



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

**Valorização do cacto *Opuntia monacantha* para obtenção de farinha e mucilagem:
caracterização e aplicação em biscoito sem glúten**

Melina Dick

**Porto Alegre
2018**

MELINA DICK

VALORIZAÇÃO DO CACTO *OPUNTIA MONACANTHA* PARA OBTENÇÃO DE
FARINHA E MUCILAGEM: CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO EM BISCOITO SEM
GLÚTEN

Tese de Doutorado apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos da Universidade Federal do Rio
Grande do Sul como requisito parcial para a
obtenção do grau de Doutor em Ciência e
Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Simone Hickmann Flôres
Co-orientador: Prof. Dr. Alessandro de Oliveira Rios

Porto Alegre
2018

CIP - Catalogação na Publicação

Dick, Melina

Valorização do cacto Opuntia monacantha para obtenção de farinha e mucilagem: caracterização e aplicação em biscoito sem glúten / Melina Dick. -- 2018.

112 f.

Orientadora: Simone Hickmann Flôres.

Coorientador: Alessandro de Oliveira Rios.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. hidrocoloide. 2. mucilagem de cacto. 3. farinha do cladódio. 4. caracterização. 5. propriedades funcionais. I. Hickmann Flôres, Simone, orient. II. de Oliveira Rios, Alessandro, coorient. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Autora: Melina Dick (Engenheira de Alimentos – UFRGS e Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos – UFRGS)

Título da tese: Valorização do cacto *Opuntia monacantha* para obtenção de farinha e mucilagem: caracterização e aplicação em biscoito sem glúten

Submetida como parte dos requisitos para obtenção do grau de
DOUTORA EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Aprovada em: ____/____/____

Homologada em: ____/____/____

Pela Banca Examinadora:

Por:

Prof^a. Dr^a. Simone Hickmann Flôres
Orientadora
Docente do ICTA – UFRGS
PPGCTA – UFRGS

Prof. Dr. Eliseu Rodrigues
Coordenador
PPGCTA – UFRGS

Prof. Dr. Alessandro de Oliveira Rios
Co-orientador
Docente do ICTA – UFRGS
PPGCTA – UFRGS

Prof^a. Dr^a. Simone Hickmann Flôres
Diretora
ICTA – UFRGS

Banca: Prof. Dr. Eliseu Rodrigues
Doutor em Ciência de Alimentos – UNICAMP
Departamento de Ciência de Alimentos – UFRGS
PPGCTA – UFRGS

Banca: Prof^a. Dr^a. Julia Ribeiro Sarkis
Doutora em Engenharia Química – UFRGS
Departamento de Engenharia Química – UFRGS

Banca: Prof^a. Dr^a. Poliana Deyse Gurak
Doutora em Ciência de Alimentos – UNICAMP
Departamento de Nutrição – UFCSPA

AGRADECIMENTOS

Aos diversos órgãos de fomento à pesquisa: Capes, CNPq e Fapergs. Em especial à Capes pela tão essencial bolsa de doutorado.

À minha orientadora, Prof. Simone, pela confiança em meu trabalho, por toda ajuda e disponibilidade.

Ao meu co-orientador Prof. Alessandro, pela clareza nos aconselhamentos e por estar sempre disposto a sanar quaisquer dúvidas.

A querida prof. Roberta Thys por todo o auxílio prestado, pelos ensinamentos compartilhados e por sua serenidade que transcende.

Aos meus colegas do Laboratório de Compostos Bioativos (Lab. 211) IICTA/UFRGS, pela troca de experiências e por todos os momentos compartilhados. Foi muito bom trabalhar nesse laboratório. Em especial aos meus “malucos” preferidos Carol Galarza e Aelson.

Ao Prof. Plinho pelo fornecimento das amostras de cacto por inúmeras vezes. Muito obrigada.

Aos meus fundamentais ICs: Christian Limberger, Júlia Ramos e Raissa Ferreira. Em especial ao Chris pela sua extrema dedicação, o que gerou, não por menos, o inédito prêmio de Jovem Pesquisador da UFRGS na área de Ciências Agrárias.

Ao meus pais, Rui e Nidea, por acreditarem em mim, pela paciência, pelo carinho e incentivo.

A Maíra, minha saudosa irmã, da mesma forma. Sei que todos vocês torcem muito por mim.

Ao Jonathas, que sempre esteve ao meu lado, compreendendo (ou não) os momentos de ausência.

Às minhas amigas, por lembrarem que existe vida fora do doutorado. Em especial, minha prima Camila.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela oportunidade de qualificação profissional.

Aos membros participantes da banca, por suas contribuições nas correções e sugestões, que permitiram o aprimoramento deste trabalho.

A todos que de alguma forma, contribuíram para realização deste trabalho.

RESUMO

As cactáceas são plantas que demandam baixo consumo de água e energia para a sua exploração comercial. Além disso, os cactos apresentam elevado conteúdo de mucilagem (polissacarídeo) que pode ser utilizada como hidrocoloide para diversas aplicações alimentares. Nesse sentido, a matéria-prima utilizada neste trabalho foi o cacto nativo *Opuntia monacantha* que demonstra ampla distribuição na costa litorânea brasileira. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a mucilagem e a farinha do cladódio obtidos desta planta quanto às suas potencialidades tecnológicas para aplicação em alimentos. Além disso, esses ingredientes também foram testados em biscoitos tipo cracker sem glúten. Para este propósito, no primeiro estudo fez-se a avaliação da mucilagem quanto às suas: características físico-químicas (composição centesimal, minerais, perfil dos monossacarídeos, atividade de água, cor, densidade aparente, viscosidade intrínseca e massa molar), morfologia do pó, distribuição do tamanho de partícula, e propriedades funcionais (solubilidade, propriedades emulsificantes, espumantes e de viscosidade). No segundo estudo, se analisou a farinha obtida por secagem e Trituração do cladódio (denominada de farinha do cladódio) quanto às suas: características físico-químicas (composição centesimal, minerais, conteúdo de clorofila, cor e atividade de água) e propriedades tecnológicas (densidade aparente, swelling, capacidade de retenção de água e capacidade de retenção de óleo). Sequencialmente, ambos ingredientes (mucilagem e farinha do cladódio) foram utilizados na elaboração de biscoitos tipo cracker sem glúten. Foram elaboradas cinco formulações de biscoitos: cracker controle (contendo 2% de gomas comerciais - CMC e xantana), cracker adicionado de mucilagem (contendo 2% de mucilagem no lugar das gomas comerciais), crackers incorporados de 5%, 10% e 15% de farinha de cladódio (sem adição das gomas comerciais). Os biscoitos cracker foram avaliados quanto a sua composição centesimal, propriedades físicas, teor de fenólicos totais, composição de carotenoides, atividade antioxidante (ABTS) e análise sensorial. Os resultados do primeiro estudo evidenciaram que o rendimento de extração da mucilagem foi de 12% (em base seca), sendo composta por 80,12% de carboidratos, 15,14% de cinzas, 3,55% de proteínas e 1,19% de lipídios. A mucilagem apresentou elevados níveis de minerais, tais como potássio, cálcio, magnésio, manganês e zinco. O perfil dos monossacarídeos demonstrou que a mucilagem é um heteropolímero, constituído principalmente por galactose, ácido glicurônico e arabinose. As medidas viscosimétricas da mucilagem resultaram em uma viscosidade intrínseca de 9,02 dL/g e uma massa molar de $1,12 \times 10^6$ g/mol. A mucilagem reconstituída em água (1% p/v) apresentou um diâmetro médio de partícula ($D_{4,3}$) de 648 nm e solubilidade acima de 85%. A capacidade emulsificante da mucilagem melhorou com o seu incremento na emulsão; da mesma forma, ela proporcionou alta estabilidade de emulsão através de diferentes proporções de óleo: solução de polissacarídeo. A mucilagem exibiu boa capacidade de formação de espuma, embora a estabilidade dessa espuma tenha reduzido progressivamente ao longo do tempo. Também, a sua mistura com a ovoalbumina resultou na melhoria da capacidade de formação de espuma e em uma estabilidade de espuma marcadamente maior em comparação com a ovoalbumina sozinha. Os estudos reológicos indicaram que as soluções de mucilagem demonstraram um comportamento pseudoplástico em concentrações entre 1 e 10%, e relativa estabilidade da viscosidade na faixa de temperatura de 5 a 80 °C. Conforme os resultados do segundo estudo, a farinha do cladódio apresentou composição centesimal de: 5,13% de umidade, 5,12% de proteína, 1,72% de lipídios, 18,29% de cinzas, 45,36% de fibra dietética total, 32,86% de fibra dietética insolúvel, 12,50% de fibra dietética solúvel e 74,87% de carboidratos totais; ademais, exibiu os seguintes valores para as propriedades funcionais: swelling de 17,49 mL/g, 7,03 g/g de capacidade de retenção de água e 1,26 g/g de capacidade de retenção de óleo. Em relação aos biscoitos elaborados, a composição centesimal do cracker adicionado de mucilagem foi bastante semelhante ao controle (exceto pelo seu superior teor

