



Caracterización de polisacáridos de jugo de uva retenidos mediante microfiltración a tres diferentes presiones de membrana

Characterization of grape juice polysaccharides retained by microfiltration at three different transmembrane pressures

Zúñiga, E.^{a*}, León, G.^a, Cancino, B.^b, Matsuhiroc, B.^c, Ravanal, M.C.^{d*}

^a Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Metropolitana de Ciencias en la Educación, Avenida José Pedro Alessandri 774, Ñuñoa, Santiago, Chile.

^b INPROMEM (Research in Membrane Processes), Carrera 241, Villa Alemana, Chile.

^c Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Av. L. B. O'Higgins 3363, Santiago, Chile.

^d Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Avda. Julio Sarrazín s/n, Isla Teja, Valdivia, Chile.

ARTICLE INFO

Keywords:

Carbohydrates
Bioactive compounds
Juice
Microfilter

Review,

Food Processing and Quality

*Corresponding author:

Elisa Zúñiga;
María Cristina Ravanal
E-mail address:
elisa.zuniga@umce.cl;
maria.ravanal@uach.cl

ABSTRACT

Bioactive polysaccharides were isolated from commercial grape juice by a fractionation process via membrane microfiltration. An increase in transmembrane pressure during microfiltration achieved doubling the production of Fractions Enriched in Polysaccharides [FEPS] and the amount of total carbohydrates, and triplicate the protein content. Infrared spectroscopy showed that the initial samples and the concentrates were composed by acidic and neutral polysaccharides. FEPS fractionation by cetrimide precipitation confirmed the presence of arabinogalactan in the neutral fraction and an acidic fraction, as well as the decrease of protein content. Grape juices maintain the presence of bioactive polysaccharides associated with dietary fiber, which were concentrated by microfiltration operation in amounts that would make them a good source of fiber, positioning them as a healthy food.

RESUMEN

Se caracterizaron los polisacáridos bioactivos presentes en un jugo de uva comercial obtenidos en el proceso de fraccionamiento mediante microfiltración a diferentes ΔP de membrana. Un aumento en la presión transmembrana de la operación de microfiltración logró duplicar el rendimiento de Fracciones Enriquecidas en Polisacáridos [FEPS] y la cantidad de hidratos de carbono totales y triplicar el contenido de proteínas. La espectroscopía infrarroja permitió observar que las muestras iniciales y los concentrados estaban constituidas por polisacáridos ácidos y neutros. El fraccionamiento de las FEPS en polisacáridos ácidos y neutros, permitió confirmar la presencia mayoritaria de arabinogalactanos en la fracción neutra y una fracción ácida, así como la disminución del contenido de proteínas permitiendo una mejor resolución estructural de los polisacáridos estudiados. Los jugos de uva mantienen la presencia de polisacáridos bioactivos asociados a fibra dietética, los que fueron concentrados mediante la operación de microfiltración en cantidades que le permitirían ser un alimento con características de buena fuente de fibra y potenciándolo como un alimento saludable.

Palabras clave: carbohidratos, compuestos bioactivos, jugo, microfiltro.

INTRODUCCIÓN

Con el propósito de mejorar la calidad de la alimentación, el mercado busca la producción de alimentos con características saludables y propiedades funcionales (Lovstad y Kraan, 2011; Helkar *et al.*, 2016). Dentro de estos productos se encuentran los jugos en base a

fruta, que contienen compuestos bioactivos (vitaminas, polifenoles, fibra, etc.) (Morales-de la Peña *et al.*, 2011; Bhardwaj *et al.*, 2014).

La uva (*Vitis vinifera* L.) es uno de los productos agrícolas más importantes de Chile. En la temporada 2017 las exportaciones de uva de mesa alcanzaron las 730.264 toneladas (ASOEX, 2017). Las uvas rojas o ne-

gras, se han destacado por ser ricas en componentes con actividades biológicas saludables, como polifenoles (Lima y Prado, 2012; de la Cerda-Carrasco *et al.*, 2015; Nassiri-Asl y Hosseinzadeh, 2016) y fibras, presentes en la piel y en la pulpa (Vidal *et al.*, 2003; Deng *et al.*, 2011; Yilmaz *et al.*, 2015; Rodrigues y Queiroz, 2016).

De lo anterior, resulta altamente esperable considerar la opción de acceder a estos compuestos benéficos en jugos de uva.

