl foi realizada pelo método de Ciucanu e Kerek (1984). Aproximadamente 10 mg das amostras foram solubilizadas em 2 mL de DMSO. Depois foi adicionado hidróxido de sódio pulverizado à solução, seguido de 2 mL de iodeto de metila e agitação em vórtex por 30 min. A solução foi mantida em agitação com agitador magnético *overnight*. Após este período o processo foi repetido para assegurar a metilação total dos polissacarídeos.

Em seguida, a água destilada foi adicionada para cessar a metilação e a solução foi neutralizada com ácido acético glacial. Os polissacarídeos metilados foram extraídos com clorofórmio e lavados diversas vezes com água destilada. A fase clorofórmica foi transferida para um tubo de vidro limpo e evaporada completamente.

Os polissacarídeos metilados secos passaram por metanólise com solução de ácido clorídrico em metanol a 3,5% (v/v, 2 mL), sendo mantidos em estufa à 80 °C por 2 h. Após esse período as amostras foram mantidas abertas até a evaporação completa.

Posteriormente foi realizada a hidrólise dessas amostras com 1,5 mL de H₂SO₄ 0,5 M em estufa à 100 °C por 16 h. A reação foi interrompida com 1,5 mL de água destilada, o H₂SO₄ foi neutralizado com carbonato de bário (BaCO₃) e a solução foi centrifugada (8.000 rpm por

15 minutos). Os sobrenadantes foram reduzidos com NaBD₄ (pH 9) e mantidos em repouso *overnight*. As amostras foram neutralizadas com ácido acético e liofilizadas.

Por fim foi realizada a acetilação com piridina-anidrido acético conforme procedimento descrito no item 4.4.1. Os acetatos de alditóis parcialmente O-metilados resultantes foram analisados por GC-MS, sendo identificados por seus tempos de retenção e perfis de fragmentação obtidos por impacto de elétrons comparados à padrões (SASSAKI et al., 2005).

4.4.2 Métodos Espectrofotométricos

4.4.2.1 Dosagem de ácidos urônicos

A dosagem de ácidos urônicos foi realizada pelo método descrito por Filisetti-Cozzi e Carpita (1991), sendo o método sensível para 0,97 a 38,8 µg de ácidos urônicos.

Os polissacarídeos (1,5 mg) foram solubilizados em solução de NaOH à 0,5%. A 400 µL da solução de amostra foi adicionado 40 µL de solução de ácido sulfâmico-sulfamato de potássio 4 M (pH 1,6), seguido de 2,4 mL de tetraborato de sódio (75 mM em H₂SO₄). A solução foi agitada em vórtex e aquecida em banho-maria à 100 °C por 20 minutos. Após resfriamento até temperatura ambiente, foi adicionado 80 µL de meta-hidroxibifenila e a absorbância foi lida em comprimento de onda de 525 nm. Como padrão, foi produzida uma curva utilizando ácido galacturônico ou ácido glucurônico nas concentrações 2, 5, 10, 20 e 30 µg/mL. O ensaio foi realizado em triplicatas ou quintuplicatas,

4.4.2.2 Dosagem de proteínas

A determinação do conteúdo de proteína das amostras foi realizada com o corante Coomassie Azul Brilhante G-250, segundo o processo descrito por Bradford (1976), utilizando-se como padrão para construção da curva de calibração a albumina sérica bovina (BSA).

Foram preparadas soluções de cada amostra com diferentes concentrações (1 mg/mL, 5 mg/mL e 10 mg/mL). Para cada 1 μ L dessas soluções foram adicionados 5 μ L do Reagente de Bradford (Bioagency®). O sistema foi incubado por 5 minutos e o conteúdo de proteínas foi estimado pela absorbância lida em comprimento de onda de 595 nm. Este ensaio também foi realizado em triplicatas ou quintuplicatas.

4.4.2.3 Dosagem de compostos fenólicos

A determinação da quantidade de compostos fenólicos das amostras foi realizada por método colorimétrico de Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999) adaptado para o uso em microplaca.

Foram preparadas soluções de cada amostra com diferentes concentrações (0,25 mg/mL, 0,5 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL e 5 mg/mL). Estas soluções foram pipetadas na microplaca (20 μ L) e a água destilada foi usada como branco do experimento. E em seguida foi adicionado 100 μ L da solução de Folin-Ciocalteu à 10%. O reagente de Folin-Ciocalteu oxida os fenolatos reduzindo-os a um complexo azul. Depois do tempo de espera de 1 à 8 min, adicionou-se 80 μ L de solução de carbonato de sódio 7,5%. Por fim, a microplaca ficou protegida da luz por 2 h e absorbância de cada poço foi lida em comprimento de onda de 760 nm. A quantidade de compostos fenólicos foi calculada com base na curva de calibração construída com o padrão de

ácido gálico. O total de compostos fenólicos foi expresso em equivalentes de ácido gálico (*Gallic acid equivalent* – GAE).

4.4.3 Métodos Cromatográficos e espectroscópicos

4.4.3.1 Cromatografia de exclusão por tamanho de alta performance acoplada à espalhamento de luz (HPSEC-MALLS)

A cromatografia de exclusão estérica de alta performance (HPSEC) foi realizada para determinação da homogeneidade das frações. O equipamento utilizado foi o HPSEC Wyatt Technology com quatro colunas de gel permeação acopladas em série (limites de exclusão de 7×10^6 , 4×10^5 , 8×10^4 e 5×10^3 Da), e detectores de índice de refração (RID) modelo Waters 2410, ultravioleta à 280 nm e espalhamento de luz laser multiângulos (MALLS).

Os polissacarídeos foram solubilizados com uma solução de nitrito de sódio 0,1 M e azida 0,2 g/L para uma concentração final de 1 mg/mL. E as soluções foram filtradas em membranas de acetato de celulose de 0,22 µm de porosidade. A mesma solução utilizada na solubilização das amostras foi utilizada como eluente, num fluxo de 0,6 mL/min.

O software ASTRA 4.70.07 foi usado para análise dos cromatogramas.

4.4.3.2 Cromatografia líquido-gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS)

O equipamento utilizado para análise dos metilados e algumas composições monossacarídicas foi o cromatógrafo Shimadzu modelo QP2020NX, com detector do tipo quadrupolo e coluna capilar VF5-MS (30 m x 0,25 mm). O gás de arraste empregado foi hélio ultrapuro num fluxo de 2 mL/min, num tempo total de corrida de 30 min. As análises foram

realizadas com a temperatura do injetor mantida a 250 °C e rampa de temperatura com início a 100 °C, sustentada por 3 min, aumentando-se a temperatura para 220 °C (10 °C/min), mantida por 3 min, elevando-se a 250 °C (10 °C/min), preservada por 3 min, e então aumentando-se a temperatura para 280 °C (10 °C/min) mantendo-se por 3 min.. Os espectros foram produzidos através da ionização por impacto de elétrons com energia de 70 eV à 250 °C.

4.4.3.3 Cromatografia Gás-líquido (GLC)

A cromatografia gás-líquido foi aplicada para análise da composição monossacarídica de algumas frações. O cromatógrafo utilizado foi o Thermo Trace GC 3, com uma coluna DB-225 (30 m x 0,25 mm). Os alditóis acetatos foram analisados a uma temperatura de 100 – 250 °C (60 °C/min), empregando como gás de arraste uma mistura de He e N₂ e utilizando detector de ionização de chama (FID).

4.4.4 Espectroscopia por ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de ¹³C e HSQC-DEPT foram obtidos a 70 °C em um espectrômetro Bruker AVANCE III 400MHz ou 600MHz, equipado com uma sonda de detecção inversa multinuclear de 5 mm com z -gradiente. As amostras foram solubilizadas em D₂O ou DMSO-d₆ e os espectros foram calibrados tendo como referência interna a acetona (30,2/2,22 ppm para ¹³C/¹H) e o DMSO-d₆ (39,7/2,6 ppm para ¹³C/¹H), respectivamente.

O software TopSpin 4.1.1 foi utilizado para análise dos espectros.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na **Figura 7** é possível observar um fluxograma com as etapas de extração e purificação dos polissacarídeos da polpa das tâmaras da Tunísia. Estes processos serão esclarecidos nas próximas seções.

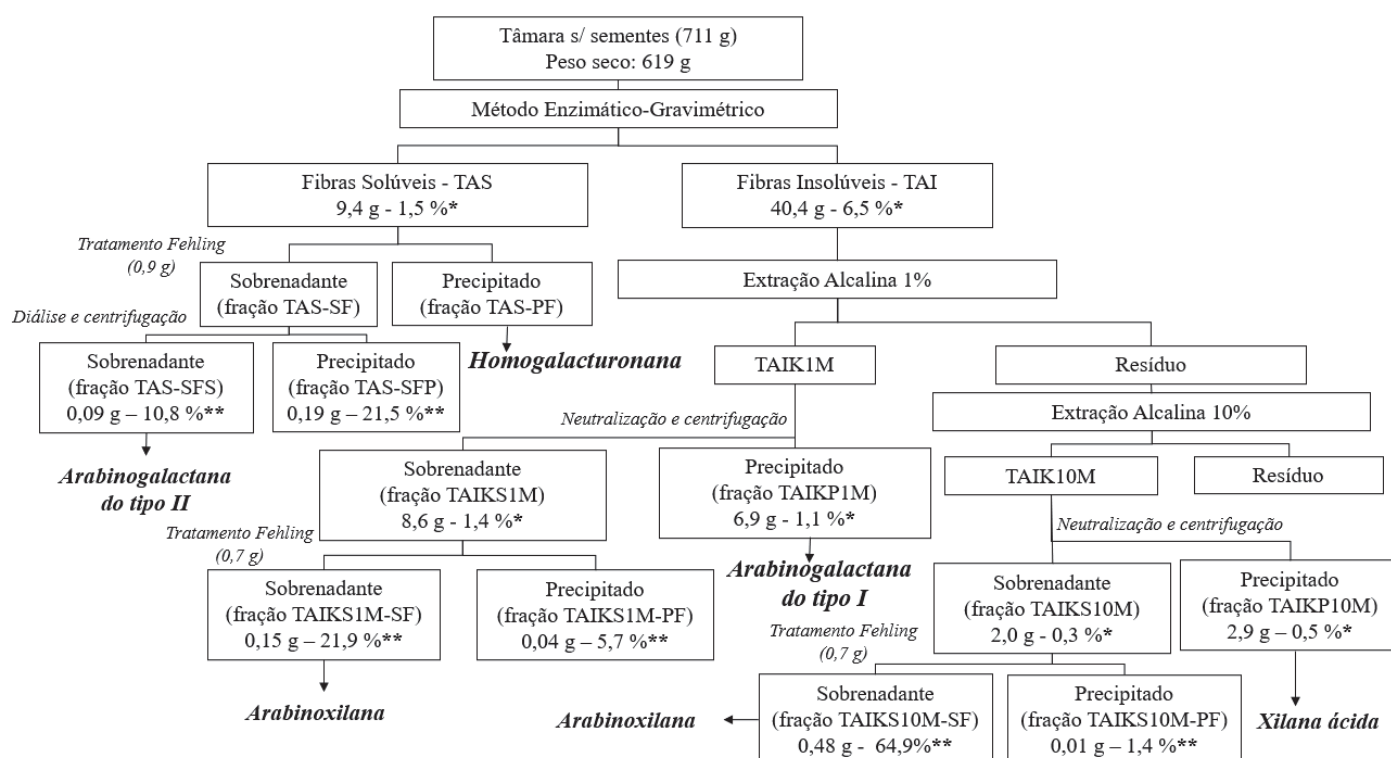


Figura 7 – Esquema da extração e purificação de polissacarídeos da polpa das tâmaras da Tunísia. *: rendimento relativo ao peso seco das tâmaras. **: rendimento relativo a quantidade de fração utilizada no tratamento de Fehling.

5.1 EXTRAÇÃO DAS FIBRAS DIETÉTICAS PELO MÉTODO ENZIMÁTICO-GRAVIMÉTRICO E PURIFICAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS PRESENTES NA FRAÇÃO CONTENDO AS FIBRAS SOLÚVEIS

Após o tratamento da polpa das tâmaras por método enzimático-gravimétrico obteve-se os rendimentos de 1,5% de fibras solúveis (TAS) e 6,5% de fibras insolúveis (TAI). Estes rendimentos de fibras solúveis e insolúveis na polpa das tâmaras estão de acordo com as informações da literatura atual, onde pode-se observar valores entre 0,4 a 6,68% em relação ao peso seco do fruto de fibras solúveis e entre 3,03 a 11,7% de fibras insolúveis (ELLEUCH et al., 2008; AL-FARSI e LEE, 2008).

A composição monossacarídica da fração TAS pode ser observada na **Tabela 1**. Com relação aos açúcares neutros, verifica-se alta concentração de arabinose, galactose e glucose nessa fração. A dosagem de ácidos urônicos resultou em 12,1%, o que sugere a presença de pectinas. Apresenta baixo teor de proteínas e de compostos fenólicos, como pode ser observado na **Tabela 2**.

Tabela 1- Composição monossacarídica e dosagem de ácidos urônicos da fração TAS extraída pelo método enzimático-gravimétrico da polpa do fruto de *Phoenix dactylifera L.*

Fração	Açúcares Neutros ^a (%)							Ác. Urônicos (%) ^b
	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	
TAS	1,8	0,5	41,9	9,4	2,3	14,9	17,1	12,1

^a Percentual da área do pico em relação à área total do pico, determinada por GLC.

^b Quantificado espectrofotometricamente utilizando-se o método de Filisetti-Cozzi e Carpita (1991).

A fração TAS também passou pela análise de homogeneidade por cromatografia de gel permeação (HPSEC). Na **Figura 8** pode-se observar um pico assimétrico e polidisperso entre 45 e 65 minutos de eluição. Isto demonstra a existência de polissacarídeos com várias massas molares nessa fração.

Tabela 2- Dosagem de proteínas e compostos fenólicos das frações TAS, TAIKS1M, TAIKS10M, TAIKP1M e TAIKP10M obtidas através extração de polissacarídeos da polpa das tâmaras da Tunísia.