de cinzas), enquanto que os crackers adicionados de farinha de cladódio exibiram um aumento dos teores de cinzas e fibras. Em geral, as propriedades físicas dos biscoitos não foram afetadas pela utilização da mucilagem ou da farinha de cladódio, exceto pela coloração mais escura dos biscoitos suplementados com a farinha de cladódio. Os biscoitos contendo mucilagem e os incorporados de farinha de cladódio apresentaram maiores valores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante que o controle. Além disso, os biscoitos formulados com a farinha de cladódio foram incrementados de carotenoides. A avaliação sensorial revelou que o biscoito adicionado de mucilagem e o biscoito incorporado de 5% de farinha de cladódio foram os mais aceitos. Diante dos resultados obtidos neste trabalho, sugere-se que a mucilagem extraída do cacto *O. monacantha* pode apresentar aplicações potencialmente úteis em sistemas alimentícios, particularmente como agente emulsificante, espumante e espessante, ou como estabilizante. A farinha do cladódio, por sua vez, pode ser utilizada em muitas aplicações alimentares com o intuito de modificar a textura dos produtos, assim como para aumentar os teores de fibras, minerais e compostos bioativos. A aplicação da mucilagem e da farinha do cladódio na produção de biscoitos tipo cracker sem glúten, mostrou-se promissora na substituição das gomas comerciais usualmente utilizadas. Desta forma, devido às características apresentadas pelos ingredientes alimentícios obtidos do cacto *Opuntia monacantha*, sugere-se que tais ingredientes sejam testados em outros alimentos.

Palavras-chave: hidrocoloide, mucilagem de cacto, farinha do cladódio, caracterização, propriedades funcionais.

ABSTRACT

Cactaceae are plants that demand low consumption of water and energy for their commercial exploitation. In addition, cacti have a high mucilage content (polysaccharide) that can be used as a hydrocolloid for various food applications. In this sense, the raw material used in this work was the native cactus *Opuntia monacantha* that shows wide distribution in the Brazilian coastline. The objective of this work was to characterize the mucilage and the cladode flour obtained from this plant in terms of its technological potentialities for food application. In addition, these ingredients have also been tested on gluten-free crackers. For this purpose, in the first study the mucilage was evaluated for its physicochemical characteristics (proximate composition, minerals, monosaccharide profile, water activity, color, bulk density, intrinsic viscosity, and molar mass), powder morphology, particle size distribution, and functional properties (solubility, emulsifying, foaming and viscosity properties). In the second study, the flour obtained by drying and crushing the cladode (called cladode flour) was analyzed for its physicochemical characteristics (proximate composition, minerals, chlorophyll content, color, and water activity) and technological properties (bulk density, swelling, water holding capacity, and oil holding capacity). Sequentially, both ingredients (mucilage and cladode flour) were used in the preparation of gluten-free cracker-type biscuits. Five cracker formulations were prepared: control cracker (containing 2% of commercial gums - CMC and xanthan), cracker added of mucilage (containing 2% of mucilage instead of commercial gums), crackers incorporated of 5%, 10% and 15% of cladode flour (no commercial gums added). The crackers were evaluated for their proximate composition, physical properties, total phenolic content, carotenoid composition, antioxidant activity (ABTS) and sensory analysis. The results of the first study showed that the yield of mucilage extraction was 12% (dry basis), being composed of 80.12% of carbohydrates, 15.14% of ashes, 3.55% of proteins and 1.19 % of lipids. The mucilage presented high levels of minerals, such as potassium, calcium, magnesium, manganese, and zinc. The monosaccharide profile demonstrated that the mucilage is a heteropolymer, consisting mainly of galactose, glucuronic acid, and arabinose. The viscosimetric measurements of the mucilage resulted in an intrinsic viscosity of 9.02 dL/g and a molar mass of 1.12×10^6 g/mol. The reconstituted mucilage in water (1% w/v) had a mean particle diameter ($D_{4,3}$) of 648 nm and solubility above 85%. The emulsifying capacity of the mucilage has improved with its increase in the emulsion; in the same way, it provided high emulsion stability through different proportions of oil: polysaccharide solution. The mucilage exhibited good foaming capacity, although the stability of that foam has progressively decreased over time. Also, its mixing with ovalbumin resulted in the improvement of foaming capacity and in a markedly greater foam stability compared to ovalbumin alone. The rheological studies indicated that the mucilage solutions showed a pseudoplastic behavior at concentrations between 1 and 10%, and relative viscosity stability in the temperature range of 5 to 80 °C. According to the results of the second study, the cladode flour had a proximate composition of 5.13% moisture, 5.12% protein, 1.72% lipids, 18.29% ash, 45.36% total dietary fiber, 32.86% insoluble dietary fiber, 12.50% soluble dietary fiber, and 74.87% of total carbohydrates; besides, exhibited the following values for the functional properties: swelling of 17.49 mL/g, water holding capacity of 7.03 g/g, and oil holding capacity of 1.26 g/g. In relation to the elaborated crackers, the proximate composition of the cracker added of mucilage was very similar to the control (except for its superior ash content), while the crackers incorporated with cladode flour exhibited an increase in ash and fiber contents. In general, the physical properties of the crackers were not affected by the use of mucilage or cladode flour, except for the darker coloring of the cladode flour-supplemented crackers. The crackers containing mucilage and the cladode flour-incorporated ones presented higher values of total phenolic content and antioxidant activity than the

control. Additionally, the crackers formulated with the cladode flour were incremented with carotenoids. Sensory evaluation revealed that the cracker added of mucilage and the one incorporated of 5% cladode flour were those most accepted. Considering the results obtained in this work, it is suggested that the mucilage extracted from the *O. monacantha* cactus can present potentially useful applications in food systems, particularly as an emulsifying, foaming and thickening agent, or as a stabilizer. The cladode flour, in turn, can be used in many food applications in order to modify the texture of the products, as well as to increase the levels of fibers, minerals, and bioactive compounds. The application of the mucilage and the cladode flour in the production of gluten-free crackers has shown promise in the substitution of commercial gums usually used. Thus, due to the characteristics presented by the food ingredients obtained from *Opuntia monacantha* cactus, it is suggested that such ingredients must be tested in other foods.