Los compuestos bioactivos son compuestos producidos en la naturaleza y de los que se ha demostrado tienen un efecto sobre la salud humana (Biesalski *et al.*, 2009; Hyson, 2015). Uno de los compuestos bioactivos que ha ingresado con fuerza al mercado nacional de los alimentos en el último tiempo, es la fibra dietética, la que se define como la parte comestible de las plantas, constituida por hidratos de carbono complejos, que son resistentes a la digestión, y no son absorbidos en el intestino delgado, pudiendo ser fermentadas en forma completa o parcial en el intestino grueso por la flora intestinal (Li y Komarek, 2017). Para propósitos funcionales y tecnológicos, la fibra dietética es a menudo clasificada de acuerdo con su solubilidad (Dai y Chau, 2017). Las fibras en conjunto se asocian a distintas bioactividades, se ha demostrado que la adsorción del NO₂ y ácidos biliares puede prevenir el cáncer (O'Keefe, 2016), y la hipertensión arterial (Jovanovski *et al.*, 2016). Además, pueden ayudar a reducir la tasa de absorción de la glucosa, los niveles de colesterol total y triglicéridos (Chandalia *et al.*, 2000; Jenkins *et al.*, 2002). El consumo de fibra también puede prevenir enfermedades cardíacas y cardiovasculares, el estreñimiento, y al inhibir la síntesis de ácidos grasos hepáticos permite mantener estable los niveles de azúcar en la sangre después de las comidas, muy importante para personas diabéticas (Brownlee, 2011; Dahl y Stewart, 2015). Dadas las propiedades saludables de la fibra dietética, es importante mantenerlas como compuestos bioactivos en la elaboración de alimentos en base a frutas y verduras, como el jugo de uva.

El objetivo principal del trabajo fue caracterizar los polisacáridos bioactivos presentes en un jugo de uva comercial obtenidos en el proceso de fraccionamiento con sistemas de filtración.

MATERIAL Y MÉTODOS

Jugo de uva

Se analizó un jugo de uva nacional obtenido en el comercio que declara en su etiqueta ser 100% jugo de uva (jugo Marca AFE). Este se sometió a un proceso de microfiltración a diferentes presiones con membranas de cerámica TAMI cut-off: 0,2 µm. (Figura 1).

Estudio del efecto de la presión en el proceso de fraccionamiento

El proceso de fraccionamiento se realizó a diferentes presiones (0,64; 1,25 y 1,95 bar).

Las masas de permeado se recolectaron a los 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 110, 120, 130, 140 min. Además, simultáneamente se tomaron alícuotas de 13 mL del concentrado a los 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120 y 140 min. Estas alícuotas se guardaron congeladas.

Obtención de las Fracciones Enriquecidas en Polisacáridos (FEPS)

Las muestras de jugo de uva concentradas, obtenidas en el punto anterior, se descongelaron a temperatura ambiente, y se llevaron a sequedad por evaporación a presión reducida a una temperatura no mayor de 35 °C, para determinar el contenido en masa seca. Luego, la muestra se reconstituyó y se eliminaron las moléculas de bajo tamaño por diálisis contra agua destilada, la solución retenida en la membrana de diálisis se congeló y se liofilizó (FEPS) para su posterior caracterización.

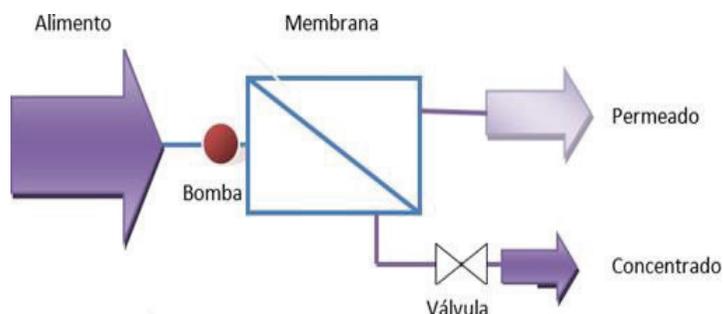


Figura 1. Representación esquemática de un proceso de separación por membrana.

Figure 1. Schematic representation of a membrane separation process.

Análisis de las Fracciones Enriquecidas en Polisacáridos (FEPS)

Determinación de hidratos de carbono totales

La determinación del contenido de hidratos de carbono totales en las FEPS se realizó a través del método del fenol-ácido sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956). A 0,5 mL de cada muestra (0,2 mg/mL) se agregaron 0,5 mL de fenol 5% y 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. La mezcla se incubó por 20 min y se midió la absorbancia a 490 nm. Cada una de las muestras se realizó por triplicado en un espectrofotómetro de doble emisión (Thermo Spectronic Genesys 5, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Se utilizó una curva de calibración con D-galactosa.

Determinación del contenido de proteínas totales

La determinación del contenido de proteínas se realizó mediante el método Bradford (Bradford, 1976). A 0,8 mL de cada muestra (0,4 mg/mL), se agregaron 0,2 mL de reactivo de Bradford. La mezcla se incubó por 5 minutos a temperatura ambiente y se midió la absorbancia a 595 nm. Cada una de las muestras se midió por triplicado. Se realizó una curva de calibración con albúmina de suero bovino.