Fração	Proteínas (%)	Fenólicos (g GAE/100g)
TAS	2,8	0,1
TAIKS1M	2,0	0,1
TAIKS10M	2,2	0,1
TAIKP1M	2,7	0,1
TAIKP10M	2,5	1,9

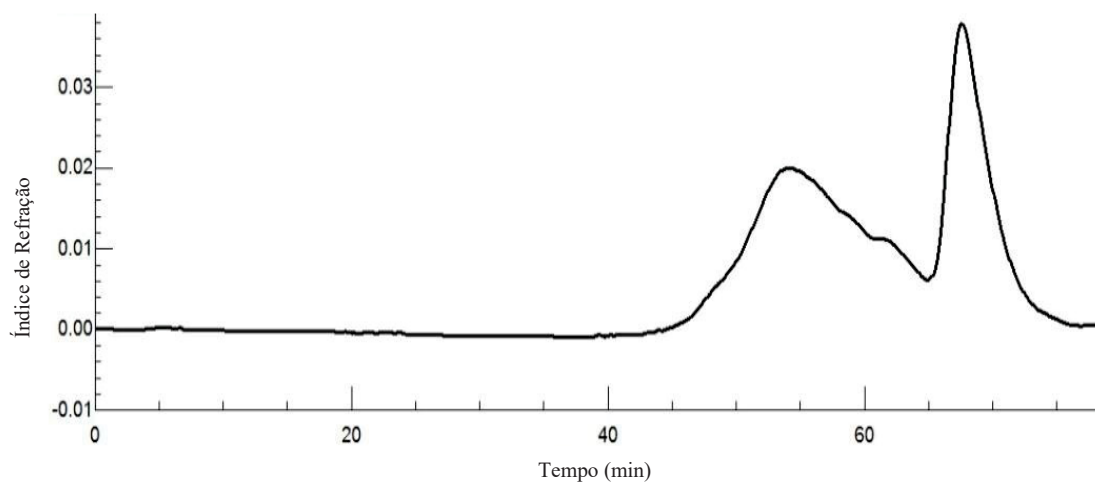


Figura 8- Perfil de eluição da fração TAS obtido por HPSEC. Detector de índice de refração.

A fração TAS foi também analisada por ressonância magnética nuclear (RMN) e o mapa de correlação HSQC pode ser observado na **Figura 9**. A análise do espectro permitiu identificar

a presença de sinais característicos de pectinas. Na região anomérica a presença dos sinais δ 100,2/4,94 e δ 99,4/5,10 correspondentes ao C-1/H-1 de unidades de α -D-GalpA esterificadas e não esterificadas, respectivamente (NASCIMENTO; IACOMINI e CORDEIRO, 2017).

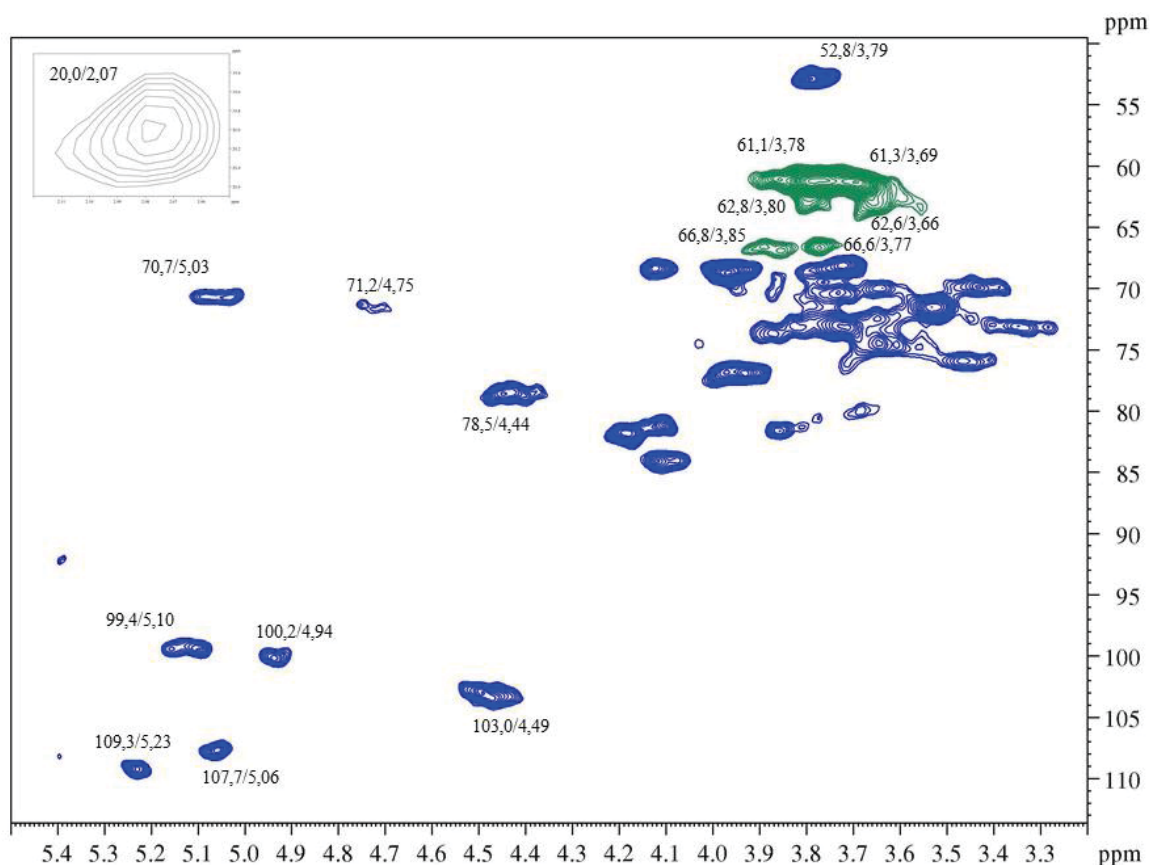


Figura 9- Mapa de correlação direta HSQC da fração TAS. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em ppm. Sinais em verde claro representam -CH₂- no experimento HSQC-DEPT. Experimento realizado em D₂O, a 70 °C.

O sinal em δ 78,5/4,44 foi atribuído C-4/H-4 substituído de unidades de α -D-GalpA. Enquanto que os sinais δ 70,7/5,03 e δ 71,2/4,75 indicam a presença do C-5/H-5 de unidades de α -D-GalpA esterificadas e não-esterificadas, respectivamente (NASCIMENTO; IACOMINI e CORDEIRO, 2017; SCHNEIDER et al., 2020). Pode-se observar a presença dos grupamentos metil e acetil ligados ao α -D-GalpA devido a presença dos sinais em δ 52,8/3,79 e δ 20,0/2,07,

respectivamente (NASCIMENTO; IACOMINI e CORDEIRO, 2017; SCHNEIDER et al., 2020). O grau de esterificação do ácido galacturônico foi calculado em 65% através da integração das áreas dos C-5 esterificado e não esterificado (GRASDALEN; BAKOY E LARSEN, 1988), caracterizando essa pectina como HM, ou seja, com alto grau de metilesterificação.

Os deslocamentos químicos δ 109,3/5,23 e δ 107,7/5,06 observados em campo baixo foram identificados como correspondentes ao C-1/H-1 de unidades de α -L-Araf, enquanto que os sinais em δ 66,8/3,85 e δ 66,6/3,77 são correspondentes ao C-5/H-5 substituídos. Sinais invertidos atribuídos ao C-5 livre de unidades de α -L-Araf também estão presentes em δ 62,8/3,80 e δ 62,6/3,66 (NASCIMENTO; IACOMINI e CORDEIRO, 2017; RENARD et al., 1998; CHAVES, IACOMINI e CORDEIRO, 2019; POPOV et al., 2014, SCHNEIDER et al., 2020; OVODOVA et al., 2009).

O sinal em δ 103,0/4,49 foi identificado como o C-1/H-1 de unidades de β -D-Galp, enquanto que os sinais invertidos δ 61,3/3,69 e δ 61,1/3,78 podem ser atribuídos aos seus C-6/H-6 livres (MARTIN et al., 2017; OVODOVA et al., 2009; SCHNEIDER et al., 2020).

Esses resultados estão em desacordo com os encontrados por Ishurd e colaboradores (2002, 2007) e Ishurd e Kennedy (2005), que encontraram β -glucanas com ligações (1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 4) e (1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6) no extrato aquoso obtido a partir da polpa das tâmaras. A hidrólise ácida completa do polissacarídeo obtido no estudo resultou apenas em resíduos de glucose. Esses autores realizaram extração em água quente, purificação do polissacarídeo por troca iônica e cromatografia de filtração em gel e obtiveram apenas um pico na filtração em gel. Embora a fração TAS tenha apresentado glucose na sua composição monossacarídica (**Tabela 1**), nenhum sinal relativo a unidades de β -Glc_p (1 $\rightarrow$ 3) ou (1 $\rightarrow$ 6)-ligadas pode ser visualizado no seu espectro de HSQC (**Figura 9**). Esses sinais teriam um deslocamento químico em aproximadamente 86 ppm e 69 ppm (invertido no HSQC-DEPT).

Por outro lado, os resultados deste trabalho mostram principalmente a presença de pectinas em TAS, com domínios de homogalacturonana e arabinogalactanas. Visando fracionar estas pectinas foi realizado o fracionamento dos polissacarídeos através da solução de Fehling (**Figura 7**), uma vez que as homogalacturonanas interagem com o cobre e precipitam (CANTU-JUNGLES et al., 2014).

O tratamento de TAS (0,9 g) com solução de Fehling gerou as frações sobrenadante (TAS-SF) e precipitado (TAS-PF). A fração TAS-SF formou precipitado no interior da membrana de diálise e o material foi novamente centrifugado, gerando duas novas frações: o sobrenadante (TAS-SFS) e o precipitado (TAS-SFP). A fração TAS-SFS teve um rendimento de 10,8% em relação ao total de TAS utilizado neste tratamento e a fração TAS-SFP teve um rendimento 21,5%.

A composição monossacarídica das frações TAS-SFS e TAS-SFP podem ser observadas na **Tabela 3**. As duas frações possuem uma composição relativamente semelhante, tendo como principais monossacarídeos neutros a arabinose e a galactose, indicando a presença de arabinogalactanas/arabinanas como esperado. Por se tratar da homogalacturonana, a composição monossacarídica da fração TAS-PF não foi realizada.

Polissacarídeos compostos por arabinose e/ou galactose como as arabinanas e as arabinogalactanas são frequentemente encontrados em associação às pectinas do tipo RG-I, geralmente ligando-se na posição O-4 das unidades de ramnose da cadeia principal (PAULSEN e BARSETT, 2005).

Tabela 3- Composição monossacarídica das frações TAS-SFS e TAS-SFP obtidas pelo tratamento com solução de Fehling da fração TAS.

Fração	Açúcares neutros ^a (%)							Ácidos Urônicos (%) ^b
	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	
TAS-SFS	1,0	-	68,2	-	2,1	17,2	4,9	6,6
TAS-SFP	5,3	-	59,2	-	-	19,7	8,5	7,3

^a percentual da área do pico em relação à área total do pico, determinada por GC-MS.

^b Quantificado espectrofotometricamente utilizando-se o método de Filisetti-Cozzi e Carpita (1991).

O espectro de RMN de TAS-SFS reforça essa hipótese. O mapa de correlação HSQC pode ser observado na **Figura 10**.

Os sinais em δ 107,9/5,38, δ 108,0/5,20 e δ 107,5/5,05 observado em campo baixo foi atribuído ao C-1/H-1 de unidades de α -L-Araf. Sinais invertidos atribuídos ao C-5 livre de unidades de α -L-Araf também estão presentes em δ 62,5/4,10 e δ 62,7/3,38. Enquanto que os sinais invertidos vistos em δ 66,5/3,90 e δ 66,7/3,78 são atribuídos ao C-5 substituídos das unidades de α -L-Araf (CANTU-JUNGLES et al., 2015; CHAVES, IACOMINI e CORDEIRO, 2019; POPOV et al., 2014; OVODOVA et al., 2009).

Os deslocamentos químicos observados em δ 103,6/4,67 e δ 79,9/3,69 foram identificados como correspondentes ao C-1/H-1 e ao C-3/H-3 de unidades de $\rightarrow$ 3)- β -D-Galp-(1 $\rightarrow$, respectivamente. Já o sinal em δ 103,1/4,48 foi atribuído ao carbono anomérico de unidades de $\rightarrow$ 6)- β -D-Galp-(1 $\rightarrow$. Sinais invertidos atribuídos ao C-6/H-6 livre de unidades de β -D-Galp-(1 $\rightarrow$ em δ 61,1/3,68 e correspondentes ao C-6/H-6 de β -D-Galp substituído em δ 69,2/4,02 (CANTU-JUNGLES et al., 2017b; CHAVES, IACOMINI e CORDEIRO, 2019). Estes dados reforçam a presença de arabinogalactanas do tipo II nessa fração.

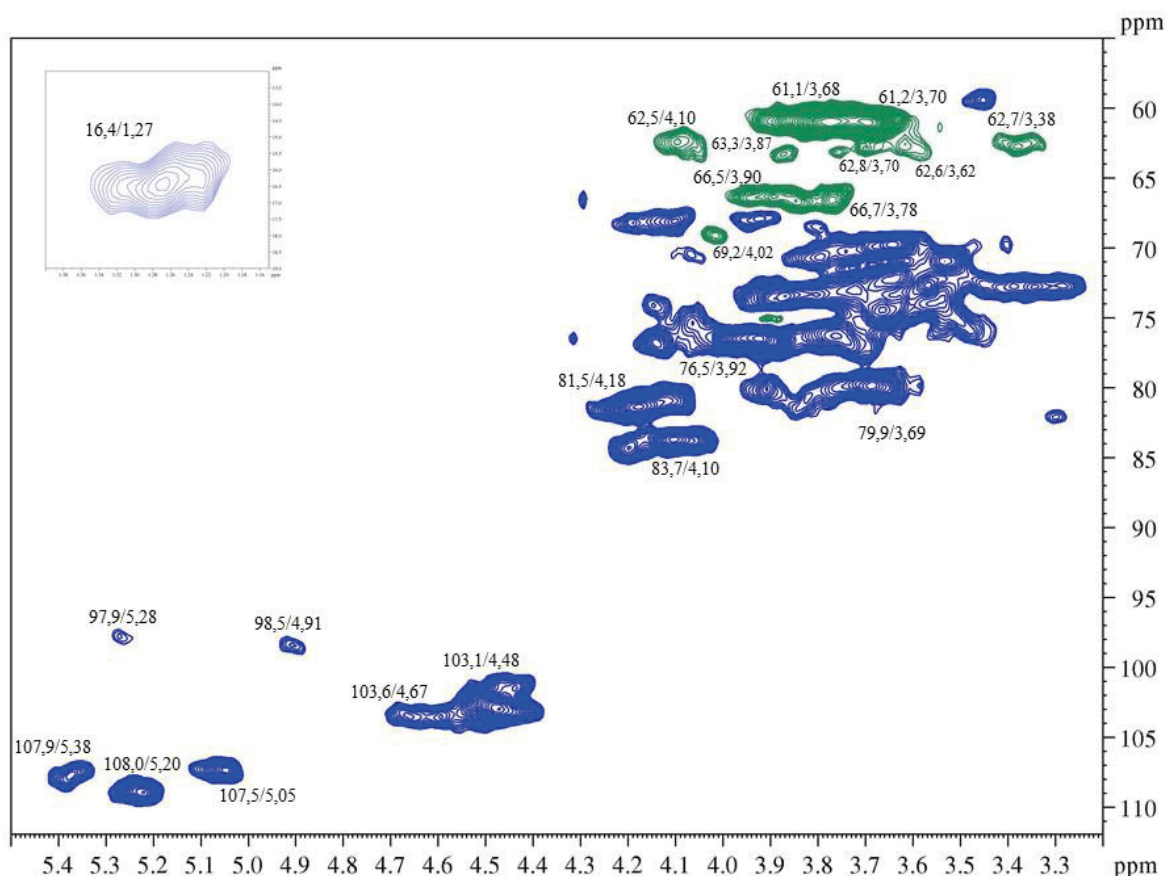


Figura 10- Mapa de correlação direta HSQC da fração TAS-SFS. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em ppm. Sinais em verde claro representam -CH₂- no HSQC-DEPT. Experimento realizado em D₂O, a 70 °C.