Keywords: hydrocolloid, cactus mucilage, cladode flour, characterization, functional properties.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2: REVISÃO DA LITERATURA

Figura 1 – Planta do cacto nopal (<i>Opuntia streptacantha</i>) evidenciado suas partes comestíveis.....	23
Figura 2 – <i>Opuntia monacantha</i> (Willd.) Haw.....	27
Figura 3 – Cladódios de <i>O. ficus-indica</i> (aproximadamente 36 meses de desenvolvimento) utilizados para produção de farinha.....	32

CAPÍTULO 3: ARTIGOS CIENTÍFICOS

ARTIGO 1: Valorization of *Opuntia monacantha* (Willd.) Haw. cladodes to obtain a mucilage with hydrocolloid features: Physicochemical and functional performance

Fig. 1. Micrographs of mucilage powder obtained at a magnification of 400× (A), 1000× (B), and 5000× (C). (D) Illustrates a macroscopic picture of the <i>O. monacantha</i> mucilage powder.....	67
Fig. 2. Sample solubility (%) as a function of temperature. ^{a–c} Bars with different lowercase letters indicate a significantly ($p < 0.05$) different solubility of a sample at different temperatures by Tukey's test. ^{A–C} Bars with different uppercase letters indicate a significantly ($p < 0.05$) different solubility among samples at the same temperature by Tukey's test.	68
Fig. 3. Sample emulsifying capacity (EC) (A) and emulsion stability (ES) (B) as a function of different ratios of oil to polysaccharide solution (50:50, 25:75, 10:90, v/v). ^{a–c} Bars with different lowercase letters indicate a significantly ($p < 0.05$) different EC or ES of a sample at different ratios of oil to polysaccharide solution by Tukey's test. ^{A–C} Bars with different uppercase letters indicate a significantly ($p < 0.05$) different EC or ES among samples at the same ratio of oil to polysaccharide solution by Tukey's test.	70
Fig. 4. Foaming capacity (FC) (A) and foam stability (FS) (B) of various foaming solutions. ^{a–c} Bars with different lowercase letters indicate a significantly ($p < 0.05$) different FC among foaming solutions or indicate a significantly ($p < 0.05$) different FS among foaming solutions at the same interval of time ($t = 5$ min, 10 min, 30 min, 60 min, 90 min or 120 min) of foam formation by Tukey's test.	71
Fig. 5. Apparent viscosity-shear rate profile of <i>O. monacantha</i> mucilage solutions at different concentrations (25 °C). Viscosity curves of 1% xanthan gum and 1% guar gum are also included.	72
Fig. 6. Effect of the temperature (5–80 °C) on the apparent viscosity of <i>O. monacantha</i> mucilage solutions at various concentrations. Data at shear rate of 10 s ⁻¹	74

ARTIGO 2: Mucilage and cladode flour from cactus (*Opuntia monacantha*) as alternative ingredients in gluten-free crackers

Fig. 1. Appearance of the ingredients obtained from <i>Opuntia monacantha</i> cactus: cactus mucilage (CM) powder (A) and cladode flour (CF) (B). (C) shows the appearance of the prepared gluten-free crackers incorporated of these ingredients. C-C: control cracker; C-CM: cracker containing cactus mucilage hydrocolloid; C-CF5: cracker incorporated of 5 % cladode flour; C-CF10: cracker incorporated of 10 % cladode flour; C-CF15: cracker incorporated of 15 % cladode flour.	99
---	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2: REVISÃO DA LITERATURA

Tabela 1 – Fontes de hidrocoloides comercialmente importantes.....	19
Tabela 2 – Hidrocoloides espessantes: suas características e aplicações.....	20
Tabela 3 – Composição centesimal média dos cladódios de <i>Opuntia</i> ssp. (sem espinhos).	30
Tabela 4 – Rendimento da mucilagem e composição química (g/100 g de base úmida).....	35

CAPÍTULO 3: ARTIGOS CIENTÍFICOS

ARTIGO 1: Valorization of *Opuntia monacantha* (Willd.) Haw. cladodes to obtain a mucilage with hydrocolloid features: Physicochemical and functional performance

Table 1. Chemical composition of <i>O. monacantha</i> mucilage powder.....	63
Table 2. Physicochemical characteristics of <i>O. monacantha</i> mucilage.....	65
Table 3. Ostwald-de-Waele parameters for mucilage solutions at different concentrations. Commercial gums (xanthan and guar) are also included.	73
Table 4. Arrhenius parameters for temperature dependence of apparent viscosity (at 10 s ⁻¹) of mucilage solutions at various concentrations.	74

ARTIGO 2: Mucilage and cladode flour from cactus (*Opuntia monacantha*) as alternative ingredients in gluten-free crackers

Table 1. Formulations for the production of gluten-free crackers containing ingredients from cactus (mucilage and cladode flour).	90
Table 2. Characterization of cladode flour from <i>O. monacantha</i>	95
Table 3. Proximate composition and physical characteristics of gluten-free crackers.	98
Table 4. Total phenolic content, carotenoid composition, and antioxidant activity (ABTS) of cladode flour and gluten-free crackers.	100
Table 5. Sensory evaluation (acceptance test) of gluten-free crackers.	102

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO	13
1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo geral	17
2.2 Objetivos específicos	17
CAPÍTULO 2: REVISÃO DA LITERATURA	18
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	19
3.1 Hidrocoloides.....	19
3.2 Cactáceas	21
3.2.1 <i>Opuntia</i> ssp.	22
3.2.2 Usos medicinais e terapêuticos	24
3.3 <i>Opuntia monacantha</i> : a espécie em estudo	26
3.4 O cacto como alimento e/ou fonte de ingredientes.....	29
3.4.1 Cladódios	29
3.4.2 Mucilagem	33
3.5 Panificação sem glúten	38
REFERÊNCIAS	41
CAPÍTULO 3: ARTIGOS CIENTÍFICOS.....	51
ARTIGO 1: Valorization of <i>Opuntia monacantha</i> (Willd.) Haw. cladodes to obtain a mucilage with hydrocolloid features: Physicochemical and functional performance.....	52
Abstract.....	52
Highlights	53
Graphical abstract.....	53
1 Introduction	54
2 Materials and methods.....	55
2.1 Materials.....	55
2.2 Mucilage extraction	56
2.3 Physicochemical characterization of mucilage powder	56
2.3.1 Chemical composition	56
2.3.2 Mineral contents	57
2.3.3 Water activity, color and bulk density	58
2.3.4 Intrinsic viscosity and viscosimetric molar mass.....	58
2.4 Morphology by scanning electron microscopy.....	59
2.5 Particle size distribution of mucilage solution	59
2.6 Functional properties	59
2.6.1 Solubility.....	59
2.6.2 Emulsifying properties.....	60
2.6.3 Foaming properties	60
2.6.4 Viscosity properties	61
2.7 Statistical analysis	62
3 Results and discussion.....	62
3.1 Physicochemical characterization of mucilage powder	62
3.2 Particle morphology of mucilage powder	66
3.3 Particle size distribution of mucilage solution	67
3.4 Functional properties of mucilage.....	68