Caracterización de las FEPS por técnicas espectroscópicas

La caracterización espectroscópica de las muestras se realizó por espectroscopía de IR-TF en pastillas de KBr, utilizando un equipo Bruker IFS66v (Bruker, Billerica, MA, USA). El secado de las muestras se realizó a presión reducida (1 mm Hg) a 50 °C. Los espectros se registraron en el intervalo de 4.000 - 400 cm^{-1} . Las segundas derivadas de los espectros se obtuvieron utilizando el programa Opus a OPUS/I.R. versión 1.44 incorporado al equipo (Matsuhira, 1996).

Fraccionamiento de las FEPS para la obtención de polisacáridos neutros y ácidos

El fraccionamiento se realizó con la precipitación selectiva de los polisacáridos en presencia de cetrimide, una sal de amonio cuaternaria (Scott, 1965). A una solución al 1% m/v de polisacáridos se le adicionó cetrimide (3% m/v bromuro de *N*-cetil-*N,N,N* tri-metilamonio). El precipitado obtenido se centrifugó por 20 minutos a 4500 g, esta fracción se denominó Fracción Insoluble (**PSI**, polisacáridos ácidos). El sobrenadante se denominó fracción soluble (**PS**, polisacáridos neutros). Ambas fracciones obtenidas se secaron por liofilización.

Caracterización química de las FEPS

Determinación de monosacáridos constituyentes de PS y PSI por cromatografía gas-líquido (CGL)

a) Preparación de los alditos peracetilados estándares:

La derivatización de los monosacáridos estándares (arabinosa, glucosa, galactosa, ramnosa y xilosa) para el análisis por cromatografía gas-líquido (CGL) se realizó a través de reducción a alditos y su posterior peracetilación (Aguirre *et al.*, 2009). Los monosacáridos (4,0 mg) se derivatizaron con 0,2 mL de 4-metilmorfolin-borano (MMB) al 0,8% y 0,8 mL de ácido trifluoroacético 3 M a 80 °C por 20 min (Stevenson y Furneaux, 1991). A la mezcla fría se adicionaron 0,2 mL de MMB (120 °C por 2 horas) y se evaporó hasta sequedad. Para la acetilación las muestras se trataron con 0,4 mL de ácido trifluoroacético concentrado y 0,4 mL de anhídrido acético y la mezcla se calentó a 50 °C por 20 min. Los derivados acetilados se extrajeron con una mezcla cloroformo:agua (1:1 v/v), la fase clorofórmica se lavó 3 veces con agua, posteriormente con bicarbonato de sodio (10% m/v) y finalmente con agua. Luego se secó con MgSO_4 anhidro, se filtró y se evaporó a sequedad con N_2 . El sólido obtenido se almacenó a una temperatura de -20 °C.

Los alditos peracetilados resultantes se analizaron por CGL, utilizando un cromatógrafo Shimadzu GC-14B equipado con un detector de ionización de llama y una columna capilar Ultra 2 (Hewlett-Packard) de 50 m de longitud, 0,2 mm de diámetro interno, 0,11 μm de espesor de película y un programa de tiempo inicial de 0 a 160 °C, posteriormente con velocidad de calentamiento del horno de 2 °C/min hasta 210 °C y finalmente con una velocidad de calentamiento de 5 °C/min hasta 240 °C, donde se mantuvo esta temperatura por 30 min.

b) Análisis de los monosacáridos constituyentes de los polisacáridos PS y PSI:

Los polisacáridos (10 mg) se sometieron a hidrólisis total con 2,0 M TFA a 120 °C por 2 horas, luego se concentraron en un evaporador rotatorio a presión reducida y el jarabe resultante se sometió a una reducción y acetilación según punto a). Los acetatos de alditos se analizaron por CGL. La asignación de las señales del cromatograma se realizó a través de los tiempos de retención y co-cromatografía con los estándares para cada monosacárido obtenidos en el punto a).

Determinación de la homogeneidad de los polisacáridos PS y PSI

La homogeneidad de los polisacáridos (5 mg/5mL) se analizó por cromatografía de exclusión molecular (CEM) en una columna de agarosa Bio-Gel (Bio-Rad, Ri-

chmond, CA) de 2,5 x 30 cm, con un límite de exclusión de 500 kDa, un rango de resolución de 10 a 500 kDa y un flujo de 0,5 mL/min. La columna se calibró con azul de dextrano para el volumen de exclusión (2.000 kDa, $V_0 = 58$ mL) y citocromo C para estimar el volumen de inclusión (12,5 kDa, $V_i = \sim 135$ mL).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención de las Fracciones Enriquecidas en Polisacáridos (FEPS)

Para la operación de microfiltración se trabajó con 2 muestras iniciales de jugo de uva (M1 y M3) y 3 concentrados (M4, M5 y M6), las muestras iniciales se trabajaron a 0,64 bar, mientras que los concentrados se trabajaron a 0,64; 1,25 y 1,95 bar, respectivamente. Se recolectaron masas de permeado desde los 2 hasta los 140 minutos.