Por fim, o sinal anomérico de unidades de α -L-Rhap, provavelmente correspondentes à RG I, pode ser observado em δ 97,9/5,28, enquanto que o seu sinal de C-6/H-6 aparece em δ 16,4/1,27. Além disso, pode-se identificar o sinal δ 98,5/4,91, que foi atribuído ao carbono anomérico (C-1/H-1) de unidades de α -D-GalpA provavelmente ligado à ramnose da RG I. As atribuições estão de acordo com os dados publicados na literatura (CANTU-JUNGLES 2017b, TAMIELLO-ROSA et. al, 2019).

A análise de homogeneidade da fração TAS-SFS pode ser observada na **Figura 11**. Observa-se um pico largo aproximadamente entre 45 e 55 minutos de eluição e um pico estreito em cerca de 60 minutos. Esse perfil de eluição heterogêneo corresponde a dois grupos de

moléculas, provavelmente arabinogalactanas com diferentes massas molares, uma vez que o espectro de HSQC não apresentou sinais correspondentes a outro tipo de polissacarídeo.

Já a fração TAS-SFP também passou por análise de homogeneidade por HPSEC, seu perfil de eluição pode ser observado na **Figura 12**. Observa-se mais uma vez um perfil de eluição heterogêneo com dois picos que aconteceram em tempos aproximados aos da fração TAS-SFS. Entretanto, a análise dessa fração por RMN não foi possível devido a sua baixa solubilidade nos solventes testados (D_2O e $DMSO-d_6$).

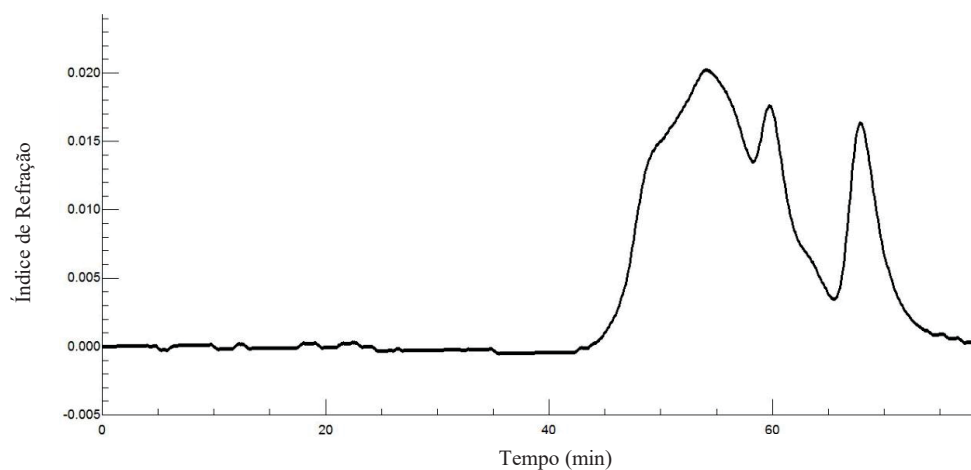


Figura 11- Perfil de eluição por HPSEC da fração TAS-SFS. Detector de índice de refração.

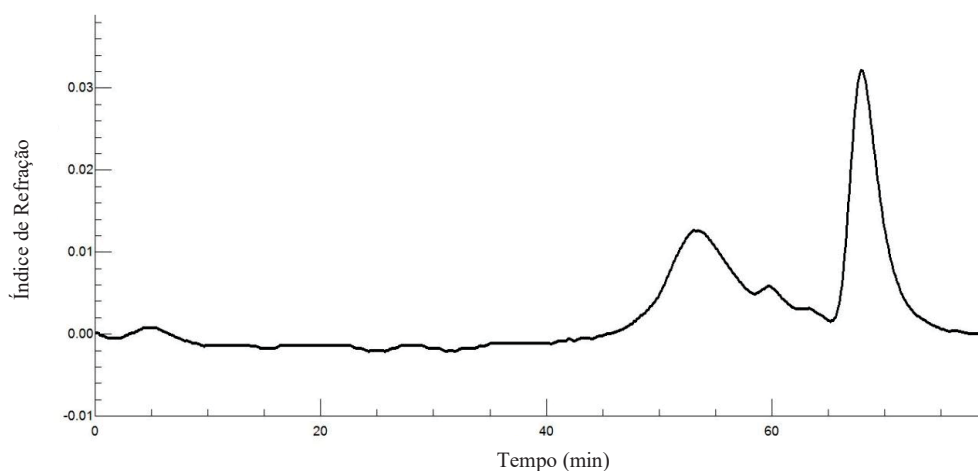


Figura 12- Perfil de eluição por HPSEC da fração TAS-SFP. Detector de índice de refração.

A partir dos dados acima, pode-se sugerir a presença de homogalacturonana altamente metilesterificada e de arabinogalactanas do tipo II (AG-II) na fração que compõe as fibras solúveis da tâmara. As AG-II são polissacarídeos que apresentam cadeia principal formada por unidades de β -D-Galp unidas por ligações (1 $\rightarrow$ 3), com ramificações curtas formadas por unidades de β -D-Galp (1 $\rightarrow$ 6) ligadas, que podem ser substituídas por unidades de α -L-Araf (1 $\rightarrow$ 3) e/ou (1 $\rightarrow$ 5) ligadas (PÉREZ et al., 2000; PAULSEN e BARSETT, 2005).

Arabinogalactanas do tipo II já foram isoladas e quimicamente caracterizadas na polpa de outras frutas. Em dicotiledôneas esse polissacarídeo foi encontrado em cajá-manga (MARTINEZ et al., 2003), pêssego (SIMAS-TOSIN et al., 2012), carambola (LEIVAS; IACOMINI e CORDEIRO, 2016), jambo (TAMIELLO et al., 2018) e caju (TAMIELLO-ROSA et al., 2019). Já em monocotiledôneas, as arabinogalactanas do tipo II foram encontradas na banana (SHIGA et al., 2017) e no açaí (CANTU-JUNGLES et al., 2017b).

O açaí é uma planta pertencente à família Arecaceae, assim como as tâmaras. Cantu-Jungles e colaboradores (2017b) encontraram arabinogalactanas do tipo II também no sobrenadante de Fehling, sendo o tratamento realizado com o extrato aquoso da polpa do açaí.

5.2 PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS QUE COMPÕEM A FRAÇÃO DAS FIBRAS INSOLÚVEIS DA POLPA DA TÂMARA

As fibras insolúveis (fração TAI) foram tratadas sequencialmente com soluções de NaOH 1% e 10%. A extração à 1% resultou em duas frações, o sobrenadante (TAIKS1M) e o precipitado (TAIKP1M) obtidos na etapa de neutralização (ver materiais e métodos para os detalhes). Essas frações apresentaram rendimento de 1,4% e 1,1%, respectivamente, em relação ao peso seco inicial da polpa das tâmaras. A extração alcalina à 10% também resultou em duas

frações, o sobrenadante (TAIKS10M) e o precipitado (TAIKP10M) também obtidos na etapa de neutralização. Essas frações apresentaram rendimento de 0,3 e 0,5%, respectivamente.

Na **Tabela 4** é possível observar a composição monossacarídica dessas frações. As duas frações extraídas a 1% têm alta concentração de arabinose, xilose e galactose. Entretanto, TAIKP1M apresenta três vezes mais galactose e menor quantidade de ácidos urônicos, quando comparada com TAIKS1M.

Tabela 4- Composição monossacarídica das frações TAIKS1M, TAIKS1M-SF, TAIKS1M-PF, TAIKP1M, TAIKS10M, TAIKS10M-SF, TAIKS10M-PF e TAIKP10M obtidas por extração alcalina sequencial da fração TAI.

Fração	Açúcares Neutros (%)							Ác. Urônicos (%) ^c
	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	
TAIKS1M ^a	1,5	0,1	58,7	15,4	-	10,6	0,3	13,4
TAIKS1M-SF ^b	2,63		65,61	26,31	-	5,45	-	10,7
TAIKS1M-PF ^b	5,46		53,49	21,4	-	14,19	5,46	11
TAIKP1M ^a	1,2	-	49,2	11,6	0,6	31,1	1,7	4,6
TAIKS10M ^a	1,0	1,4	36,5	33,2	0,9	10,5	10,8	5,7
TAIKS10M-SF ^a	1,6	1,9	37,8	37,2	0,2	5,3	9,1	6,9
TAIKS10M-PF ^a	2,4	1,4	24,6	52,7	-	4,1	13,0	1,8
TAIKP10M ^b	-	-	-	91,7	-	5,4	-	2,9

^a percentual da área do pico relativo à área total do pico, determinada por GLC.

^b percentual da área do pico relativo à área total do pico, determinada por GC-MS.

^c Quantificado espectrofotometricamente utilizando-se o método de Filisetti-Cozzi e Carpita (1991).

Em relação às duas frações extraídas com sol. aquosa de NaOH a 10%, seus principais monossacarídeos são arabinose e xilose. Porém, pode-se notar grande concentração de Xyl na fração TAIKP10M, indicando a presença de xilanas.

A **Tabela 2** apresenta os resultados das dosagens de proteínas e compostos fenólicos e pode-se observar uma baixa porcentagem de compostos fenólicos e proteínas resistentes ao tratamento com protease realizado durante o procedimento de extração das fibras dietéticas pelo método enzimático-gravimétrico.

O perfil de eluição da fração TAIKS1M por HPSEC pode ser observado na **Figura 13**.

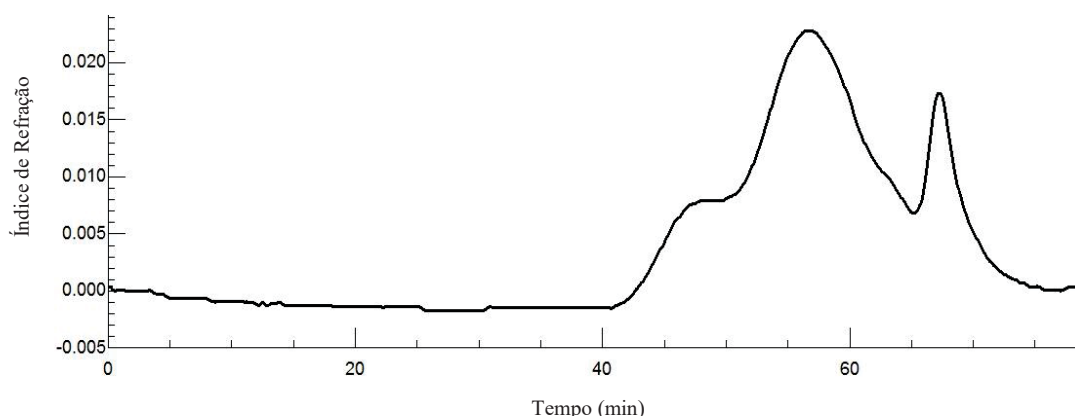


Figura 13- Perfil de eluição por HPSEC da fração TAIKS1M. Detector de índice de refração.

Nota-se uma população com alta massa entre 40 e 50 minutos e uma população com uma massa menor, mas em maior quantidade, entre 50 e 65 minutos. O que em conjunto com a composição monossacarídica pode indicar a presença de dois polissacarídeos diferentes.

Foi realizada então a análise do mapa da correlação direta HSQC da fração TAIKS1M, que pode ser observado na **Figura 14**. Verificou-se a presença dos sinais δ 104,2/4,37 correspondentes ao carbono anomérico de unidades de β -D-Galp (BRECKER et al., 2005), enquanto que os sinais δ 108,1/5,34, δ 110,0/5,13 e δ 108,2/5,03, correspondem ao C-1 das unidades de α -L-Araf. Os sinais δ 67,8/3,77 e δ 67,8/3,65 indicam a presença do C-5/H-5 de

unidades de α -L-Araf (1 $\rightarrow$ 5)-ligadas (DOURADO et al., 2006; POPOV et al., 2014; CAPEK, 2010; NASCIMENTO et al., 2013).