3.4.1 Solubility.....	68
3.4.2 Emulsifying properties.....	69
3.4.3 Foaming properties	71
3.4.4 Viscosity properties	72
4 Conclusions	75
Acknowledgments	75
Appendix A. Supplementary data.....	76
References	77
 ARTIGO 2: Mucilage and cladode flour from cactus (<i>Opuntia monacantha</i>) as alternative ingredients in gluten-free crackers	83
Abstract.....	83
Highlights	84
Graphical abstract	84
1 Introduction	85
2 Materials and methods.....	86
2.1 Materials.....	86
2.2 Extraction procedure of cactus mucilage	87
2.3 Preparation of cladode flour	87
2.4 Characterization of cladode flour	88
2.4.1 Proximate composition	88
2.4.2 Mineral contents	88
2.4.3 Water activity and color parameters	88
2.4.4 Chlorophyll content	88
2.4.5 Functional properties	88
2.5 Preparation of gluten-free crackers	89
2.6 Characterization of gluten-free crackers.....	91
2.6.1 Proximate composition	91
2.6.2 Color	91
2.6.3 Physical properties	91
2.7 Bioactive compounds and antioxidant capacity	92
2.7.1 Total phenolic content	92
2.7.2 Carotenoid profile	92
2.7.3 ABTS assay.....	93
2.8 Sensory evaluation of gluten-free crackers	93
2.9 Statistical analysis	94
3 Results and discussion	94
3.1 Cladode flour characterization.....	94
3.2 Proximate composition of gluten-free crackers.....	97
3.3 Physical characteristics of gluten-free crackers	98
3.4 Bioactive compounds and antioxidant capacity	99
3.5 Sensory evaluation.....	101
4 Conclusions	103
Acknowledgments	103
Appendix A. Supplementary data.....	103
References	104
 CAPÍTULO 4: CONSIDERAÇÕES FINAIS	108
4 DISCUSSÃO GERAL.....	109
5 CONCLUSÃO GERAL	112

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Algumas tendências no segmento alimentício, tais como conveniência, baixa caloria e elevado teor de fibras, têm levado ao aumento do uso de polissacarídeos viscosos, também chamados de hidrocoloides, na função de espessantes, estabilizantes, emulsificantes, bem como agentes de corpo em produtos com baixo teor de gordura, pois auxiliam na sensação de preenchimento na boca (SAHA; BHATTACHARYA, 2010; WILLIAMS; PHILLIPS, 2009). Os polissacarídeos extraídos de plantas têm a vantagem de serem considerados totalmente naturais para muitos consumidores, além de serem biodegradáveis e apresentarem elevada disponibilidade na natureza (PRAJAPATI et al., 2013). Além disso, novas fontes de extração de hidrocoloides são necessárias para aumentar a oferta no mercado e abrir novas possibilidades de aplicações.

Entre as fontes vegetais que poderiam ser pensadas para a obtenção de hidrocoloides, podem-se destacar as cactáceas, visto que são plantas extremamente eficientes em geração de biomassa mesmo sob condições de estresse, onde o reduzido fornecimento de água seria um fator limitante para o desenvolvimento de muitas espécies (STINTZING; CARLE, 2005). Além disso, a desertificação de regiões áridas tem se tornado uma grande preocupação em várias partes do mundo, e o encorajamento do uso sustentável da flora nativa destas regiões pode contribuir para reverter este problema. A família Cactaceae apresenta como característica típica a presença de mucilagem, a qual é considerada um polissacarídeo (carboidrato complexo) que possui capacidade de absorver grande quantidade de água, formando soluções viscosas.

O Brasil abriga o terceiro centro geográfico de diversidade de cactos do mundo, sendo o principal depois do México e do sudoeste dos Estados Unidos, seguido da cadeia Andina, com Bolívia e Peru (CARNEIRO et al., 2016), contudo dificilmente considera seus cactos nativos para produção de alimentos e/ou ingredientes alimentícios, provavelmente devido ao desconhecimento e falta de informações disponíveis. Além disso, para atender a demanda do setor industrial, o Brasil destina elevado aporte financeiro para a aquisição de hidrocoloides, importando cada vez mais do que exportando, e a um custo médio de importação superior ao de exportação (DA CUNHA; DE PAULA; FEITOSA, 2009).

O cacto *Opuntia monacantha* (Willd.) Haw., popularmente conhecido como arumbeva (KINUPP, 2007) apresenta ampla distribuição geográfica e ocorre naturalmente em vários estados brasileiros, entre os estados do Rio Grande do Sul e Sergipe. No estado do Rio

Grande do Sul, quando comparada com outras espécies de *Opuntia* nativas, a *O. monacantha* apresenta uma distribuição mais ampla, contemplando toda a região costeira, Serra do Sudeste e também os morros graníticos da região de Porto Alegre (KINUPP, 2007; KINUPP; LISBÔA; BARROS, 2011). Como outras espécies do gênero *Opuntia*, a *O. monacantha* apresenta haste ou caule suculento, conhecido como cladódio, e produz frutos comestíveis (LENZI; ORTH, 2012). A mucilagem obtida a partir desta espécie de cacto ainda não foi pesquisada. Portanto, são necessários estudos que investiguem o potencial tecnológico dessa mucilagem. Na investigação de novas fontes de hidrocoloides para a indústria de alimentos é de fundamental importância a caracterização preliminar dos mesmos, através da avaliação da sua composição química, assim como das suas propriedades físico-químicas e funcionais, visto que essas características apontarão possíveis aplicações do hidrocoloide.

Por outra parte, os cladódios também poderiam ser utilizados de forma mais integral, aproveitando os outros componentes presentes em sua matriz, além de seu alto conteúdo de mucilagem. Existe uma tendência global do uso de ingredientes naturais derivados de plantas na produção de alimentos, pois esses ingredientes podem conter compostos que apresentam propriedades benéficas à saúde. De maneira geral, os cladódios das *Opuntia* ssp. são apreciados pelo alto conteúdo de fibras (insolúvel e solúvel), minerais e compostos bioativos, tais como ácidos fenólicos, flavonoides e carotenoides que proporcionam atividade antioxidante (GUEVARA-FIGUEROA et al., 2010; JARAMILLO et al., 2003; RAMÍREZ-MORENO et al., 2013; STINTZING; CARLE, 2005; VALENTE et al., 2010). Por isso, os cladódios dos cactos são uma interessante matéria-prima para elaboração de alimentos com valor (funcional/nutricional) agregado (JUN et al., 2013).

Devido ao seu elevado teor de água e baixa acidez, os cladódios frescos são propensos a rápida deterioração microbiológica, limitando assim, a sua comercialização *in natura* (FEUGANG et al., 2006). Portanto, a secagem e a moagem, resultando em uma farinha, oferecem vantagens importantes para o armazenamento e transporte deste vegetal (LÓPEZ-CERVANTES et al., 2011).

O consumo e a demanda por produtos isentos de glúten vêm promovendo o aumento da pesquisa e desenvolvimento para atender esse mercado “gluten-free”. É bem documentado os desafios tecnológicos que cercam a fabricação de produtos sem glúten, devido à falta das proteínas formadoras de estrutura (glúten) presentes na farinha de trigo, então os hidrocoloides são frequentemente usados para reporem a funcionalidade do glúten, melhorando as características da massa e auxiliando na formação de uma rede viscoelástica mais coesa (CAPRILES; DOS SANTOS; ARÊAS, 2016; MIR et al., 2016). Os crackers são

um produto popular entre o segmento de panificação, práticos para consumo, e que podem servir como um alimento interessante para atender a essa demanda de mercado “gluten-free” (HAN; JANZ; GERLAT, 2010). Portanto, a mucilagem e a farinha do cladódio se apresentam como ingredientes que poderiam ser explorados para substituírem os hidrocoloides comerciais usualmente adicionados em panificados sem glúten, funcionando como agentes estruturantes da massa.