En la Figura 2 se aprecia una brusca caída en los valores de flujo de permeado lo que es atribuible a la obstrucción de la membrana. Esto debido a la retención de moléculas y partículas con tamaños superiores a los del poro de la membrana (0,2 μm). Estas partículas de gran tamaño molecular son las responsables de la disminución del flujo de permeado (Cancino *et al.*, 2009). Una vez alcanzado los 30 minutos de proceso, se observó que el flujo a ambas presiones de trabajo se estabilizó, y por tanto, las disminuciones del flujo son menores, las que se mantuvieron hasta finalizar la operación.

Para conseguir que el flujo se mantenga en el tiempo hasta 140 min, es importante considerar que no

debe producirse la colmatación de la membrana. Esto resulta de vital importancia en la operación ya que una presión muy alta provocaría un incremento en la resistencia hidráulica de la capa colmatante y con eso una disminución en la selectividad de la membrana. El realizar una operación tangencial permite la existencia de un flujo que circule paralelamente a la superficie. Este flujo actúa como un barrido tangencial que reduce la formación de colmatados (Chacón-Villalobos, 2006).

Contenido de hidratos de carbono y proteínas

Un aumento en la presión transmembrana de la operación de microfiltración, tal como se muestra en la Tabla 1, logró duplicar tanto el rendimiento de las fracciones enriquecidas en polisacáridos (FEPS), como la cantidad de hidratos de carbono totales y triplicar el contenido de proteínas.

En la Tabla 2 se muestra el contenido de hidratos de carbono (polisacáridos) y su aporte como fuente de fibra soluble, con respecto a su aporte a la DDR (Dosis Diaria Recomendada). Se observa que las fracciones concentradas presentan el contenido más alto de este compuesto bioactivo.

Caracterización Espectroscópica

La espectroscopía de infrarrojo permitió observar que las muestras de jugo de uva presentaban grupos funcionales presentes en pectinas y arabinogalactanos. Los espectros de IR-TF de las muestras iniciales M1 y M3 resultaron ser similares, mostrando la pre-

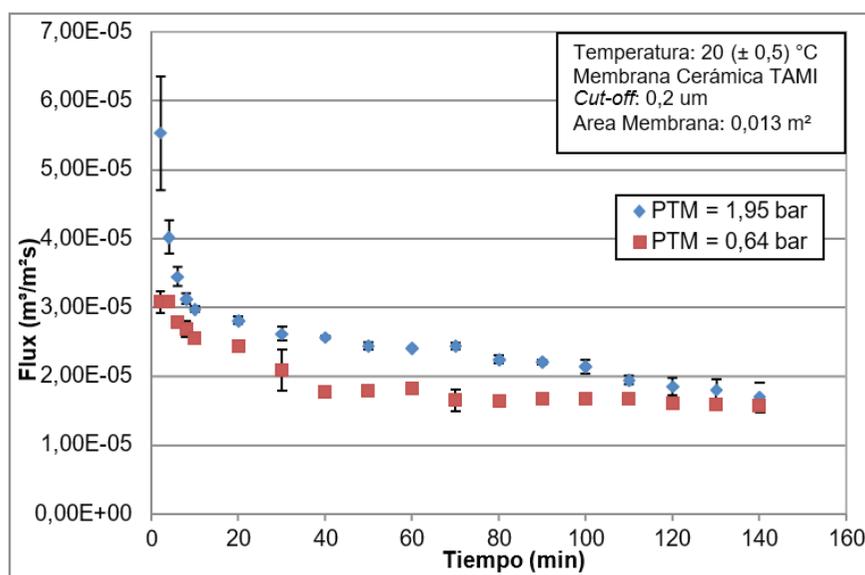


Figura 2. Gráfico de Microfiltración a diferentes presiones (Presión TransMembrana, PTM), para jugo de uva AFE.

Figure 2. Chart of microfiltration at different pressures (TransMembrane Pressure, PTM), for AFE grape juice.

sencia de grupos carboxilatos, probablemente de ácido galacturónico de pectinas (banda centrada a 1.735 cm^{-1}). También se observó la presencia de grupos amida de proteínas con sus bandas características centradas a aproximadamente 1.650 cm^{-1} , 1.558 cm^{-1} y 1.420 cm^{-1} (Aguirre *et al.*, 2009). En los espectros normales

(Figura 3A) de los concentrados de jugo obtenidos (M4, M5 y M6) no se observan diferencias significativas, al igual que para la segunda derivada del espectro de IR-TF (Figura 3B). Esto demuestra que el proceso de microfiltración no altera la naturaleza química del jugo al aumentar la presión del sistema.

Cuadro 1. Caracterización química de las fracciones enriquecidas en polisacáridos (FEPS).

Table 1. Chemical characterisation of fractions enriched in polysaccharides (FEPS).

FEPS	Presión Transmembrana (PTM) [bar]	Rendimiento [g/L]	Hidratos de Carbono Totales [g/100g]	Proteínas [g/100g]
M4	0,64	2,0	13,38	0,65
M5	1,25	3,0	24,48	0,77
M6	1,95	4,4	25,24	2,54

Cuadro 2. Contenido de hidratos de carbono y relación a DDR de fibra soluble.