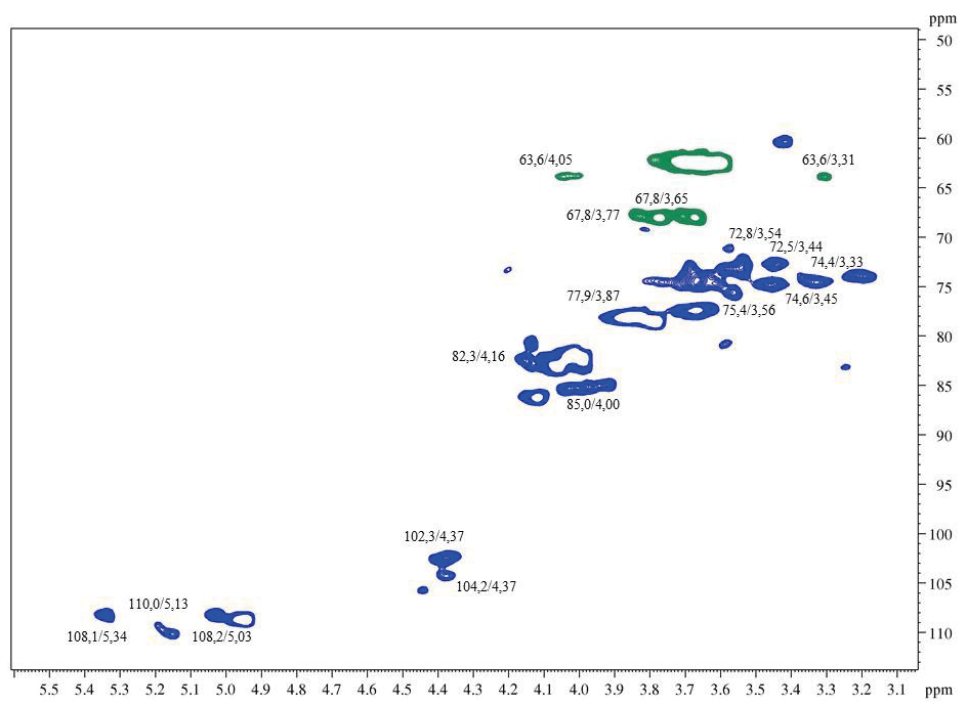


Figura 14- Mapa de correlação direta HSQC da fração TAIKS1M. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em ppm. Sinais em verde claro representam -CH₂- no HSQC-DEPT. Experimento realizado em D₂O, a 70 °C.

Observa-se também os deslocamentos químicos em δ 102,3/4,37, δ 63,6/4,05 e δ 63,6/3,31 correspondentes ao C-1/H-1 e C-5/H-5 de unidades de β -D-Xylp (1 $\rightarrow$ 4)-ligadas (CORDEIRO; ALMEIDA; IACOMINI, 2015). Esses resultados sugerem a mistura de uma arabinogalactana e de uma xilana nessa fração. Como tentativa de purificação, utilizou-se a precipitação por reagente de Fehling, uma vez que esse processo se demonstra útil no fracionamento de polímeros contendo D-xilose (JONES; STOODLEY, 1965).

Foram utilizadas 0,7 g de TAIKS1M para tratamento com solução de Fehling (**Figura 7**), que geraram um sobrenadante denominado TAIKS1M-SF (0,15 g) e um precipitado

denominado TAIKS1M-PF (0,04 g). A composição monossacarídica dessas frações estão representadas na **Tabela 4**. A maior diferença entre elas é a presença de maior quantidade de galactose e menor de arabinose na fração TAIKS1M-PF em relação à TAIKS1M-SF . Devido ao seu baixo rendimento e solubilidade nos solventes testados, a fração TAIKS1M-PF não pode ser analisada por HPSEC e ressonância magnética nuclear.

O perfil de eluição por HPSEC da fração TAIKS1M-SF pode ser observado na **Figura 15** em sobreposição ao perfil de eluição da fração de origem (TAIKS1M). Nota-se um perfil de eluição com uma população de alta massa entre 40 e 55 minutos e uma população com uma massa menor, em cerca de 60 minutos. Em comparação com TAIKS1M, o tratamento de Fehling foi capaz de concentrar as moléculas que eluem em 60 minutos, porém o perfil de eluição da fração como um todo continua heterogêneo. Isto demonstra que ainda existe uma mistura de polissacarídeos de vários tamanhos nessa fração.

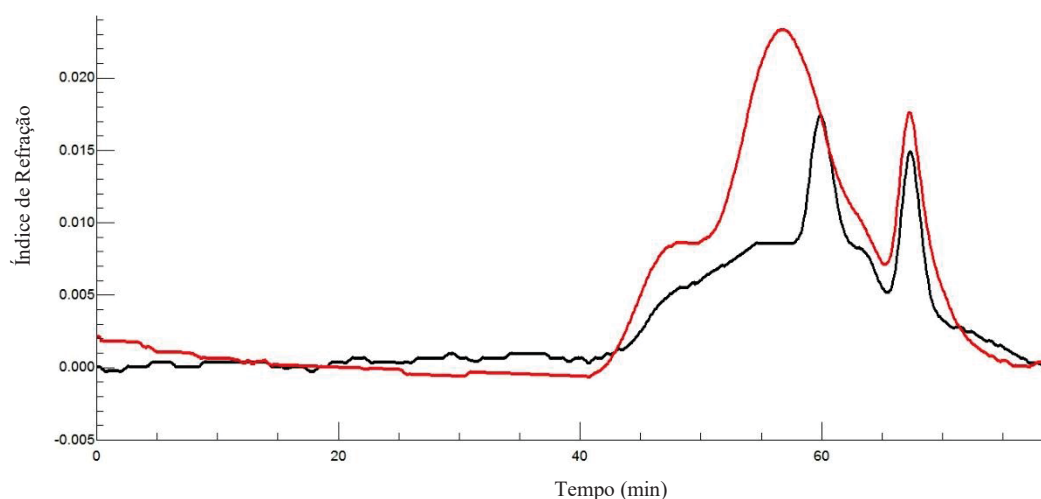


Figura 15- Sobreposição dos perfis de eluição por HPSEC das frações TAIKS1M (em vermelho) e TAIKS1M-SF (em preto). Detector de índice de refração.

O espectro da correlação HSQC dessa fração solubilizada em D₂O pode ser observada na **Figura 16A**, bem como seu espectro de r.m.n-¹³C na **Figura 16B**.

No mapa de correlação direta HSQC, o deslocamento químico em δ 101,6/4,46 e os sinais invertidos em δ 62,8/3,38 e δ 62,9/4,11 foram identificados como correspondentes ao carbono anomérico e ao C-5/H-5 de unidades de β -D-Xylp (1 $\rightarrow$ 4)-ligada, respectivamente (FELISBERTO et al., 2021, CORDEIRO, ALMEIDA e IACOMINI, 2015).

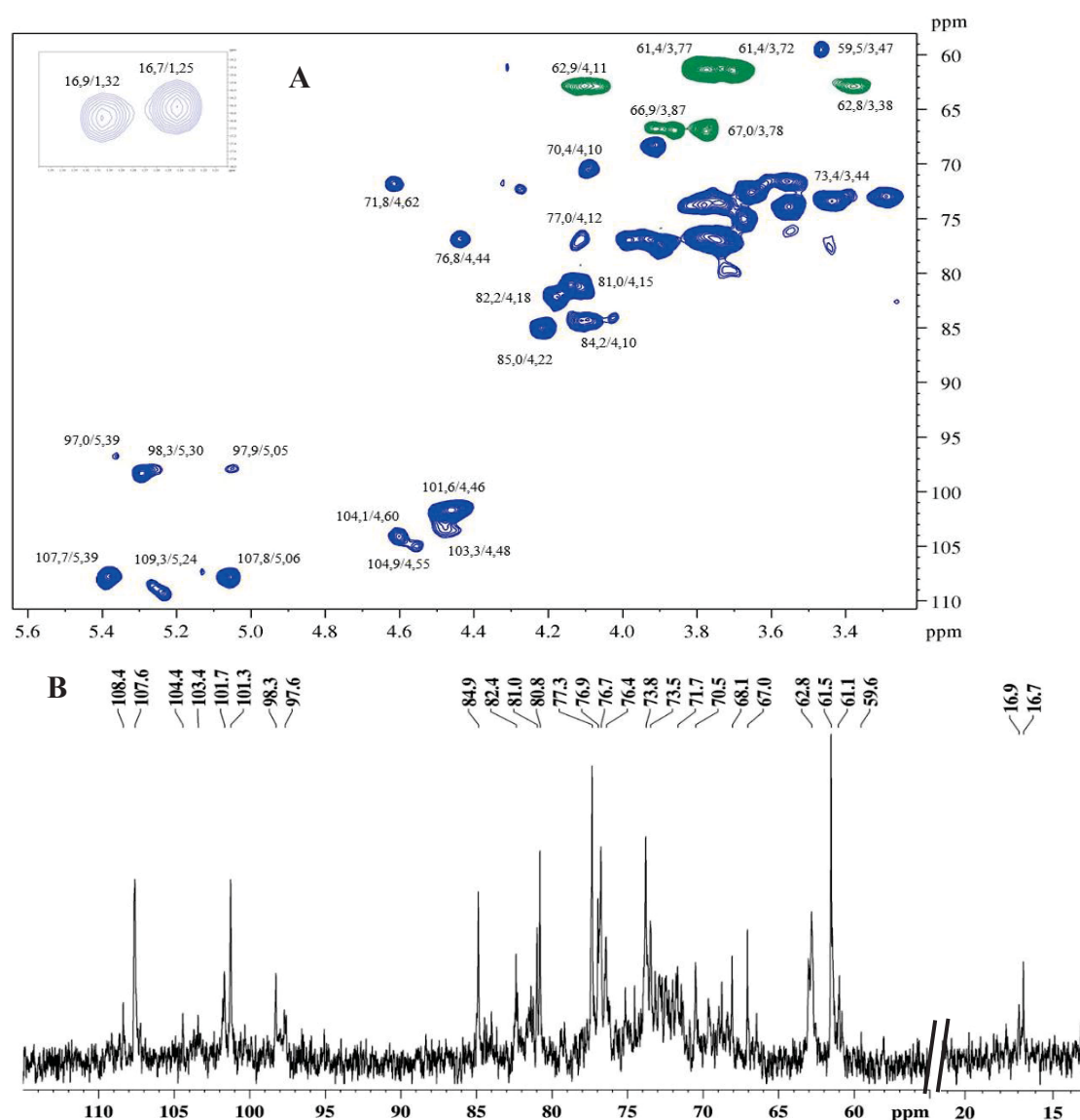


Figura 16- A) Mapa de correlação direta HSQC da fração TAIKS1M-SF. Sinais em verde claro representam -CH₂- no HSQC-DEPT. B) Espectro de r.m.n- ^{13}C da fração TAIKS1M-SF. Experimentos realizados em D₂O, a 70 °C. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em ppm.

Em campo baixo é possível observar ainda os sinais em δ 107,7/5,39, δ 109,3/5,24 e δ 107,8/5,06 que foram identificados como o C-1/H-1 de unidades de α -L-Araf. Já os sinais invertidos presentes em δ 61,4/3,72-3,77 foram atribuídos ao C-5 livre de unidades de α -L-Araf. Enquanto que os sinais invertidos observados em δ 66,9/3,87 e δ 67,0/3,78 são atribuídos ao C-5 substituídos das unidades de α -L-Araf. (CANTU-JUNGLES et al., 2015; CHAVES, 2019; IACOMINI e CORDEIRO, 2019; POPOV et al., 2014). Os deslocamentos químicos em δ 97,0/5,39 e δ 59,5/3,47 podem ser atribuídos ao carbono anomérico e ao grupamento metil, respectivamente, das unidades de 4-*O*-Me- α -D-GlcpA (GUO et al., 2011; CHAVES et al, 2020). Esses resultados indicam a presença de uma arabinoxilana ácida (AX) nessa fração.

Além disso, verificou-se a presença dos sinais em δ 103,3/4,48, δ 104,1/4,60 e δ 104,9/4,55 correspondentes aos carbonos anoméricos de unidades de β -D-Galp (CAPEK et al., 2010). Os sinais em δ 98,3/5,30 (C-1/H-1), δ 16,7/1,25 e δ 16,9/1,32 (C-6/H-6) foram atribuídos às unidades de α -L-Rhap e o sinal em 97,9/5,05 provavelmente de C-1/H-1 de unidades de GalAp (CANTU-JUNGLES 2017b, TAMIELLO-ROSA et. al, 2019). Esses sinais podem sugerir que esta amostra ainda possa apresentar traços de arabinogalactana ligada a rhamnogalacturonana do tipo 1. Entretanto, unidades de Galp também podem estar ligadas nas arabinoxilanas, como observado na AX extraída da polpa do tucumã, outro fruto de palmeiras pertencente a família Arecaceae. A estrutura da galactoarabinoxilana ácida encontrada neste fruto é altamente substituída nas posições *O*-3 e *O*-2, com unidades de arabinose terminais, arabinose (1 $\rightarrow$ 2) e (1 $\rightarrow$ 5) ligadas, além de unidades de galactose terminal e ácido glucurônico (CANTU-JUNGLES et al., 2017d). Vale ressaltar a similaridade observada entre o espectro de r.m.n-¹³C da fração TAIKS1M-SF (**Figura 16B**) com o espectro da fração SF-STK extraída do tucumã e que apresenta a galactoarabinoxilana ácida (CANTU-JUNGLES et al., 2017d).

A outra fração obtida pelo processo de extração alcalina com NaOH a 1%, a qual precipitou durante a neutralização (TAIKP1M) apresentou como principais monossacarídeos a arabinose (49,2%) e a galactose (31,1%) (**Tabela 4**). Devido à sua insolubilidade na solução de nitrito de sódio, não foi possível a realização da análise de homogeneidade por HPSEC. Entretanto, na **Figura 17** podemos observar o seu mapa de correlação direta HSQC.