Diante deste contexto, a espécie *Opuntia monacantha* apresenta excelentes perspectivas como matéria-prima para obtenção de ingredientes alimentícios naturais, tais como a mucilagem (polissacarídeo) e a farinha do cladódio (produto obtido do cladódio integral). Desta forma, a caracterização desses ingredientes, assim como a investigação de aplicações alimentares se torna importante, possibilitando a difusão de potenciais usos dessa planta para diversos ramos da indústria de alimentos.

Esta tese está estruturada na forma de capítulos. O **Capítulo 1** trata da introdução desta tese, assim como apresenta os objetos da mesma. O **Capítulo 2** abrange uma revisão bibliográfica pertinente para o embasamento deste estudo. No **Capítulo 3** são apresentados os dois artigos técnico-científicos que contemplam os trabalhos de pesquisa realizados no período do doutorado, o primeiro artigo é relacionado a caracterização da mucilagem extraída dos cladódios do cacto *Opuntia monacantha*, e o segundo artigo trata da aplicação da mucilagem e da farinha do cladódio em biscoitos tipo cracker sem glúten. O **Capítulo 4** trata das considerações finais desta tese, sendo dividida em discussão geral e conclusão geral.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Obter a mucilagem e a farinha do cladódio do cacto nativo *Opuntia monacantha*, investigar as propriedades tecnológicas dos ingredientes obtidos, e analisar o efeito da adição desses ingredientes em biscoito tipo cracker sem glúten.

2.2 Objetivos específicos

- Extrair a mucilagem dos cladódios da *Opuntia monacantha* e avaliar o rendimento de processo;
- Caracterizar a composição química (centesimal, minerais, monossacarídeos), propriedades físico-químicas e morfologia do pó de mucilagem;
- Investigar o tamanho de partícula e as propriedades funcionais (solubilidade, propriedades emulsificantes, propriedades espumantes, propriedades de viscosidade) da mucilagem em solução;
- Obter a farinha do cladódio do cacto;
- Caracterizar a composição centesimal, minerais, propriedades físico-químicas e propriedades funcionais da farinha de cladódio;
- Elaborar biscoitos tipo cracker sem glúten utilizando como ingredientes a mucilagem e a farinha do cladódio;
- Analisar a composição centesimal e as propriedades físicas dos biscoitos;
- Avaliar os compostos bioativos e a atividade antioxidante da mucilagem, da farinha do cladódio e dos biscoitos;
- Verificar a aceitação sensorial dos biscoitos desenvolvidos.

CAPÍTULO 2: REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Hidrocoloides

O termo hidrocoloides se refere a um grupo heterogêneo de polímeros de cadeia longa (polissacarídeos e proteínas), caracterizados por suas propriedades de formar dispersões viscosas e/ou géis, quando adicionados em água. A presença de um grande número de hidroxilos (-OH) aumenta acentuadamente sua afinidade por ligações com moléculas de água, o que os torna compostos hidrofílicos. Além disso, quando em contato com a água, produzem uma dispersão, que é um sistema intermediário entre uma solução verdadeira e uma suspensão, exibindo as propriedades de um coloide. Consequentemente, eles são apropriadamente denominados “hidrocoloides” (SAHA; BHATTACHARYA, 2010).

Os hidrocoloides possuem a habilidade de modificar as propriedades reológicas e funcionais dos produtos alimentícios, mesmo em pequenas quantidades (geralmente usados em concentrações menores que 1%). Muitos produtos como pães, molhos, xaropes, sorvetes, alimentos instantâneos, bebidas e ketchup podem conter hidrocoloides em suas formulações (KOCHEKI et al., 2009; WILLIAMS; PHILLIPS, 2009). Os hidrocoloides comercialmente importantes e suas origens são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Fontes de hidrocoloides comercialmente importantes.

	Árvores	celulose
	Gomas exsudadas de árvores	goma arábica, goma karaya, goma ghatti, goma tragacanto
Botânica	Plantas	amido, pectina, celulose
	Sementes	goma guar, goma alfarroba, goma tara, goma tamarindo
	Tubérculos	konjac manana
Algas	Algas vermelhas	ágár, carragena
	Algas marrons	alginato
Microbiana		goma xantana, curdlana, dextransa, goma gelana, celulose
Animal		gelatina, caseinato, proteína do soro do leite, quitosana

Fonte: Williams e Phillips (2009).

Os hidrocoloides podem apresentar uma ampla gama de propriedades funcionais. Dentre elas, podem-se citar as funções de espessante, gelificante, emulsificante, estabilizante,

controle do crescimento de cristais de gelo e açúcar, embora as propriedades básicas para as quais os hidrocoloides encontram um uso extensivo são como agentes espessantes e gelificantes (SAHA; BHATTACHARYA, 2010). Também existem estudos que demonstram o uso dos hidrocoloides como substitutos de gordura, substitutos do glúten na formulação de pães sem glúten, e como fonte de fibras (LI; NIE, 2016; ROSELL; ROJAS; BARBER, 2001).

A capacidade de agir como espessante é uma característica comum a todos os hidrocoloides, entretanto, apenas alguns deles possuem a capacidade de formar géis sob certas condições. Os principais hidrocoloides utilizados como espessantes são a goma xantana, a goma guar, a goma alfarroba (LBG), e as derivadas da celulose. Os hidrocoloides do tipo gelificante são o alginato, a pectina, a carragenina, a gelatina, a gelana e o ágar (SAHA; BHATTACHARYA, 2010; WILLIAMS; PHILLIPS, 2009).

Na Tabela 2, encontram-se as propriedades e aplicações em alimentos de alguns hidrocoloides que têm sido utilizados como agentes espessantes em vários sistemas alimentícios, de acordo com Saha e Bhattacharya (2010).

Tabela 2 – Hidrocoloides espessantes: suas características e aplicações.

Hidrocoloide	Propriedades	Aplicações
Xantana	Altamente pseudoplástica; mantém a viscosidade na presença de eletrólitos, alta temperatura e amplas faixas de pH	Sopa, caldo de carne, ketchup, bebidas instantâneas, recheios, sobremesas e coberturas
Carboximetilcelulose (CMC)	Alta viscosidade, mas é reduzida com a adição de eletrólitos e em baixos pH	Molho para salada, caldo de carne, recheio de frutas, ketchup
Metil celulose (MC) e Hidroxipropilmelcelulose (HPMC)	Aumenta a viscosidade com a temperatura, mas independente do pH e da presença de eletrólito	Molho para salada, massa de bolo, bebidas, chantilly e sobremesas
Goma arábica	Goma de baixa viscosidade; pseudoplástica em baixas taxas de cisalhamento ($< 10 \text{ s}^{-1}$); comportamento próximo ao newtoniano com taxa de cisalhamento acima de 100 s^{-1}	Bebidas à base de suco de frutas, refrigerante
Galactomananas: goma guar, goma alfarroba (LBG) e goma tara	Viscosidade alta em baixas taxas de cisalhamento; altamente pseudoplásticas, independente de eletrólitos, mas degradam e perdem a viscosidade em pH alto e baixo e em altas temperaturas	Laticínios incluindo sorvete, ketchup, suco de frutas, pó para pudim, massa de bolo

Fonte: Saha e Bhattacharya (2010).

A seleção do hidrocoloide adequado para cada sistema depende das funções apresentadas pelo mesmo, das condições de processamento (ex. temperatura, taxa de cisalhamento, concentração, pH) e das propriedades desejáveis no alimento. Além disso, o preço e a disponibilidade são importantes (FARAHNAKY et al., 2013; LI; NIE, 2016).