Table 2. Content of carbohydrate and DDR ratio of soluble fiber.

Muestras	Contenido de Hidratos de Carbono/L de jugo [g/L]	% Aporte relacionado a la relación a DDR*
M1 (Inicial)	0,53	6,70
M3 (Inicial)	0,23	2,89
M4 (Concentrado)	1,33	16,67
M5 (Concentrado)	2,44	30,58
M6 (Concentrado)	2,51	31,44

* DDR en base a recomendación (8 g de fibra soluble) de la *American Dietetic Association* (ADA, 2009).

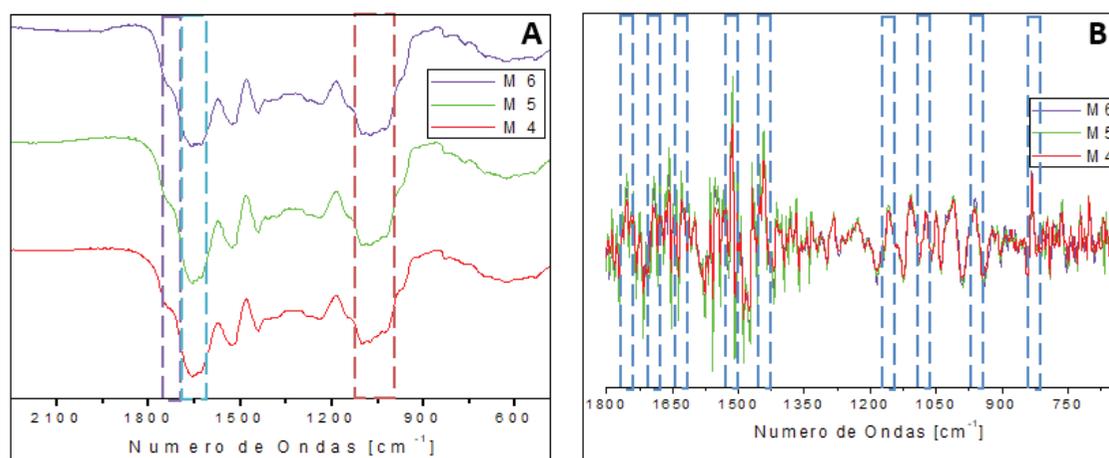


Figura 3. Espectro de IR-TF normal (A) y segunda derivada del espectro de IR-TF (B) para M4, M5 y M6.

Figure 3. Normal IR-TF spectrum (A) and second derivative of the IR-TF spectrum (B) for M4, M5 and M6.

El análisis por espectroscopia de IR-TF de las FEPS ácidas y neutras permitió confirmar la presencia de grupos funcionales presentes en ramnogalacturonanos y arabinogalactanos, respectivamente, así como también la disminución en el contenido de proteínas de las fracciones, lo que permitió una mejor resolución estructural de los polisacáridos estudiados.

Determinación de monosacáridos constituyentes de PS y PSI por CGL

Los análisis por cromatografía gas-líquido de los monosacáridos neutros constituyentes, mostraron que la fracción ácida de las FEPS contenía los azúcares galactosa, arabinosa, ramnosa y glucosa en la relación molar 1,0: 0,7: 0,2: 0,1. Por otra parte, la fracción neutra de las FEPS mostró estar constituida de galactosa, arabinosa y glucosa en una relación molar de 1,0: 0,8: 0,3. El polisacárido neutro del concentrado (Figura 4) (MC PS) resultó estar constituido por dos azúcares mayoritarios (arabinosa y galactosa) y uno minoritario (glucosa) mostrando la presencia de un arabinogalactano, compuesto bioactivo presente en frutas y otros productos vegetales (Thude y Classen, 2005; Ozaki et al., 2010; Dion et al., 2016). El reconocimiento de este polisacárido bioactivo en el jugo de uva lo potencia como un alimento saludable.

Homogeneidad de los polisacáridos de PS y PSI

Se estudió la homogeneidad de las fracciones obtenidas de las FEPS. La muestra concentrada del polisacárido soluble (MCPS) y la muestra concentrada del polisacárido insoluble (MCPSI), mostraron más de una fracción por Cromatografía líquida de Exclusión Molecular (CEM), demostrando ser dispersa con respecto a

su tamaño molecular. La Figura 5 muestra el cromatograma de elución de la fracción MCPS donde es posible observar una fracción mayoritaria que eluye en el volumen muerto (Vo), por lo cual no es resuelta por la columna cromatográfica, presentando valores mayores a 500 kDa; es decir, esta fracción está constituida por polisacáridos de gran tamaño molecular. Luego, es posible observar otras bandas minoritarias correspondientes a polisacáridos que están en el rango de la resolución de la columna.