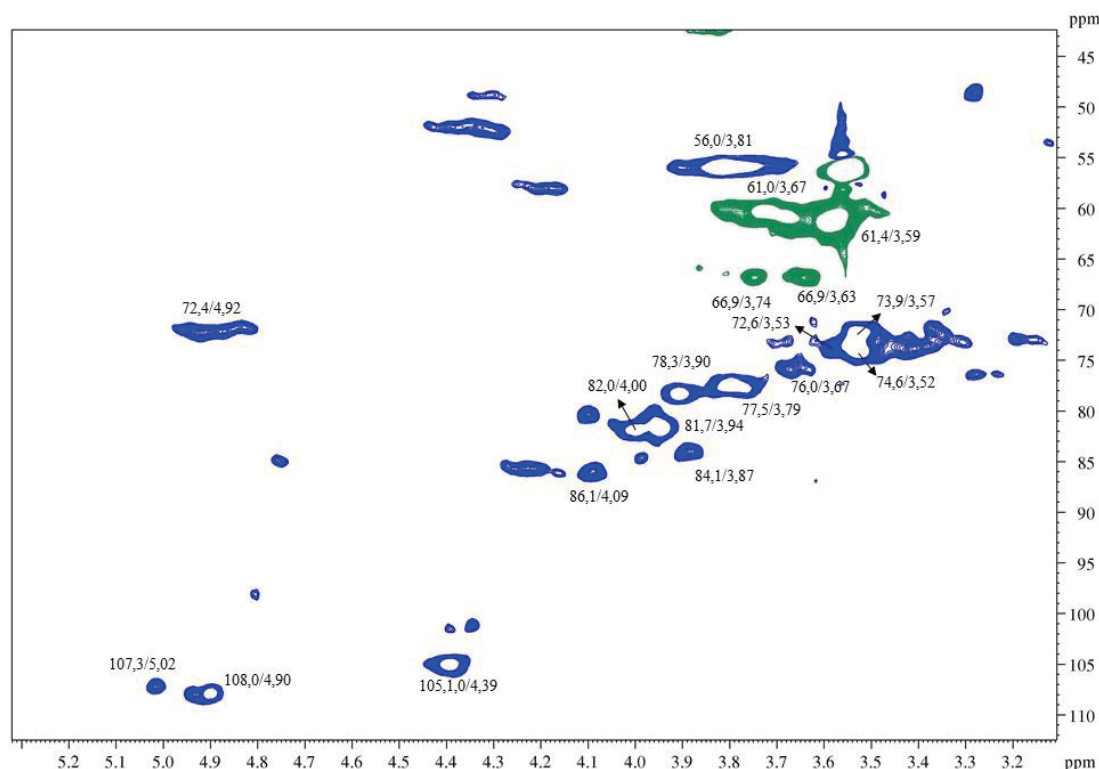


Figura 17- Mapa de correlação direta HSQC da fração TAIKP1M. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em ppm. Sinais em verde claro representam -CH₂- no HSQC-DEPT. Experimento realizado em DMSO-d₆, a 70 °C. *Apenas fração solúvel em DMSO-d₆ foi enviada para análise.

Observou-se a presença dos sinais δ 105,1/4,39 (C-1/H-1), δ 78,3/3,90 (C-4/H-4 substituído), δ 74,6/3,52 (C-5/H-5), δ 73,9/3,57 (C-3/H-3), δ 72,6/3,53 (C-2/H-2) e o sinal invertido δ 61,4/3,59 (C-6/H-6) correspondentes às unidades de β -D-Galp (1 $\rightarrow$ 4)-ligadas (NASCIMENTO et al., 2015; OVODOVA et. al, 2009;).

Os sinais em δ 108,0/4,90 (C-1/H-1), δ 81,7/3,94 (C-2/H-2), δ 77,5/3,79 (C-3/H-3), δ 82,0/4,00 (C-4/H-4) e os sinais invertidos em δ 66,9/3,74 e 3,63 (C-5/H-5 substituído) podem ser atribuídos à unidades de α -L-Araf(1 $\rightarrow$ 5) ligadas. Outros sinais em δ 107,3/5,02 (C-1/H-1), δ 77,5/3,79 (C-3/H-3), 84,1/3,87 (C-4/H-4) e δ 61,4/3,59 (C-5/H-5) podem ser atribuídos aos carbonos de unidades de α -L-Araf terminais (OVODOVA et al., 2009; SCHNEIDER et al 2020; CORDEIRO; ALMEIDA; IACOMINI, 2015; KLOSTERHOFF et al., 2018). Esses sinais indicam a presença de uma arabinogalactana do tipo 1 nessa fração.

Os sinais em δ 72,4/4,92, δ 56,0/3,81 e provavelmente o sinal em δ 86,1/4,09 podem ser atribuídos à presença de lignina em TAIKP1M (FERNANDÉZ-COSTAS et al., 2014; OLIVEIRA, 2015). Grande variedade de sinais também foram observados no HSQC, na região do ^1H entre δ 0,8-2,33 e δ 6,5-7,30 e do ^{13}C entre δ 10,0-56,0 e δ 112,0-140,0 (dados não mostrados) que podem indicar a presença de compostos não-carboidratos que co-precipitaram juntamente com a arabinogalactana nessa fração. A lignina foi considerada por alguns autores como componentes das fibras insolúveis das tâmaras e é considerada um polímero hidrofóbico, não-carboidrato, altamente reticulado e bastante estável e, portanto, de difícil extração (GEORGE et al., 2020; DEY e HARBORNE, 1997). A arabinogalactana pode estar ligada na lignina, o que justificaria sua insolubilidade em água e sua extração com solução alcalina apenas.

Decidiu-se por realizar um tratamento de despigmentação para remover a lignina de TAIKP1M e assim facilitar a caracterização dos polissacarídeos presentes na fração. O agente selecionado foi o hipoclorito de sódio, com o objetivo de oxidar, descolorir e solubilizar a lignina, uma vez que é um produto de baixo custo e de fácil utilização. Os agentes oxidantes, de maneira geral, degradam a lignina por oxidação, diminuindo seu tamanho molecular e formando grupamentos de ácido carboxílico, que geram maior solubilidade destes fragmentos em água e em álcali (DENCE e REEVE, 1996).

Foram dissolvidos 1 g de TAIKP1M em 100 mL de uma solução de NaOH à 0,5% para dar início ao tratamento e logo após foi adicionado 1 mL de hipoclorito de sódio (2-2,5% p/p de cloro ativo). O sistema foi mantido sob agitação à temperatura ambiente por 16 h. Após este período a amostra foi neutralizada com ácido acético, submetida à diálise aberta por 24 h (membranas de 12-14 kDa) e liofilizada. O rendimento da fração após o tratamento (TAIKP1M-Cl) foi de 0,97 g. Entretanto, ao analisar o espectro de HSQC dessa fração (dados não mostrados), verificou-se que o tratamento não foi eficiente uma vez que ainda foi observada a presença da lignina, devido à presença dos sinais relatados acima.

Para estimar o tipo de ligação glicosídica entre os monossacarídeos, uma análise de metilação de TAIKP1M foi realizada conforme especificado na seção de materiais e métodos e o resultado pode ser observado na **Tabela 5**. Pode-se observar a presença do derivado 2,3,6-Me₃-Gal como um de seus principais derivados metilados. Este corresponde às unidades de Galp (1→4)-ligadas, provavelmente da cadeia principal da arabinogalactana do tipo I. Esta cadeia principal apresentou ramificações em O-2, O-6 e O-3,6 devido à presença dos derivados 3,6-Me₂-, 2,3-Me₂-Gal e 2-Me-Gal, respectivamente. Também se observou a presença de unidades de Galp 3-O- e 6-O- em menores quantidades, provavelmente derivadas de arabinogalactana do tipo II.

Os derivados metilados 2,3-Me₂-Ara, 2-Me-Ara e 2,3,5-Me₃-Ara sugerem, respectivamente, que as cadeias laterais da arabinogalactana são formadas por Ara^f (1→5)-ligada, com algumas substituições em O-3 e por terminais não redutores de Ara^f.

Tabela 5- Tipos de ligação baseados na análise de acetato de alditóis parcialmente O-metilados, obtido da fração metilada TAIKP1M-Cl provenientes da polpa das tâmaras (*Phoenix dactylifera*).

Alditol acetato parcialmente <i>O</i> -metilado	TAIKP1M-Cl ^a	Tipo Ligação ^b
2,3,5-Me ₃ -Ara	7,7	Araf-(1→
2,3-Me ₂ -Ara	8,5	→5)-Araf-(1→
2,3,4,6-Me ₄ -Glc	5,0	Glc _p -(1→
2,3,4,6-Me ₄ -Gal	4,9	Gal _p -(1→
2-Me-Ara	4,2	→3,5)-Araf-(1→
3-Me-Rha	1,3	→2,4)-Rhap-(1→
2,3,6-Me ₃ -Gal	17,0	→4)-Gal _p -(1→
2,3,6-Me ₃ -Glc	17,7	→4)-Glc _p -(1→
2,3,4-Me ₃ -Glc	3,5	→6)-Glc _p -(1→
2,3,4-Me ₃ -Gal	3,9	→6)-Gal _p -(1→
2,4,6-Me ₃ -Gal	8,1	→3)-Gal _p -(1→
3,6-Me ₂ -Gal	2,0	→2,4)-Gal _p -(1→
2,3-Me ₂ -Glc	5,8	→4,6)-Glc _p -(1→
2,3-Me ₂ -Gal	6,0	→4,6)-Gal _p -(1→
2-Me-Glc	1,9	→3,4,6)-Glc _p -(1→
2-MeGal	2,6	→3,4,6)-Gal _p -(1→

^a: % da área do pico de *O*-metilalditol acetatos relativa à soma das áreas de todos os picos presentes, determinada por GC-MS.

^b: Baseado em derivados de *O*-metilalditol acetatos.

Outro derivado importante que foi encontrado na fração foi o 2,3,6-Me₃-Glc, correspondente a unidades de Glc_p (1→4)-ligadas. Além disso, unidades de Glc_p substituídas em *O*-6 e 4,6-di-*O*-substituídas também podem ser observadas. Estas unidades podem ser

derivadas de glucanas, porém esta fração ainda passará por novas etapas de purificação para definir sua estrutura adequadamente.

Já o derivado 3-Me-Rha corresponde às unidades de Rha β (1 $\rightarrow$ 2)-ligadas substituídas em O-4, ou seja, representa o ponto de inserção da arabinogalactana na cadeia de RG-I.

Outra fração analisada foi a TAIKS10M, obtida a partir da extração de TAI com NaOH a 10% e sobrenadante após o processo de neutralização com ácido acético (ver fluxograma na **Figura 7**). A análise da composição monossacarídica (Quadro 4) mostrou que essa fração é composta principalmente por Ara (36,5%) e Xyl (33,2%). Na **Figura 18** pode ser observado o seu perfil de eluição por HPSEC. Em comparação com o perfil de eluição da fração TAIKS1M (**Figura 13**), é possível observar que a população de moléculas com maior massa, eluída entre 45 e 50 minutos, aumentou com a extração em solução de NaOH mais concentrada. Além disso, nota-se que a população de moléculas com menor massa, presente entre 50 e 60 minutos, diminuiu. Isso demonstra que a população de moléculas com maior massa molar é mais resistente à extração, necessitando de uma concentração de NaOH maior para serem solubilizadas.

Foi realizado também o mapa de correlação direta HSQC de TAIKS10M, que pode ser observado na **Figura 19**.

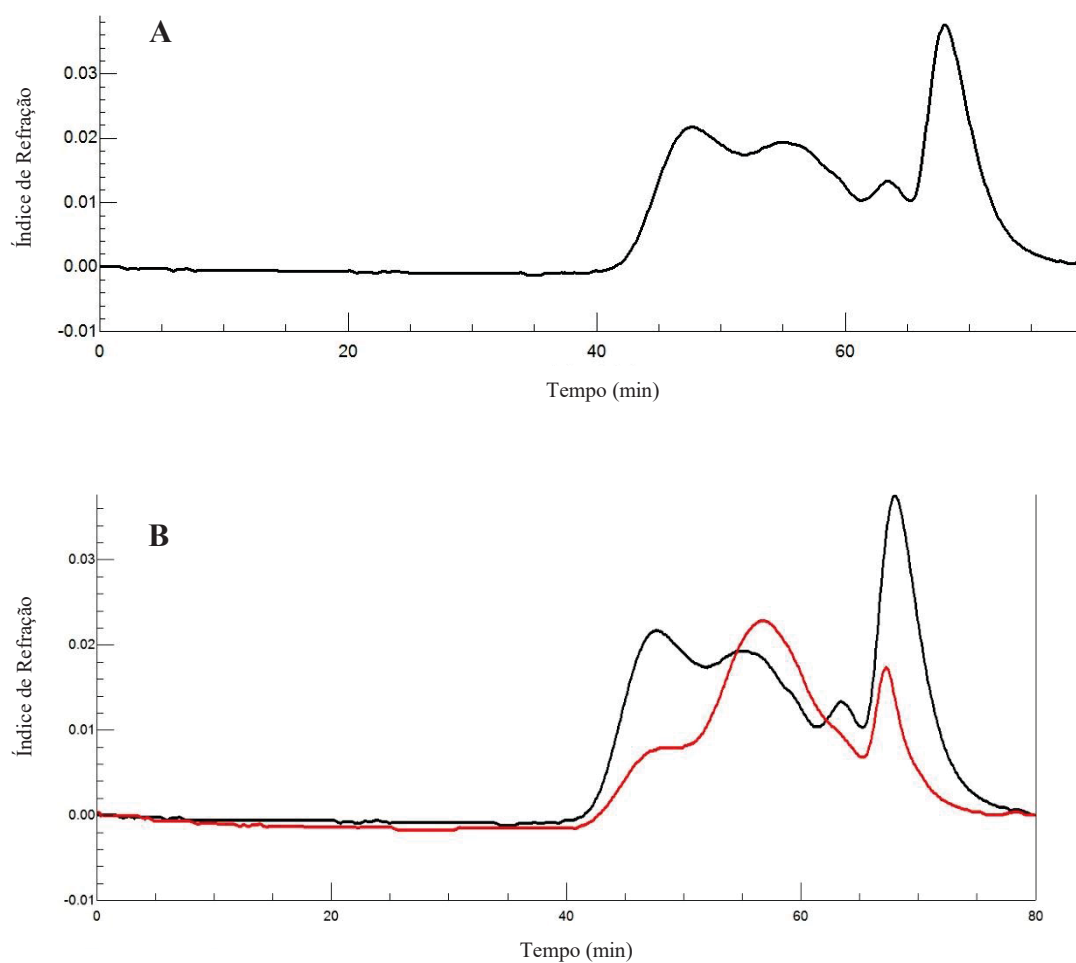


Figura 18- A) Perfil de eluição por HPSEC da fração TAIKS10M. Detector de índice de refração. B) Sobreposição dos perfis de eluição por HPSEC das frações TAIKS1M (em vermelho) e TAIKS10M (em preto). Detector de índice de refração