O mercado mundial de hidrocoloides utilizados pela indústria de alimentos é da ordem de US\$ 4 bilhões por ano. O amido e os derivados de amido são de longe os mais abundantes, representando cerca de 70% do valor total de mercado, seguido pela gelatina (12%), pectina (5%), carragena (5%) e goma xantana (4%). A goma alfarroba, a goma guar, os alginatos e as gomas derivadas de celulose são responsáveis pela maior parte do restante. Os níveis de uso são ditados pelo custo e facilidade de fornecimento. Os amidos são os espessantes mais frequentemente usados devido ao seu baixo custo. No entanto, a goma xantana apesar de apresentar custo mais elevado do que o amido e alguns outros hidrocoloides, tem se tornado o espessante da escolha em muitas aplicações devido às suas propriedades reológicas únicas (LI; NIE, 2016).

A demanda por hidrocoloides com funcionalidade específica aumenta a cada ano. Assim, cientistas e profissionais da área de alimentos estão sempre à procura de novas fontes de polissacarídeos (KOCHEKI et al., 2009; VARDHANABHUTI; IKEDA, 2006; WILLIAMS; PHILLIPS, 2009). Consequentemente, ainda é interessante a busca por novas fontes de hidrocoloides de plantas para atender a esta demanda.

Para o setor de aditivos alimentares, o Brasil é um grande importador de hidrocoloides, em função do grande uso destes produtos pela indústria e da sua baixa produção. Este problema, no entanto, pode ser amenizado a partir de pesquisas de fontes alternativas para obtenção desses ingredientes, atendendo assim as necessidades do setor (DA CUNHA; DE PAULA; FEITOSA, 2009; LIMA-JUNIOR et al., 2013; MERCÊ et al., 2001).

3.2 Cactáceas

A família Cactaceae possui aproximadamente 100 gêneros e 2000 espécies. Estima-se que de 12 a 15 gêneros, e 50 a 80 espécies, possuem aptidões agrícolas, sendo que os frutos das cactáceas são os principais produtos para a agricultura, pois a maioria dos cactos produz frutos comestíveis (KIESLING, 2001).

No Brasil existe uma grande diversidade de gêneros, espécies e variedades de cactos, ocorrendo aproximadamente 40 gêneros e 200 espécies (TAYLOR; ZAPPI, 2004). No Rio Grande do Sul, a família Cactaceae pode ser encontrada principalmente associada às

formações vegetais ou em afloramentos rochosos (BRUXEL; JASPER, 2005).

Os cactos são plantas perenes, geralmente suculentas e altamente especializadas. Apresentam hábito arbóreo, arbustivo, epífítico ou geófito; possuem caule colunar, cilíndrico, globoso, tuberculado, com costelas, alado ou achatado, frequentemente segmentado, geralmente sem folhas e com espinhos, esverdeado e com função fotossintetizante; as flores são vistosas, isoladas e raramente agrupadas; os frutos, carnosos ou secos, possuem sementes numerosas e endosperma ausente ou presente (BARTHLOTT; HUNT, 1993).

Segundo Barthlott e Hunt (1993), a família Cactaceae está dividida em três subfamílias:

- Opuntioideae: apresenta espécies tipo árvore ou arbusto, com folhas; há hastes e folhas suculentas e areolas axilares com espinhos; divididas em cinco gêneros;
- Pereskioideae: apresentam hastes não suculentas, folhas grandes, areolas axilares com espinhos; representada pelos gêneros *Pereskia* e *Maihuenia*;
- Cactoideae: geralmente árvores sem folhas ou com vestígios de folhas; possuem hastes suculentas com areolas bem desenvolvidas; é a subfamília mais numerosa com 91 gêneros.

As cactáceas desenvolveram adaptações para viverem em ambientes com pouca disponibilidade de água. Uma das adaptações para diminuir a perda da água através da transpiração é a redução da área foliar. Muitas perderam totalmente as folhas, transpiram e realizam fotossíntese pelos cladódios que são caules modificados. A principal adaptação fisiológica é o metabolismo da fotossíntese, a via CAM (Metabolismo Ácido das Crassuláceas), que permite a estas plantas fixar o CO₂ durante a noite, quando as taxas de evaporação são mais lentas, reduzindo assim a perda de água durante a fotossíntese (CARNEIRO et al., 2016). Além disso, a habilidade das cactáceas de reter água sob condições climáticas desfavoráveis tem sido relacionada à presença de células mucilaginosas nos cladódios e nos frutos (SÁENZ; SEPÚLVEDA; MATSUHIRO, 2004).

3.2.1 *Opuntia* ssp.

O gênero *Opuntia*, o mais expressivo da família Cactaceae, é nativo das Américas do Sul e Central. No início do século XX, foram introduzidas na Austrália e nos Estados Unidos da América, com fins ornamentais e agronômicos (LENZI; SOARES; ORTH, 2006). Os principais países em que podem ser encontradas são: México, Argentina, Peru, Bolívia, Brasil, Estados Unidos, Espanha, Itália, África, Israel e África do Sul (SÁENZ; SEPÚLVEDA;

MATSUHIRO, 2004).

A planta *Opuntia* inclui aproximadamente 300 a 400 espécies e grande número de variedades, largamente distribuídas na América, sendo o México o país com maior abundância de espécies, podendo ser considerado o centro da origem e da diversidade deste gênero. No Brasil, o gênero *Opuntia* é representado por mais de 150 espécies e os indivíduos deste grupo são comumente conhecidos como “Opuntias” ou palmas-forrageiras (LENZI; ORTH, 2012).

O “nopal cactus” ou cacto nopal (*Opuntia* ssp.) é a cultura mais cultivada de cacto comestível no mundo, sendo a espécie *O. ficus-indica* a mais importante economicamente. Os frutos desses cactos são chamados de “prickly pear” ou pera espinhosa. Do gênero *Opuntia* apenas 10 ou 12 espécies estão, até então, entre as utilizadas pelo homem, sendo como espécies cultivadas a *O. ficus-indica*, a *O. amyclaea*, a *O. xoconostle*, a *O. megacantha* e a *O. streptacantha*, e como espécies silvestres a *O. hyptiacantha*, a *O. leucotricha* e a *O. robusta* (VILLASEÑOR, 2008).

As características de tais espécies são variáveis e diferenciam-se na forma dos cladódios, na presença ou ausência de espinhos, no tamanho e na cor dos frutos, entre outras. As *Opuntia* ssp. possuem duas partes comestíveis (Figura 1). A primeira parte é representada por uma haste carnuda (Figura 1c), também conhecida como cladódio, caule ou talo de cacto, “nopalito” (cladódio jovem) ou folha de cacto. A segunda parte comestível são os frutos (Figura 1b), os quais são bagas carnudas, com variações na forma, tamanho e cor, possuem casca grossa, polpa de sabor delicado e suculenta, com número consistente de sementes (EL-SAMAHY et al., 2006).

Figura 1 – Planta do cacto nopal (*Opuntia streptacantha*) evidenciado suas partes comestíveis.



Legenda: Partes comestíveis: a) planta, b) frutos, c) cladódios.

Fonte: Romano (2013).

Villaseñor (2008) relata o uso das *Opuntia* ssp., de nome popular “nopal”, para várias finalidades. Sendo utilizada como fruta, hortaliça, forragem (planta forrageira na alimentação animal), planta medicinal, substrato para a produção do corante carmim de cochonilha (ácido carmínico), matéria-prima para produção de cosméticos e bebidas alcoólicas. Em muitos países, se utiliza o “nopal” para proteger o solo da erosão hídrica e eólica para evitar a desertificação. Segundo Sepúlveda et al. (2007), como resultado do uso potencial do “nopal” em vários produtos no mercado mundial, tais como suco de frutas, iogurtes, etc., o interesse econômico no gênero *Opuntia* aumentou consideravelmente, assim como a área cultivada. O interesse no gênero é devido ao importante papel que desempenha em zonas áridas e semi-áridas, com sucesso dos sistemas sustentáveis de agricultura (SEPÚLVEDA et al., 2007). Por todas as características e funções mencionadas a FAO (*Food and Agriculture Organization*) reconhece a importância das cactáceas como recurso natural e fonte potencial de renda, emprego e nutrientes, especialmente em países em desenvolvimento, através da exploração econômica das várias espécies, com consequências excelentes para o meio ambiente e para segurança alimentar (VILLASEÑOR, 2008).