Por su parte, la fracción MC PSI (Figura 6) también mostró una alta dispersión en el cromatograma de exclusión molecular, pero su distribución se presentó en el volumen de resolución de la columna, observándose una banda mayoritaria correspondiente a polisacárido de tamaños moleculares cercanos a 500 kDa, es decir, polisacáridos de tamaño molecular medio.

Los resultados obtenidos permiten concluir que los polisacáridos presentes en el jugo de uva Marca AFE son altamente dispersos en sus tamaños moleculares y son heterogéneos, ya que se encuentran polisacáridos ácidos y neutros. Se proyecta continuar con los análisis estructurales de la fracción mayoritaria (FMPSI), para establecer si pertenece a la familia de las pectinas.

CONCLUSIONES

La caracterización química del jugo de uva comercial AFE permitió determinar la presencia de polisacáridos de alto tamaño molecular.

El proceso de microfiltración logró aumentar el contenido de proteínas e hidratos de carbono de alto tamaño molecular, en relación directa con el aumento de la presión de transmembrana. De esta forma, se obtuvo un jugo de uva con buena fuente de fibra dietética soluble.

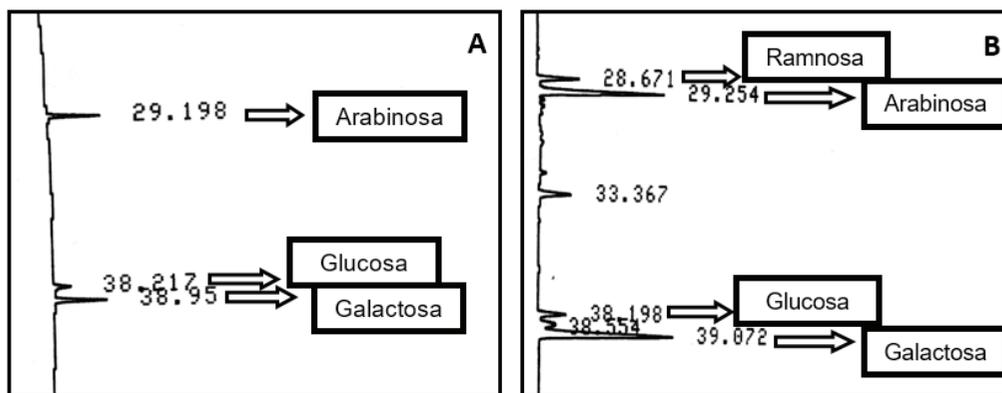


Figura 4. Cromatograma de CGL para MCPS (A) (Muestra Concentrada, Polisacárido Soluble) y para MCPSI (B) (Muestra Concentrada, Polisacárido Insoluble).

Figure 4. Chromatogram of CGL for MCPS (A) (Concentrated Sample, Soluble Polysaccharide) and for MCPSI (B) (Concentrated Sample, Insoluble Polysaccharide).

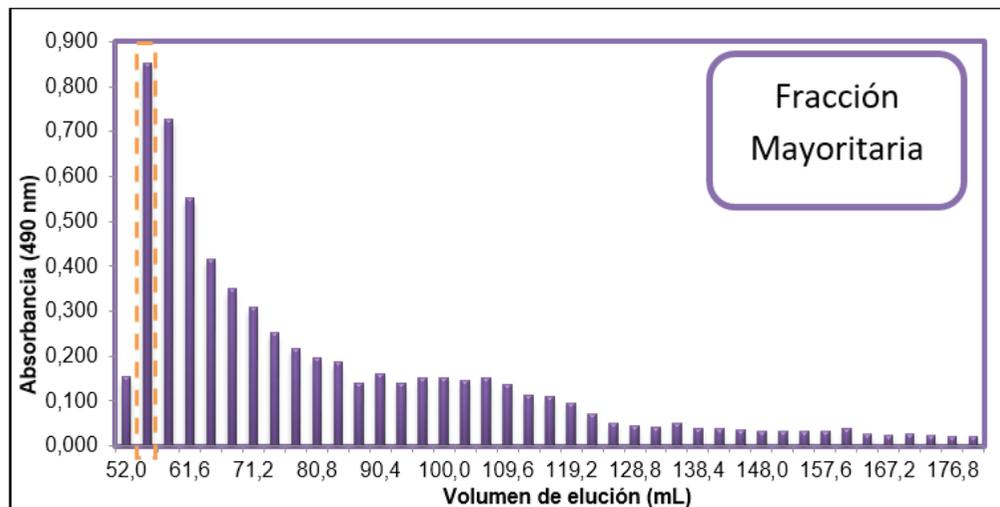


Figura 5. Curva de Elución de polisacárido soluble a cetrimide (MC PS).

Figure 5. Elution curve of soluble polysaccharide to cetrimide (MCPS).