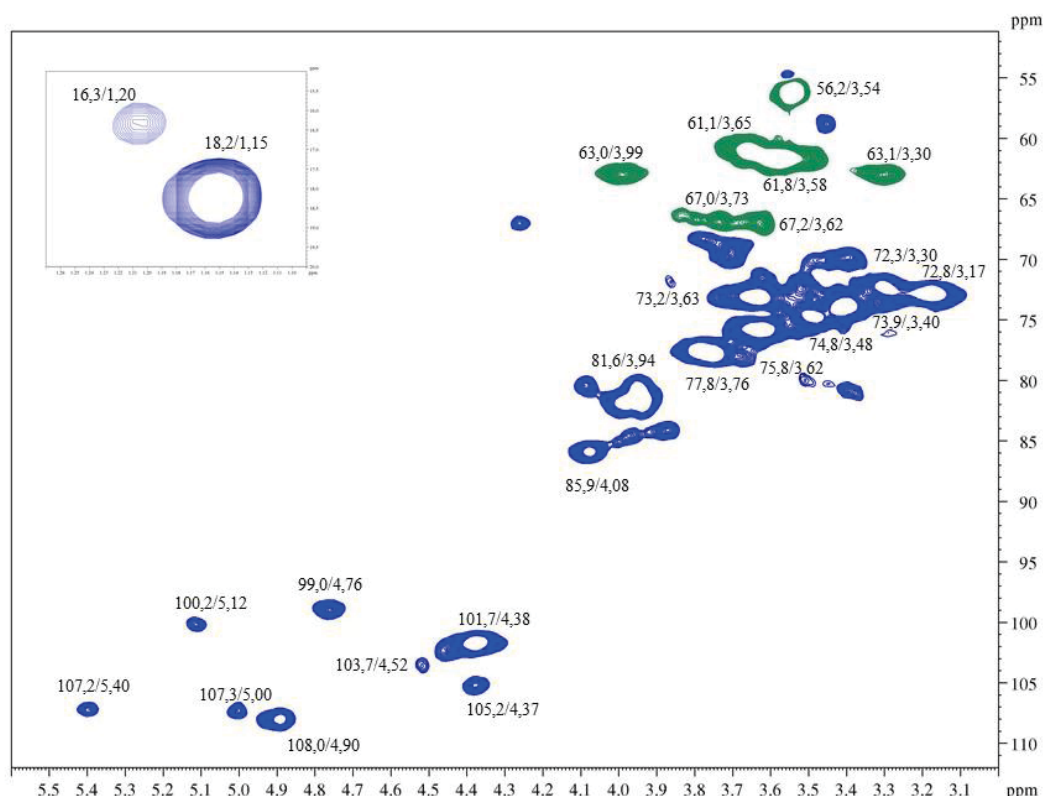


Figura 19- Mapa de correlação direta HSQC do sobrenadante da fração TAIKS10M em DMSO-d₆. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em ppm. Sinais em verde claro representam -CH₂- no HSQC-DEPT. Experimento realizado em DMSO-d₆, a 70 °C.

Os deslocamentos químicos δ 101,7/4,38, δ 72,8/3,17, δ 73,9/3,40, δ 75,8/3,62 e o invertido em δ 63,0/3,99 e δ 63,1/3,30 correspondentes ao C-1/H-1, C-2/H-2, C-3/H-3, C-4/H-4 e C-5/H-5 de unidades de β -D-Xylp substituídas em O-4 (CORDEIRO; ALMEIDA; IACOMINI, 2015).

Os sinais em δ 107,2/5,40 e δ 107,3/5,00 observados em campo baixo foram atribuídos ao C-1/H-1 de unidades de α -L-Araf (CANTU-JUNGLES et al., 2015; CHAVES, IACOMINI e CORDEIRO, 2019; POPOV et al., 2014). Verificou-se a presença do sinal δ 108,0/4,90 correspondente ao carbono anomérico de unidades de α -L-Araf (1 $\rightarrow$ 5) ligada, enquanto que os demais sinais do anel foram vistos em δ 81,6/3,94 (C-2/H-2), δ 77,8/3,76 (C-3/H-3), δ 85,9/4,08 (C-4/H-4) e δ 67,0/3,73 e δ 67,2/3,62 (C-5/H-5 substituído). Os sinais em δ 61,1/3,65 e δ

61,8/3,58 correspondem ao C5/H5 livres de unidades de α -L-Araf (CORDEIRO; ALMEIDA; IACOMINI, 2015; CAPEK et al., 2010; CANTU-JUNGLES et al., 2015; CHAVES, IACOMINI e CORDEIRO, 2019; DING et al., 2018; POPOV et al., 2014).

Os deslocamentos químicos δ 103,7/4,52 e δ 105,2/4,37 foram atribuídos ao C-1/H-1 de unidades de β -D-Galp (OVODOVA et al., 2009; SCHNEIDER et al., 2020; POPOV et al., 2014; CORDEIRO; ALMEIDA; IACOMINI, 2015). Além disso é possível observar o sinal de C-6/H-6 de α -L-Rhap em δ 16,3/1,20 e δ 18,2/1,15 (CANTU-JUNGLES 2017b, TAMIELLO-ROSA et al., 2019). O sinal em δ 56,0/3,81 foi atribuído à lignina (FERNANDÉZ-COSTAS et al., 2014; OLIVEIRA, 2015). Assim como na fração TAIKS1M, observa-se aqui a presença de uma arabinoxilana podendo estar misturada a uma arabinogalactana. Outros sinais anoméricos também foram observados, em δ 100,2/5,12 e δ 99,0/4,76, entretanto ainda não foram atribuídos a nenhuma unidade monossacarídica.

Como tentativa de purificação, utilizou-se a precipitação por reagente de Fehling (JONES; STOODLEY, 1965). Foram dissolvidos 1 g de TAIKS10M em 500 mL de água destilada para dar início ao tratamento, porém mesmo em agitação com aquecimento por 16 h, uma parte do material não ficou solúvel. Decidiu-se por centrifugar esse material e utilizou-se apenas o sobrenadante para o tratamento. O precipitado foi congelado e liofilizado tendo rendido 0,26 g, por consequência o sobrenadante correspondeu a 0,74 g. A precipitação por solução de Fehling desse material gerou o sobrenadante, obtido em maior rendimento e denominado TAIKS10M-SF (0,48 g) e o precipitado denominado TAIKS10M-PF (0,01 g). Ambas frações apresentam arabinose e xilose como principais monossacarídeos (**Tabela 4**).

O mapa de correlação HSQC da fração TAIKS10M-SF pode ser observado na **Figura 20A**.

É possível observar deslocamentos químicos semelhantes aos da fração de origem, TAIKS10M (**Figura 20B**), indicando a presença dos mesmos polissacarídeos, os quais são

predominantes nessa fração, como pode ser visto pelo seu alto rendimento quando comparada ao rendimento da fração TAIKS10M-PF. Esses polissacarídeos também foram observados na fração TAIKS1M.

Além disso, a fração TAIKS10M-PF também apresentou espectro de HSQC semelhante ao da fração TAIKS10M-SF, como pode ser observado na **Figura 20C**, que demonstra a sobreposição dos picos de ambas as frações. Esses resultados demonstram que a fração TAIKS10M apresenta como principal polissacarídeo uma arabinoxilana. Futuros experimentos ainda são necessários para purificar e caracterizar a estrutura química fina das arabinoxilanas presentes nas frações TAIKS1M e TAIKS10M.

Em se tratando do precipitado da extração alcalina a 10% (TAIKP10M), pode-se observar que é composta majoritariamente por xilose (91,7%) (**Tabela 4**). O seu mapa de correlação direta HSQC e r.m.n.-¹³C estão mostrados na **Figura 21 A e B**, respectivamente.

Pode-se verificar 5 sinais principais referentes às unidades de β -D-Xylp (1 $\rightarrow$ 4)-ligadas, em δ 102,0/4,38, δ 72,9/3,18, δ 74,3/3,40, δ 76,0/3,62 e em δ 63,4/3,30 e δ 63,4/3,99 (sinais invertidos) correspondem ao carbono anomérico, C-2/H-2, C-3/H-3, C-4/H-4 e C-5/H-5, respectivamente (CORDEIRO, ALMEIDA e IACOMINI, 2015).

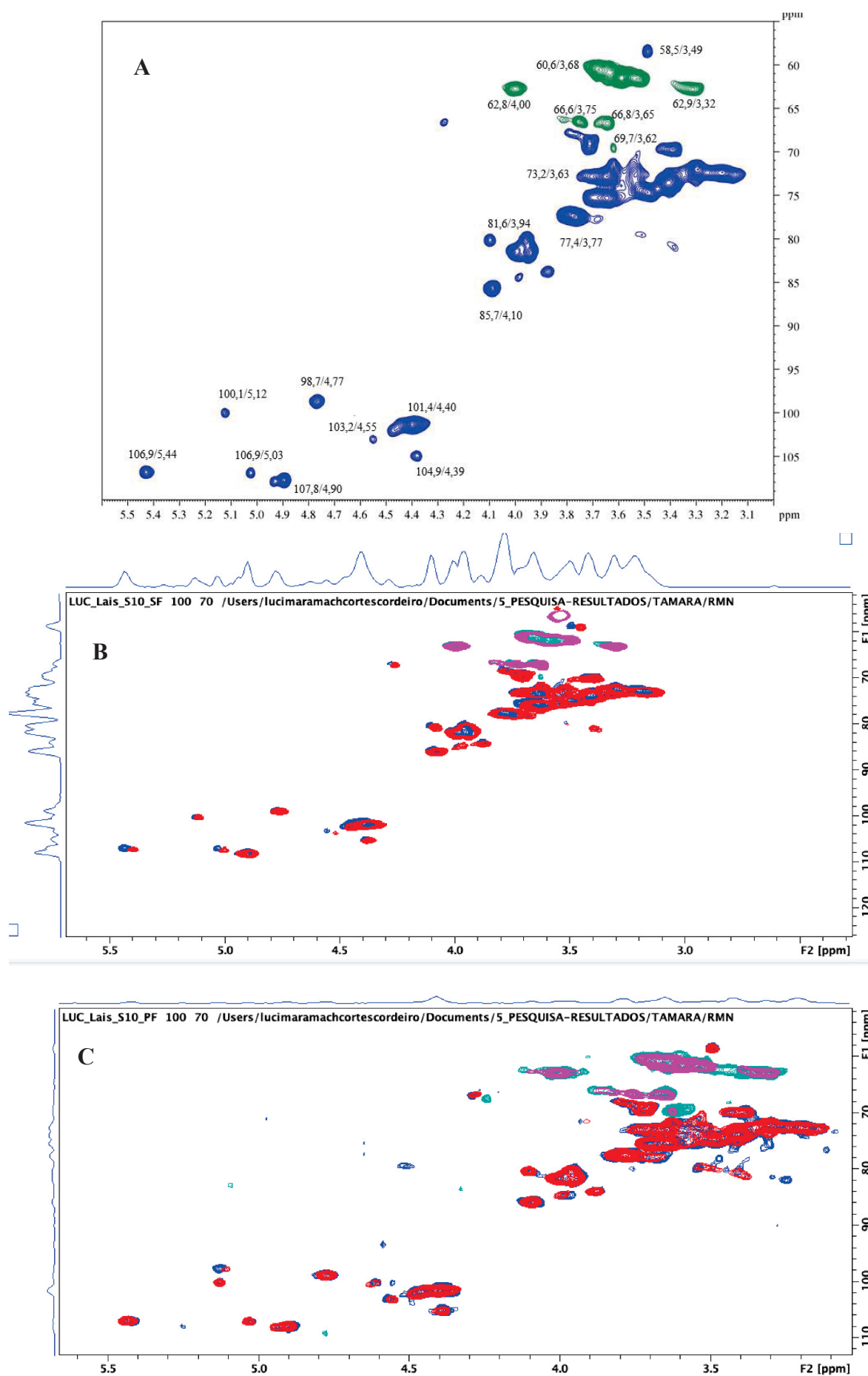


Figura 20- A) Mapa de correlação direta HSQC do sobrenadante da fração TAIKS10M-SF. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em ppm. Sinais em verde claro representam -CH₂- no HSQC-DEPT. Experimento realizado em DMSO-d₆, a 70 °C. B) Sobreposição dos mapas de correlação direta HSQC do sobrenadante da fração TAIKS10M-SF (em azul e verde) e da fração de origem TAIKS10M (em vermelho e rosa). C) Sobreposição dos mapas de correlação direta HSQC do sobrenadante da fração TAIKS10M-PF (em azul e verde) e da TAIKS10M-SF (em vermelho e rosa).

Também foi possível identificar os sinais correspondentes ao C-1/H-1, C-2/H-2 e C-4/H-4 de unidades de 4-*O*-Me- α -D-GlcpA em δ 97,8/5,15, δ 72,5/3,67, δ 82,1/3,26. Além disso o sinal δ 59,2/3,47 foi atribuído ao grupamento metil de 4-*O*-Me- α -D-GlcpA (CHAVES et al., 2020). O sinal em δ 56,4/3,54 pode ser atribuído à lignina (FERNANDÉZ-COSTAS et al., 2014; OLIVEIRA, 2015).

Esses dados sugerem a presença de uma xilana ácida constituída por unidades de β -D-Xylp (1 $\rightarrow$ 4)-ligada com cadeias laterais contendo unidades de 4-*O*-Me- α -D-GlcpA.

Em se tratando de outras espécies pertencentes à família Arecacea, podemos citar a presença de xilanas no açaí e no buriti. Uma xilana ácida com baixo grau de ramificação foi isolada do extrato alcalino do açaí. Enquanto que uma D-xilana (1 $\rightarrow$ 4)-ligada linear foi isolada do extrato alcalino do buriti (CANTU-JUNGLES et al, 2017c; CORDEIRO, ALMEIDA e IACOMINI, 2015).

Além disso, na extração alcalina dos folíolos e da raque das folhas da própria tamareira (*Phoenix dactylifera* L.) também já foi isolada uma β -D-xilana (1 $\rightarrow$ 4)-ligada com uma unidade de ácido 4-*O*-metil- α -D-GlcpA ligado em C-2 da cadeia principal (BENDAHOUE et al., 2007).