3.2.2 Usos medicinais e terapêuticos

Há uma extensa variedade de doenças que a medicina popular, clama (principalmente no México) serem combatidas e curadas com os cladódios e os frutos dos cactos, ou outras partes da planta ou de suas flores. Algumas destas aplicações não apresentam base científica, em contrapartida, alguns estudos demonstraram efeitos em casos de diabetes mellitus, hiperlipidemia (excesso de lipídios no sangue) e obesidade (FEUGANG et al., 2006; SÁENZ, 2000; SÁENZ; SEPÚLVEDA; MATSUHIRO, 2004; STINTZING; CARLE, 2005).

Frati, Jiménez e Ariza (1990) estudaram o efeito hipoglicêmico dos cladódios de *O. ficus-indica*, e observaram que a glicemia diminuiu em todos os pacientes testados após a ingestão de *O. ficus-indica*, e atingiu níveis estatisticamente significativos após 120 e 180 min. Contudo, em outro experimento, Frati-Munari, Lastra e Andraca (1992) avaliaram o papel de cápsulas comerciais de cladódios secos no tratamento da diabetes mellitus. A experiência envolveu uma dosagem de 30 cápsulas, cada uma contendo 335 mg de cladódios secos, para indivíduos diabéticos; um teste controle também foi realizado com 30 cápsulas de placebo. Concluiu-se que as cápsulas de “nopal” não mostraram efeito hipoglicêmico e não influenciaram no teste de tolerância à glicose. Em pacientes diabéticos os níveis de glicose sérica, colesterol e triglicerídeos não se alteraram com a *Opuntia*, mas aumentaram com o

placebo. Em indivíduos saudáveis a glicemia não se alterou com o “nopal”, enquanto que o colesterol e os triglicerídeos diminuíram.

Ramirez e Aguilar (1995) apresentaram uma revisão das evidências do efeito da *Opuntia* sobre a redução da glicose sérica; com acesso a oito diferentes estudos eles concluíram que esta meta-análise sugere que a *Opuntia* teve um forte efeito de redução da glicose. Entretanto, eles indicaram, que embora excelentes, ainda são resultados preliminares. Trejo-González et al. (1996) avaliaram a atividade hipoglicêmica de um extrato purificado do cacto (*Opuntia fuliginosa*) em ratos diabéticos induzidos por STZ (estreptozotocina). Eles concluíram que, embora o mecanismo de ação seja desconhecido, a magnitude de controle da glicose pela pequena quantidade requerida de extrato de *Opuntia* (1 mg/kg de peso corporal por dia) indicou o papel predominante da fibra dietética na atividade hipoglicêmica.

O efeito dos cladódios sobre o metabolismo das lipoproteínas de baixa densidade foi estudado por Fernández, Trejo, Mcnamara (1990), sugerindo que o extrato da planta agiu de maneira semelhante à de outros compostos usados para diminuir os níveis de colesterol.

Cárdenas, Serna e Velasco (1998) estudaram o efeito da ingestão de cladódios crus e cozidos (*O. ficus-indica*) no perfil de colesterol total, lipoproteínas e glicose no sangue de ratos. Eles testaram o efeito de duas concentrações diferentes (6% e 12%) e de duas apresentações (cru e cozido) de “nopal”. O cozimento afetou ligeiramente alguns dos nutrientes analisados. Ratos alimentados com 12% de “nopal” tiveram menor ganho de peso quando comparados com os seus homólogos alimentados de 6% de “nopal” ou ao grupo controle. O consumo de “nopal” não afetou os níveis de glicose, colesterol total e HDL-colesterol. No entanto, os ratos alimentados com “nopal” cru na concentração de 12% tiveram uma redução de 34% nos níveis de LDL-colesterol; assim, o “nopal” cru teve um efeito potencialmente benéfico para os indivíduos com hipercolesterolemia.

Ao avaliarem o conteúdo nutricional dos cladódios da *O. ficus-indica*, Hernández-Urbiola, Pérez-Torrero e Rodríguez-García (2011) evidenciaram os benefícios associados ao teor de fibras, os quais foram elevados nos cladódios, especialmente para a prevenção de doenças como a diabetes, tratamento de distúrbios gastrointestinais, redução nos níveis de glicose no sangue, além dos efeitos anti-hiperlipidêmico e anti-hipercolesterolêmico. A presença de cálcio também foi relatada, sendo que quantidades maiores foram encontradas em cladódios mais velhos. Este resultado indica que o “nopal” tem potencial na prevenção e tratamento de doenças como a osteoporose.

Vários autores encontraram outros efeitos fisiológicos que sugerem novos produtos farmacêuticos à base de extratos dos cladódios e da casca dos frutos. Este é o caso dos

trabalhos realizados por Galati et al. (2001; 2002a) sobre a ação protetora da mucosa gástrica, através da qual se poderia prevenir úlceras gástricas. Vázquez-Ramírez, Olguín-Martínez e Hernández-Muñoz (2006) indicaram que a mucilagem do cacto acelerou a restauração da mucosa gástrica em ratos induzidos com gastrite alcoólica. Em outro estudo, indicou-se que o extrato de *O. ficus-indica* poderia reduzir os sintomas associados aos efeitos da ingestão de álcool (*hangover*), diminuindo a resposta inflamatória dos estímulos estressantes causados pelo álcool (WIESE et al., 2004). O estudo de Galati et al. (2002b) indicou que o cacto *O. ficus-indica* possui atividade diurética e por isso ajudaria a controlar o peso e a hipertensão.

A atividade anti-inflamatória de extratos da fruta e dos cladódios também foi estudada por Loro, del Rio e Pérez-Santana (1999), Park et al. (2001) e mais recentemente por Panico et al. (2007). Os últimos autores indicaram que o extrato dos cladódios de “nopal” teve um efeito protetor maior sobre alterações da cartilagem do que o ácido hialurônico, comumente empregado em tratamentos para lesões nas articulações.

A atividade antioxidante dos cladódios de *O. ficus-indica* foi avaliada por Lee et al. (2002). Ahmad et al. (1996) estudou as propriedades antivirais de um extrato de *O. streptacantha*. Kim et al. (2006) sugeriram que o extrato metanólico da fruta *O. ficus-indica* ajudou a aliviar a lesão neuronal excitotóxica causada por uma isquemia global. Trombetta et al. (2006) e Park e Chum (2001) avaliaram os efeitos da mucilagem do cladódio para alívio da pele irritada. Descobriu-se que a aplicação cutânea desta induziu a reparação do tecido lesado, acelerando a fase de re-epitelização. Outro benefício encontrado nos cactos é que seus extratos podem proteger o fígado contra danos causados pela ingestão de inseticidas organofosforados, e por sua vez, diminuem a toxicidade destes produtos químicos (NCIBI et al., 2008).

Todos esses estudos abrem novos horizontes para o gênero *Opuntia* em uma área que é de especial interesse, a saúde humana.