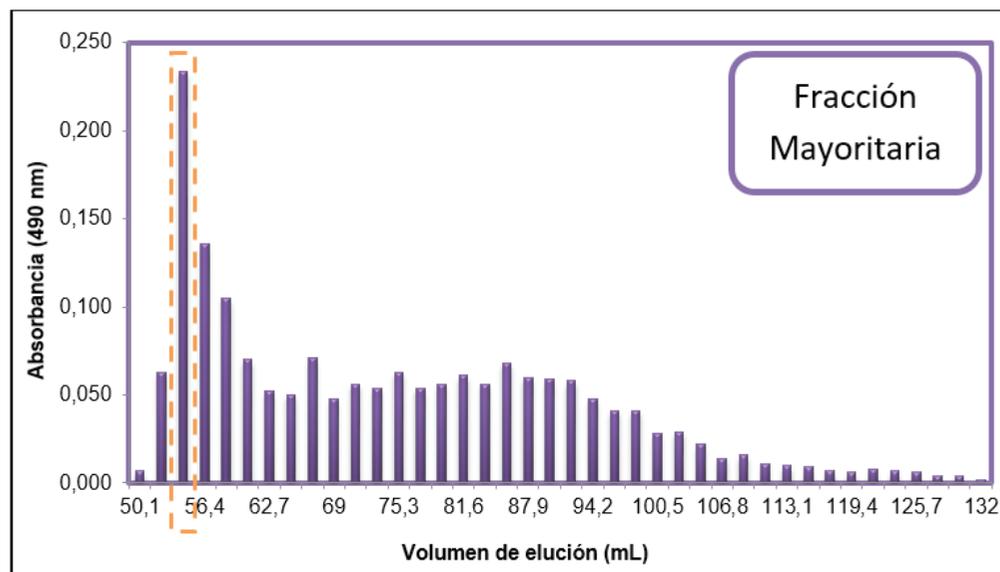


Figura 6. Curva de elución del polisacárido insoluble en cetrimide (MC PSI).

Figure 6. Elution curve of insoluble polysaccharide to cetrimide (MC PSI).

La precipitación selectiva de los polisacáridos permitió obtener fracciones constituidas por polisacáridos ácidos y polisacáridos neutros, estos últimos correspondientes a arabinogalactanos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr. Jaime Eyzaguirre (Universidad Andrés Bello) por su apoyo experimental y ayuda en la revisión del manuscrito.

REFERENCIAS

- Aguirre, M.J., Isaacs, M., Matsuhiro, B., Mendoza, L., Zúñiga, E.A., 2009. Characterization of a neutral polysaccharide with antioxidant capacity from red wine. *Carbohydrate Research* 344(9), 1095-1101. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2009.03.024>
- American Dietetic Association (ADA), 2009. Position of the American Dietetic Association: functional foods. *Journal of the American Dietetic association* 109(4), 735-746. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2009.02.023>