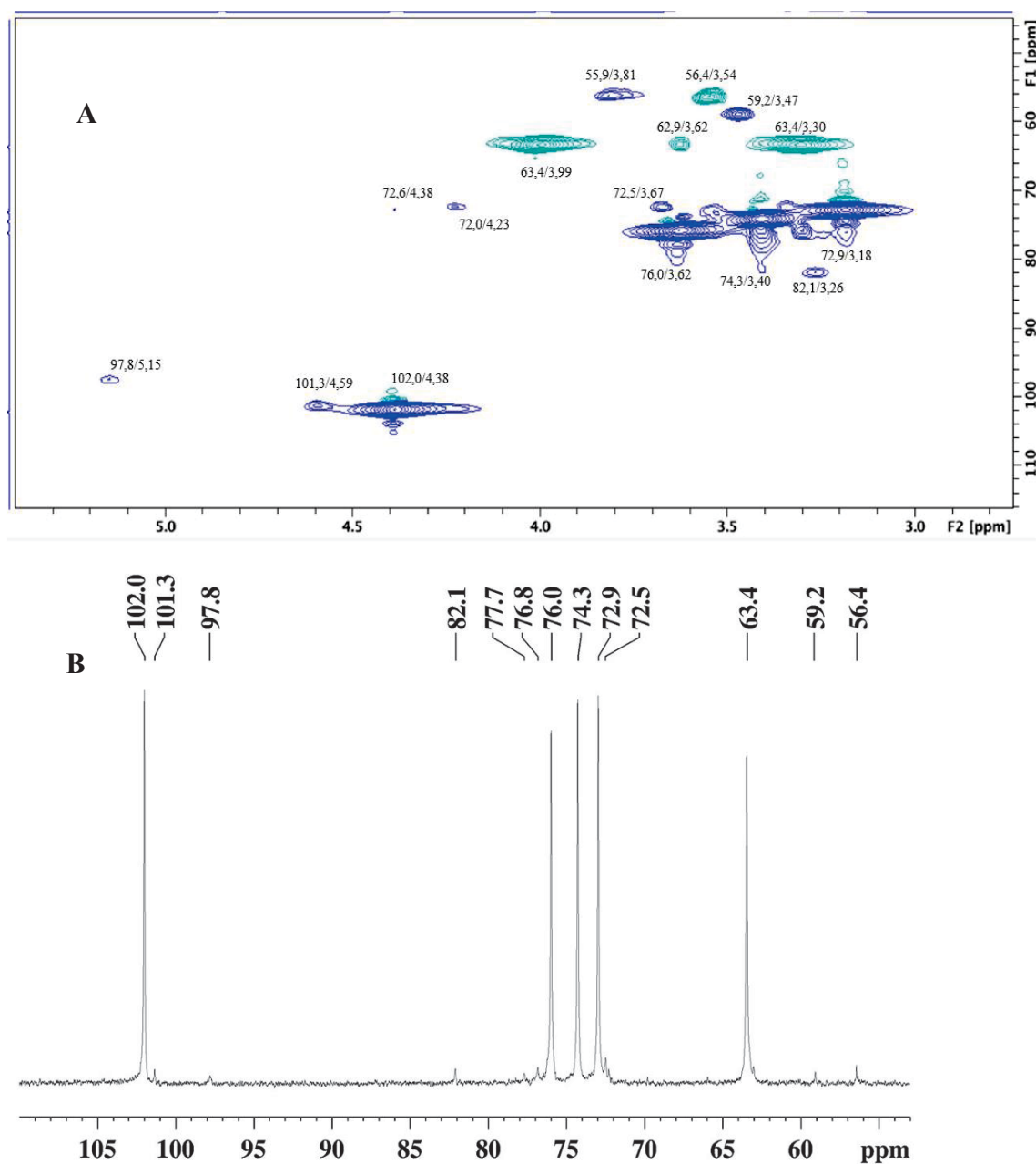


Figura 21- A) Mapa de correlação direta HSQC da fração TAIKP10M. Sinais em verde claro representam $-\text{CH}_2-$ no HSQC-DEPT. **B)** Espectro de r.m.n.- ^{13}C da fração TAIKP10M. Experimentos realizados em DMSO- d_6 , a 70 $^\circ\text{C}$. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em ppm.

6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos na presente dissertação, pode-se concluir que:

- A polpa das tâmaras (*Phoenix dactylifera L.*) apresentam 1,5% de fibras solúveis e 6,5% de fibras insolúveis em seu peso seco.
- As fibras solúveis extraídas deste fruto são compostas por pectinas com alto grau de metilesterificação, com domínios de homogalacturonana e arabinogalactana do tipo II.
- As fibras insolúveis são compostas por uma mistura de duas hemiceluloses, arabinoxilana e xilana ácida, assim como de arabinogalactana do tipo I e de lignina.
- Este é o primeiro relato na literatura científica da presença destes polissacarídeos na polpa das tâmaras.

A continuidade deste trabalho se faz necessária com a adoção de novos processos de purificação, a fim de se realizar a caracterização da estrutura química fina desses polissacarídeos.

REFERÊNCIAS

- AHMED, I. A.; AHMED, A.W.K.; ROBINSON, R.K. Chemical composition of date varieties as influenced by the stage of ripening. **Food Chemistry**, v. 54, n. 2, p. 305–309, 1995.
- ALAM, M. Z.; ALHEBSI, M.S.R., GHNIMI, S. KAMAL-ELDIN, A. Inability of total antioxidant activity assays to accurately assess the phenolic compounds of date palm fruit (*Phoenix dactylifera* L.). **NFS Journal**, v. 22, p. 32-40, 2021.
- AL-ALAWI, R. A.; AL-MASHIQRI, J. H.; AL-NADABI, J. S. M.; AL-SHIHI, B. I; BAQI, Y. Date Palm Tree (*Phoenix dactylifera* L.): Natural Products and Therapeutic Options. **Frontiers in Plant Science**. v. 8, p. 845, 2017.
- AL-FARSI, M.; ALASALVAR, C.; MORRIS, A.; BARON, M.; SHAHIDI, F. Compositional and sensory characteristics of three native sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman. **J Agric Food Chem**, v. 53, n. 19, p. 7586-91, 2005.
- AL-FARSI, M.; LEE, Chang. Nutritional and Functional Properties of Dates: a review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 48, n. 10, p. 877-87, 2008.
- AL-HOOTI, S; SIDHU, J. S.; AL-OTAIBI, J.; AL-AMEERI, H. Processing of some important date cultivars grown in United Arab Emirates into chutney and date relish. **J. Food Process Preservation**, v. 21, p. 55–68, 1997.

AL-SHAHIB, W.; MARSHALL, R. J. The fruit of the date palm: its possible use as the best food for the future? **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.54, n.4, p. 247-259, 2003.

ALI, A.; WALY, M.; ESSA, M. M.; DEVARAJAN, S. Nutritional and Medicinal Value of Date Fruit. In: Dates: Production, Processing, Food, and Medicinal Values.

MANICKAVASAGAN, A.; ESSA, M. M.; SUKUMAR, E (Ed.). **CRC Press**, UK, p. 361-371, 2012.

ASHRAF, Z., HAMIDI-ESFAHANI, Z. Date and date processing: a review. **Food Reviews International**, v. 27, n. 2, p. 101–133, 2011.

ASSIS, J. S.; MELO, N. F. de; QUEIRÓZ, M. A. de. Avaliação da qualidade dos frutos de quatro acessos de tamareiras (*Phoenix dactylífera* L.) do BAG da Embrapa Semi-Árido. In: QUEIRÓZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. (Eds.) **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste do brasileiro (on-line) versão 1.0**. Petrolina, Pernambuco: Embrapa Semi-Árido; Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999.

BENDAHO, A.; DUFRESNE, A.; KADDAMI, H.; HABIBI, Y. Isolation and structural characterization of hemicelluloses from palm of *Phoenix dactylífera* L. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, p. 601-608, 2007.

BRADFORD; M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BIGLARI, F.; ALKARKHI, A. F.M., EASA, A.M. Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. **Food Chemistry**, v. 107, p. 1636-1641, 2008.

BORCHANI, C.; BESBES, S.; BLECKER, C.; MASMOUDI, M.; BAATI, R.; ATTIA, H. Chemical properties of 11 date cultivars and their corresponding fiber extracts. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, p. 4096-4110, 2010.

BUCHANAN, B.B., GRUISSEM, W., JONES, R.L. Biochemistry and molecular biology of plants. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. 1367p.

CAFFALL, K. H.; MOHNEN, D. The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides. **Carbohydrate research**, v. 344, n. 14, p. 1879-900, 2009.

CANTU-JUNGLES, T. M.; FERREIRA, D. M.; SILVA, L. M. da; BAGGIO, C. H. ;

WERNER, M. F. de 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.

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.; CIPRIANI, T. R.; IACOMINI, M.; HAMAKER, B.
R.; CORDEIRO, L. M. C. 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, 2017a.

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 a monocotyledon palm. **Carbohydrate Polymers**, v. 158, p. 37-
43, 2017b.

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, 2017c.

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, 2017d.

CAPEK, P.; MATULOVÁ, M.; NAVARINI, L.; SUGGI-LIVERANI, F. Structural features of an arabinogalactan-protein isolated from instant coffee powder of *Coffea arabica* beans. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 180-185, 2010.

CAPUANO E. The behavior of dietary fiber in the gastrointestinal tract determines its physiological effect. **Crit Rev Food Sci Nutr.**, v. 57, n.16, p. 3543-3564, 2017.

CHAVES, P.; IACOMINI, M.; CORDEIRO, L. Chemical characterization of fructooligosaccharides, inulin and structurally diverse polysaccharides from chamomile tea. **Carbohydrate Polymers**, v. 214. p.269-275, 2019.

CHENGXIAO, Y.; DONGMEI, W.; KAI, Z.; HOU, L.; XIAO, H.; DING, T.; LIU, D.; YE, X.; LINHARDT, R.J.; CHEN, S. Challenges of pectic polysaccharides as a prebiotic from the perspective of fermentation characteristics and anti-colitis activity. **Carbohydrate polymers**. v. 270. 2021.

CIUCANU, J.; KEREK, F. A simple and rapid method for the permethylation of carbohydrates. **Carbohydr. Res.**, v. 131, p. 209-217, 1984.

CIPRIANI, T. R.; MELLINGER, C. G.; DE 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, p. 361-363, 2009.

CORDEIRO, L.M.C.; REINHARDT, V. F.; BAGGIO, C. H.; WERNER, M. F. P; BURCI, L. M.; SASSAKI, G. L.; IACOMINI, M. Arabinan and arabinan-rich pectic polysaccharides from quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds: Structure and gastroprotective activity. **Food Chemistry**, v. 130, p. 937-944, 2012.

CORDEIRO, L. M., ALMEIDA, C. P. de, 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.

CUI, S. W. (ed). **Food Carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications**. Boca Raton: CRC Press/Taylor and Francis Group, 2005.

DELGOBO, C. L.; GORIN, P. A.; TISCHER, C. A.; IACOMINI, M. The free reducing oligosaccharides of angico branco (*Anadenanthera colubrina*) gum exudate: an aid for structural assignments in the heteropolysaccharide. **Carbohydr Res**, v. 320, p. 167-75, 1999.

DENCE, C. W.; REEVE, D. W. **Pulp Bleaching - Principles and Practice**. Atlanta: Tappi Press, 1996.

DEY, P.; HARBORNE, J. **Plant Biochemistry**. London: Academic Press. 1997.

DOURADO, F.; CARDOSO, S.; SILVA, A.; GAMA, F.; COIMBRA, M. NMR structural elucidation of the arabinan from *Prunus dulcis* immunobiological active pectic polysaccharides. **Carbohydrate Polymers**, v. 66, p. 27-33, 2006.

ECHEGARAY, N.; PATEIRO, M.; GULLÓN, B.; AMAROWICZ, R.; MISIHAIRABGWI, J.; LORENZO, J. M. Phoenix dactylifera products in human health – A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 105, p. 238-250, 2020.

EBRINGEROVÁ, A.; HROMÁDKOVÁ, Z.; HEINZE, T. Hemicellulose. In: HEINZE, T. (ed) **Polysaccharides I: structure, characterization and use**. Advances in Polymer Science. v. 186. Berlin: Springer, 2005. p. 1-67.

ELLEUCH, M.; BESBES, D; ROISEUX, O.; BLECKER, C.; DEROANNE, C.; DRIRA, N.; ATTIA, H. Date flesh: Chemical composition and characteristics of the dietary fibre. **Food Chemistry**, v. 111, p. 676-682, 2008.

EL-FAR, A.; OYINLOYE, B.; SEPEHRIMANESH, M.; GABALLAH, M.; ABU-REIDAH, I.; SHAHEEN, H.; JAHROMI, I.; ALSENOSY, A.; NORELDIN, A.; AL JAOUNI, S.; MOUSA, S. Date Palm (Phoenix dactylifera): Novel Findings and Future Directions for Food and Drug Discovery. **Current Drug Discovery Technologies**, v. 15, n. 2., p. 1-11, 2018.

ERSKINE, W. MOUSTAFA, A. T.; OSMAN, A. E.; LASHINE, Z.; NEJATIAN, A.; BADAWI, T.; RAGY, S. M. **Date palm in the GCC countries of the Arabian Peninsula**. 2011. Disponível em: <<http://www.icarda-aprp.org/datepalm/introduction/intro-body.htm>>. Acesso em: 09 Jan. 2020.

FILISSETTI-COZZI, T. M. C. C.; CARPITA, N. C. Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. **Anal. Biochem.**, v, 197, p. 157-162, 1991.

FAO/WHO Food Standards Programme CODEX Alimentarius Commission Codex Alimentarius (CODEX). **Guidelines on Nutrition Labelling CAC/GL 2–1985 as last amended 2017**. Rome (Italy): FAO. 2017.

FELISBERTO, M. H. F.; BERALDO, A. L.; SENTONE, D. T.; KLOSTERHOFF, R. R.; CLERICI, M. T. P. S.; CORDEIRO, L. M. C.. Young culm of *Dendrocalamus asper*, *Bambusa tuldoidea* and *B. Vulgaris* as source of hemicellulosic dietary fibers for the food industry, **Food Research International**, v. 140, 2021.

FERNANDÉZ-COSTAS, C. et al. Structural characterization of Kraft lignins from different spent cooking liquors by 1D and 2D Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy. **Biomass and Bioenergy**, v. 63, p. 156–166, 2014.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION CORPORATE STATISTICAL DATABASE (FAOSTAT). **Top 10 Country Production of Dates**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity>. Acesso em: 23 Ago. 2021.

GAWKOWSKA, D.; CYBULSKA, J.; ZDUNEK, A. Structure-Related Gelling of Pectins and Linking with Other Natural Compounds: A Review. **Polymers**, v. 10, n. 762, p.1-25, 2018.

GEORGE, N.; ANDERSSON, A. A. M.; ANDERSSON, R.; KAMAL-ELDIN, A. Lignin is the main determinant of total dietary fiber differences between date fruit (*Phoenix dactylifera* L.) varieties. **NFS Journal**, v. 21, p. 16-21, 2020.

GERSCHENSON, L. N. The production of galacturonic acid enriched fractions and their functionality. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 23-30, 2017.

GRASDALEN, H.; BAKØI, O. E.; LARSEN, B. Determination of the degree of esterification and the distribution of methylated and free carboxyl groups in pectins by ¹H-NMR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, v. 184, p. 183-191, 1988.

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, n. 2, p. 167–179, 1997.

HARRIS, P. J. Diversity in plant cell walls. In: HENRY, R.J. (Ed.). **Plant Diversity and Evolution: Genotypic and Phenotypic Variation in Higher Plants**. CAB International, pp. 201-227, 2005.

HE, X.; LU, W.; SUN, C.; KHALESİ, H.; MATA, A.; ANDALEEB, R.; FANG, Y. Cellulose and cellulose derivatives: different colloidal states and food-related applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 255. 2021.

HIPSLEY, E. H. Dietary “fibre” and pregnancy toxemia. **Brit. Med. J.**, v.2, p. 420–422, 1953.

HUSSAIN, M. I.; FAROOQ, M.; SYED, Q. A. Nutritional and biological characteristics of the date palm fruit (*Phoenix dactylifera* L.): a review. **Food Bioscience**. v. 34. 2020.

ISHURD, O.; SUN, C.; XIAO, P.; ASHOUR, A.; PAN, Y. A neutral beta-D-glucan from dates of the date palm, *Phoenix dactylifera* L. **Carbohydr Res.**, v. 337, n. 14, p. 1325-8, 2002.

ISHURD, O., KENNEDY, J. F. The anti-cancer activity of polysaccharide prepared from Libyan dates (*Phoenix dactylifera* L.). **Carbohydrate Polymers**, v. 59, n. 4, p. 531–535, 2005.

ISHURD, O.; ZGHEELA, F.; KERMAGIA, A; FLEFLEAA, N.; ELMABRUKA, M.; KENNEDY, J.; ASHOUR. A. (1→3)-β-D-Glucans from Libyan Dates (*Phoenix dactylifera* L.) and Their Anti-cancer Activities. **Journal of Biological Sciences**, v.7, p. 554-557, 2007.

ISMAIL, B.; HAFFAR, I.; BAALBAKI, R.; MECHREF, Y.; HENRY, J. Physico-chemical characteristics and total quality of five date varieties grown in United Arab Emirates. **International Food Science and Technology**, v. 41, p. 919–926, 2006.

JIN, M.; LI, M.; HUANG, R.; WU, X.; SUN, Y.; XU, Z. Structural features and anti-inflammatory properties of pectic polysaccharides: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v.107. p. 284-298, 2021.

JONES, J. K. N.; STOODLEY, R. J. Fractionation using copper complexes. **Methods Carbohydr. Chem.**, v. 5, p. 36-38, 1965.

KLOSTERHOFF, R.R.; BARK, J.M.; GLÄNZEL, N.M.; IACOMINI, M.; MARTINEZ, G.R.; WINNISCHOFER, S.M.B.; CORDEIRO, L.M.C. Structure and intracellular antioxidant activity of pectic polysaccharide from acerola (*Malpighia emarginata*). **Int J Biol Macromol.**, v. 106, p. 473-480, 2018.

KUMAR, M.; TOMAR, M.; SAURABH, V.; SASI, M.; PUNIA, S.; POTKULE, J.; MAHESHWARI, C.; CHANGAN, S.; RADHA; BHUSHAN, B.; SINGH, S.; ANITHA, T.S.; ALAJIL, O.; SATANKAR, V.; DHUMAL, S.S.; AMAROWICZ, R.; KAUR, C.; SHARIFI-RAD, J.; KENNEDY, J.F. Delineating the inherent functional descriptors and biofunctionalities of pectic polysaccharides. *Carbohydrate polymers*. v. 269, 2021.

LEE, S.C.; PROSKY, L.; VRIES, J. W. de. Determination of total, soluble and insoluble dietary fiber in foods. Enzymatic-gravimetric method, MES-TRIS Buffer: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 75, n.3, p. 395-416, 1992.

LEIVAS, C. L.; IACOMINI, M.; CORDEIRO, L. M. Pectic type II arabinogalactans from starfruit (*Averrhoa carambola* L.). **Food Chem**, v., p.252-7, 2016.

LIU, D.; TANG, W.; YIN, J. Y.; NIE, S. P.; XIE, M. Y. Monosaccharide composition analysis of polysaccharides from natural sources: Hydrolysis condition and detection method development. **Food Hydrocolloids**, v. 116, 2021.

MARTIN, A. A.; FREITAS, R. A. de; SASSAKI, G. L.; EVANGELISTA, P. H. L.; SIERAKOWSKI, M. R. Chemical structure and physical-chemical properties of mucilage from the leaves of *Pereskia aculeata*. **Food Hydrocolloids**, v. 70, p. 20-28, 2017.

MARTÍNEZ, M.; PINTO, G. L. de; SANABRIA, L.; BELTRÁN, O.; IGARTUBURU, J. M.; BAHSAS, A. Structural features of an arabinogalactan gum exudates from *Spondias dulcis* (Anacardiaceae). **Carbohydr Res.**, v. 338, n. 7, p. 619-24, 2003.

MCNAUGHT, A. D. International Union of Pure and Applied Chemistry and International Union of Biochemistry and Molecular Biology. Joint Commission on Biochemical Nomenclature. Nomenclature of carbohydrates. **Carbohydr Res.** v. 297, n. 1, p. 1-92, 1997.

MRABET, A.; ARCOS, R. R.; GUILLEN, R.; CHAIRA, N.; FERCHICHI, A.; JIMÉNEZ, A. Dietary Fiber from Tunisian Common Date Cultivars (*Phoenix dactylifera* L.): Chemical Composition, Functional Properties, and Antioxidant Capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 2, p. 3658-64. 2012.

MONOBE, M.; EMA, K.; KATO, F.; MAEDA-YAMAMOTO, M. Immunostimulating activity of a crude polysaccharide derived from green tea (*Camellia sinensis*) extract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 1423-1427, 2008.

NASCIMENTO, G.; HAMM, L.; BAGGIO, C.; WERNER, M.; IACOMINI, M.; CORDEIRO, L. Structure of a galactoarabinoglucuronoxylan from tamarillo (*Solanum*

betaceum), a tropical exotic fruit, and its biological activity. **Food Chemistry**, v. 141, p. 510-6, 2013.

NASCIMENTO, G. E. do; CORSO, C. R.; WERNER, M. F. de P.; BAGGIO, C. H.; IACOMINI, M.; CORDEIRO, L. M. C. Structure of an arabinogalactan from the edible tropical fruit tamarillo (*Solanum betaceum*) and its antinociceptive activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 116, p. 300-306, 2015.

NASCIMENTO, G. E.; IACOMINI, M.; CORDEIRO, L. M. C. New findings on green sweet pepper (*Capsicum annum*) pectins: Rhamnogalacturonan and type I and II arabinogalactans. **Carbohydrate Polymers**, v. 171, p. 292-299, 2017.

OCHOA-VILLARREAL, M.; AISPURO-HERNÁNDEZ, E.; VARGAS-ARISPURO, I.; MARTÍNEZ-TÉLLEZ, M. Á. **Plant Cell Wall Polymers: Function, Structure and Biological Activity of Their Derivatives**, 2012.

OLIVEIRA, F. de C. Oxidação de lignina proveniente de resíduos lignocelulósicos agroindustriais para obtenção de compostos químicos aromáticos de maior valor agregado. 2015. 54 f. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, Pós- Graduação em Biotecnologia Industrial, São Paulo. 2015.

OVODOVA, R. G.; GOLOVCHENKO, V. V.; POPOV, S. V.; POPOVA, G. Y.; PADERIN, N. M.; SHASHKOV, A. S.; OVODOV, Y. S. Chemical composition and anti-inflammatory activity of pectic polysaccharide isolated from celery stalks. **Food Chemistry**, v. 114, p. 610-615, 2009.

PAULSEN, B. S.; BARSETT, H. Bioactive pectic polysaccharides. In: HEINZE, T.

Polysaccharides 1: Structure, Characterization and Use. Berlin: Springer, p. 69–101, 2005.

PEREZ, S.; MAZEAU, K.; PENHOAT, C. The three-dimensional structures of the pectic polysaccharides. *Plant Physiology and Biochemistry*. **Plant Physiol Biochem**, v. 38, p. 37-55, 2000.

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.

POPOV, S. V.; OVODOVA, R. G.; GOLOVCHENKO, V. V.; KHRAMOVA, D. S.; MARKOV, P. A.; SMIRNOV, V. V.; SHASHKOV, A. S.; OVODOV, Y. S. Pectic polysaccharides of the fresh plum *Prunus domestica* L. isolated with a simulated gastric fluid and their anti-inflammatory and antioxidant activities. **Food Chemistry**, v. 143, p. 106-113, 2014.

RENARD, C. M. G. C.; LAHAYE, M.; MUTTER, M.; VORAGEN, F. G. J.; THIBAUT, J. F. Isolation and structural characterisation of rhamnogalacturonan oligomers generated by controlled acid hydrolysis of sugar-beet pulp. **Carbohydrate Research**, v. 305, p. 271-280, 1998.

SAHARI, M. A.; BARZEGAR, M.; RADFAR, R. Effect of varieties on the composition of dates (*Phoenix dactylifera* L.) Note. **Food Science and Technology International**, v. 13, n. 4, p. 269–275, 2007.

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. **Carbohydr. Res.**, v. 340, p. 731-739, 2005.

SCHELLER, H. V.; ULVSKOV, P. Hemicelluloses. **Plant Biology**, v. 61, n. 1, p. 263, 2010.

SCHNEIDER, V. S.; BARK, J.M.; WINNISCHOFER, S. M. B.; SANTOS, E. F.; IACOMINI, M.; CORDEIRO, L. M. C. Dietary fibres from guavira pomace, a co-product from fruit pulp industry: Characterization and cellular antioxidant activity. **Food Research International**, v. 132, 2020.

SHAFIEI, M.; KARIMI, K.; TAHERZADEH, M. J.. Palm date fibers: analysis and enzymatic hydrolysis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, p. 4285–4296, 2010.

SHIGA, T. M.; CARPITA, N. C.; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI-LYSENKO, B. R. Two banana cultivars differ in composition of potentially immunomodulatory mannan and arabinogalactan. **Carbohydrate Polymers**, v. 164, p. 31-41, 2017.

SIDDIQ, M.; GREIBY, I. Overview of Date Fruit Production, Postharvest handling, Processing, and Nutrition. *In*: SIDDIQ, M. (ed.). **Dates: Postharvest Science, Processing Technology and Health Benefits**. John Wiley & Sons: Oxford , p. 1-28. 2013.

SILVA, B. P., SILVA, G. M., & PARENTE, J. P. Chemical properties and adjuvant activity of a galactoglucomannan from *Acrocomia aculeata*. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, p. 380–384, 2009.

SILVA, B. P.; PARENTE, J. P. An anti-inflammatory and immunomodulatory polysaccharide from *Orbignya phalerata*. **Fitoterapia**, v. 72, p. 887–893, 2001.

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

SILVA, B. P.; PARENTE, J. P. Chemical properties and antiulcerogenic activity of a galactomannoglucan from *Syagrus oleraceae*. **Food Chemistry**, v. 123, p. 1076–1080, 2010b.

SIMAS-TOSIN, F. F.; ABUD, A. P.; OLIVEIRA, C. C. de; GORIN, P. A.; SASSAKI, G. L.; BUCCHI, D. F.; IACOMINI, M. Polysaccharides from peach pulp: structure and effects on mouse peritoneal macrophages. **Food Chem**, v. 134, n. 4, p. 2257-60, 2012.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods Enzymol.**, v. 299, p.152–178, 1999.

SPIRIDON, I.; POPA, V. Hemicelluloses: major sources, properties and applications. In: BELGACEM, N.; GANDINI, A. **Monomers, polymers and composites from renewable resources**. Elsevier. 2008. 400 p.

TALEB, H.; MADDOCKS, S.; MORRIS, K.; KANEKANIAN, A. Chemical characterisation and the anti-inflammatory, anti-angiogenic and antibacterial properties of date fruit (*Phoenix dactylifera* L.). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 194, p. 457-468, 2016.

TAMIELLO, C. S.; NASCIMENTO, G.; IACOMINI, M.; CORDEIRO, L. Arabinogalactan from edible jambo fruit induces different responses on cytokine secretion by THP-1 macrophages in the absence and presence of proinflammatory stimulus. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 35-41, 2018.

TAMIELLO-ROSA, C.; JUNGLES, T.; IACOMINI, M. CORDEIRO, L. Pectins from cashew apple fruit (*Anacardium occidentale*): Extraction and chemical characterization. **Carbohydrate Research**, v. 483, 2019.

TAYLOR, R. L.; CONRAD, H. E. Steichiometric depolymerization of polyuronides and glycosaminoglycuronans to monosaccharides following reduction of their carbodiimide-activated carboxyl groups. **Biochemistry**, v. 11, p. 1383-1388, 1972.

WEICKERT, M. O.; PFEIFFER, A. F. H. Impact of Dietary Fiber Consumption on Insulin Resistance and the Prevention of Type 2 Diabetes. **J Nutr.**, v. 148, n. 1, p. 7-12, 2018.

WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. Reduction with sodium borohydride. **Methods in Carbohydrate Chemistry**, v. 2, p. 65-67, 1963a.

WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. Acetylation. **Methods in Carbohydrate Chemistry**, v. 2, p. 211-215, 1963b.

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. **Annu Rev Food Sci Technol**, v. 7, p.167-90, 2016.

YAHMED, N. B.; DAUPTAIN, K.; LAJNEF, I.; CARRERE, H.; TRABLY, E.; SMAALI, I. New sustainable bioconversion concept of date by- products (*Phoenix dactylifera* L.) to biohydrogen, biogas and date-syrup. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 46, p. 297-305, 2021.

ZIHAD, S. M. N. K.; UDDIN, S. J.; SIFAT, N.; LOVELY, F.; ROUF, R.; SHILPI, J. A.; SHEIKH, B. Y.; GÖRANSSON, U. Antioxidant properties and phenolic profiling by UPLC-QTOF-MS of Ajwah, Safawy and Sukkari cultivars of date palm. **Biochem Biophys Rep**, v.25, 2021.