- Asociación de Exportadores de Frutas de Chile (ASOEX), 2017. Noticias ASOEX. <http://www.asoex.cl/component/content/article/25-noticias/367-con-un-incremento-de-4-termina-temporada-de-exportaciones-de-uvas-de-mesa-chilenas.html>
- Bhardwaj, R., Nandal, U., Pal, A., Jain, S., 2014. Bioactive compounds and medicinal properties of fruit juices. *Fruits* 69(5), 391-412.
- Biesalski, H.K., Dragsted, L.O., Elmadafa, I., Grossklaus, R., Müller, M., Schrenk, D., Walter, P., Weber, P., 2009. Bioactive compounds: definition and assessment of activity. *Nutrition* 25(11-12), 1202-1205. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.04.023>
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brownlee, I.A., 2011. The physiological roles of dietary fibre. *Food Hydrocolloids* 25(2), 238-250. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.11.013>
- Cancino, B., Ruby, R., Astudillo, C., 2009. Clarificación de jugo de uva por microfiltración. Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias aplicadas. Universidad Nacional de Cuyo. 18-20 de Marzo de 2009, San Rafael, Argentina, pp. 1-6. <http://fcai.uncuyo.edu.ar/clicap2009>
- Chacón-Villalobos, A., 2006. Tecnologías de membranas en la agroindustria láctea. *Agronomía Mesoamericana* 17(2), 243-264. <https://doi.org/10.15517/am.v17i2.5164>
- Chandalia, M., Garg, A., Lutjohann, D., von Bergmann, K., Grundy, S.M., Brinkley, L.J., 2000. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. *The New England Journal of Medicine* 342, 1392-1398. <https://doi.org/10.1056/NEJM200005113421903>
- Dahl, W.J., Stewart, M.L., 2015. Position of the academy of nutrition and dietetics: health implications of dietary fiber. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics* 115(11), 1861-1870. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2015.09.003>
- Dai, F.J., Chau, C.F., 2017. Classification and regulatory perspectives of dietary fiber. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 37-42 <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.09.006>
- De la Cerda-Carrasco, A., López-Solís, R., Nuñez-Kalasic, H., Peña-Neira, Á., Obreque-Slier, E., 2015. Phenolic composition and antioxidant capacity of pomaces from four grape varieties (*Vitis vinifera* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95(7), 1521-1527. <http://doi.org/10.1002/jsfa.6856>
- Deng, Q., Penner, M.H., Zhao, Y., 2011. Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins. *Food Research International* 44(9), 2712-2720. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.026>
- Dion, C., Chappuis, E., Ripoll, C., 2016. Does larch arabinogalactan enhance immune function? A review of mechanistic and clinical trials. *Nutrition & Metabolism* 13, 28. <https://doi.org/10.1186/s12986-016-0086-x>
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28(3), 350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Helkar, P.B., Sahoo, A.K., Patil, N.J., 2016. Review: Food industry by-products used as a functional food ingredients. *International Journal of Waste Resources* 6(3), 248. <https://doi.org/10.4172/2252-5211.1000248>
- Hyson, D., 2015. A review and critical analysis of the scientific literature related to 100% fruit juice and human health. *Advances in Nutrition* 6(1), 37-51. <https://doi.org/10.3945/an.114.005728>
- Jenkins, D.J.A., Kendall, C.W.C., Vuksan, V., Vidgen, E., Parker, T., Faulkner, D., Mehling, C.C., Garsetti, M., Testolin, G., Cunnane, S.C., Ryan, M.A., Corey, P.N., 2002. Soluble fiber intake at a dose approved by the US Food and Drug Administration for a claim of health benefits: Serum lipid risk factors for cardiovascular disease assessed in a randomized controlled crossover trial. *The American Journal Clinical Nutrition*. 75, 834-839. <https://doi.org/10.1093/ajcn/75.5.834>
- Jovanovski, E., Khan, K., Sievenpiper, J., Ho, T., Zurbau, A., Au-Young, R., Blanco, S., Vuksan, V., 2016. The effects of soluble dietary fiber on blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *The FASEB Journal* 30(1), 1176.12.
- Li, Y.O., Komarek, A.R., 2017. Dietary fibre basics: health, nutrition, analysis, and applications. *Food Quality and Safety* 1(1), 47-59. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyx007>
- Lima, L., Prado, M., 2012. Extraction optimization for antioxidant phenolic compounds in red grape jam using ultrasound with a response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry* 19(6), 1144-1149. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.03.009>
- Lovstad, S., Kraan, S., 2011. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology* 23(3), 543-597. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9632-5>
- Matsuhiro, B., 1996. Vibrational spectroscopy of seaweed galactans. *Hydrobiologia* 326(1), 481-489. <https://doi.org/10.1007/BF00047849>
- Morales-de la Peña, M., Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, M.A., Martín-Belloso, O., 2011. Changes on phenolic and carotenoid composition of high intensity pulsed electric field and thermally treated fruit juice-soymilk beverages during refrigerated storage. *Food Chemistry* 129(3), 982-990. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.058>
- Nassiri-Asl, M., Hosseinzadeh, H., 2016. Review of the pharmacological effects of *Vitis vinifera* (grape) and its bioactive constituents: an update. *Phytotherapy Research* 30(9), 1392-1403. <https://doi.org/10.1002/ptr.5644>
- O'Keefe, S.J., 2016. Diet, microorganisms and their metabolites, and colon cancer. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology* 13, 691-706. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.165>
- Ozaki, S., Oki, N., Suzuki, S., Kitamura, S., 2010. Structural characterization and hypoglycemic effects of arabinogalactan-protein from the tuberous cortex of the white-skinned sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(22), 11593-11599. <https://doi.org/10.1021/jf101283f>
- Rodrigues, L., Queiroz, M., 2016. Bioactive compounds of red grapes from Dão region (Portugal): Evaluation of phenolic and organic profile. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 6(4), 315-321. [44](https://doi.org/10.1016/j.</p>
</div>
<div data-bbox=)

- apjtb.2015.12.015
- Scott, J., 1965. Methods in carbohydrate chemistry. Ediciones Academic, New York, Estados Unidos.
- Stevenson, T., Furneaux, R., 1991. Chemical methods for the analysis of sulphated galactans from red algae. Carbohydrate Research 210, 277-298. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(91\)80129-B](https://doi.org/10.1016/0008-6215(91)80129-B)
- Thude, S., Classen, B., 2005. High molecular weight constituents from roots of *Echinacea pallida*: an arabinogalactan-protein and an arabinan. Phytochemistry 66(9), 1026-1032. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.02.028>
- Vidal, S., Williams, P., Doco, T., Moutounet, M., Pellerin, P., 2003. The polysaccharides of red wine: total fractionation and characterization. Carbohydrate Polymers 54(4), 439-447. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(03\)00152-8](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(03)00152-8)
- Yilmaz, Y., Göksel, Z., Erdoğan, S.S., Öztürk, A., Atak, A., Özer, C., 2015. Antioxidant activity and phenolic content of seed, skin and pulp parts of 22 grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars (4 common and 18 registered or candidate for registration). Journal of Food Processing and Preservation 39(6), 1682-1691. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12399>