3.3 *Opuntia monacantha*: a espécie em estudo

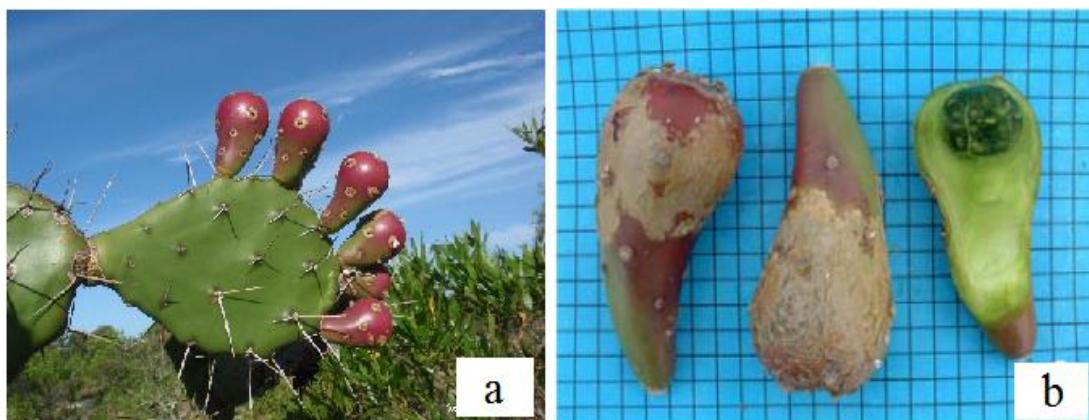
A *Opuntia monacantha* (Willdenow) Haworth pertencente à família Cactaceae, subfamília Opuntioideae, é popularmente conhecida por urumbeba, monucuru ou palmatória. É uma planta frutífera não cultivada, porém relativamente comum na natureza, nativa na costa litorânea do Brasil, principalmente em restingas abertas. Essa cactácea, também pode ser encontrada na literatura por *Cactus urumbeba* Vell., *Opuntia urumbeba* (Vell.) Steud. ou *Opuntia arechavaletae* Speg. (LORENZI et al., 2006). No país, a espécie está distribuída nos

estados da Bahia, Sergipe, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Além do Brasil, a cactácea também pode ser encontrada de forma nativa na Argentina, Paraguai e Uruguai (GONZAGA et al., 2014). A espécie foi introduzida e naturalizada na Austrália, China, Cuba, Himalaia, Índia e África do Sul (VALENTE et al., 2010).

Lorenzi et al. (2006) definem a planta como sendo um subarbusto suculento, ereto ou decumbente, de 1-3 m de altura. O tronco principal é muito curto e achatado, com cladódios grossos (Figura 2a) e com segmentos de 10-20 cm de comprimento, com auréolas espaçadas de 2-4 cm, portando cada uma 1-2 espinhos pungentes de 1-5 cm. As flores são solitárias, diurnas, andróginas e dispostas no ápice do segmento terminal, formadas na primavera. Os frutos (Figura 2b) são do tipo baga, alongados, contendo polpa suculenta globosa de cor verde no ápice e placenta amarelada na base.

De acordo com Kinupp (2007), como fruta, aproveita-se apenas a região apical dos frutos. A polpa do fruto é verde-escura (Figura 2b) e seu sabor agridoce é muito agradável (similar ao kiwi) tanto na coloração, quanto no sabor. Esta polpa pode ser consumida no estado natural, ou utilizada para o preparo de sucos, geléias, licores, sorvetes e molhos.

Figura 2 – *Opuntia monacantha* (Willd.) Haw.



Legenda: a) cladódios com grande carga de frutos maduros, b) frutos maduros evidenciando a porção comestível como fruta.

Fonte: (a) Chaves (2012); (b) Lorenzi et al. (2006).

A casca dos frutos (epicarpo) maduros é de um vermelho-rosado intenso, possivelmente pela presença do pigmento betalaína, comum nas famílias da ordem Caryophyllales. Este pigmento tem importância nutricional e nutracêutica e merece estudos para seu isolamento e purificação para posterior aplicação na indústria alimentícia.

Os pedúnculos dos frutos podem ser consumidos cozidos ou utilizados para engrossar

geléias e outros doces. Os frutos são recobertos com gloquídios extremamente irritantes quando inadvertidamente entram em contato com o corpo. Para a colheita e manejo é necessário o uso de luvas grossas. Para aproveitamento doméstico, os frutos podem ser colocados em água fervente por alguns minutos e assim os gloquídios tornam-se macios, soltam-se e perdem a capacidade de penetrar na pele. Os cladódios (artículos), também chamados genericamente de “nopal” ou “nopalitos” conforme já mencionado, são utilizados como hortaliça em alguns países e podem ser consumidos cozidos ou transformados em pães, bolos, sucos verdes, e utilizados como espessantes em geléias (KINUPP, 2007).

A espécie *O. monacantha*, juntamente com outras três espécies nativas do Rio Grande do Sul (*O. elata*, *O. megapotamica*, *O. viridirubra*), foi considerada promissora dentro do programa “Plantas do Futuro” de execução do Ministério do Meio Ambiente (KINUPP; LISBÔA; BARROS, 2011), devido ao potencial como frutífera e como hortaliça. Esse programa visa encontrar novas opções de cultivo para o pequeno produtor, assim como fomentar oportunidades de investimento pelo setor empresarial. Por se tratar de uma espécie nativa, a *O. monacantha* apresenta potencial extrativista, de domesticação e cultivo em escala, como já ocorreu com outras espécies de plantas, por exemplo, a *O. ficus-indica*, tendo como principal vantagem, a ocorrência natural em regiões onde as demais atividades agrícolas são dificultadas devido ao solo raso, pedregoso e com escassez de água.

Outro uso potencial promissor desta espécie de *Opuntia* é para a criação de cochonilhas para extração de corantes naturais, como o vermelho-carmim, utilizado sobretudo para fins alimentícios (indústrias de iogurtes, bebidas alcoólicas, etc.), além de corante para tecidos. Isto já é comercialmente feito com a *O. ficus-indica* e a *Nopalea cochenillifera* (L.) Lyons. Espécies de cochonilhas produtoras de corantes crescem espontaneamente nos cladódios de *Opuntia* nativas, especialmente sobre a *O. monacantha*, com formação de colônias esbranquiçadas, sendo necessário apenas seleção e manejo adequados (KINUPP; LISBÔA; BARROS, 2011).

De acordo com Kinupp, Lisbôa e Barros (2011), diferentemente das outras três espécies de *Opuntia*, as quais apresentam uma distribuição mais restrita no Rio Grande do Sul (a *O. elata* predominantemente no sudoeste gaúcho, a *O. megapotamica* predominantemente na Serra do sudeste do RS (Caçapava do Sul, Santana da Boa Vista e Bagé), e a *O. viridirubra* encontrada nas Guaritas (Caçapava do Sul) e região pampiana), a *O. monacantha* apresenta uma distribuição mais ampla, incluindo toda a região costeira, Serra do Sudeste e também os morros graníticos da região de Porto Alegre. O gênero *Opuntia* no sul do Brasil mostra-se como um importante recurso genético a ser melhor pesquisado, sobretudo porque pode ser

cultivado e/ou manejado em áreas negligenciadas pela agricultura contemporânea, como solos arenosos e rochosos.

Não existem muitos dados científicos publicados para a *O. monacantha*. Alguns poucos estudos avaliaram a composição centesimal e físico-química dos cladódios e dos frutos da espécie, ou ainda investigaram algumas propriedades terapêuticas deste cacto.

Kinupp e Barros (2008) analisaram os cladódios em relação ao teor proteico e mineral, e encontraram um valor de 3,91% de proteína (base seca) e valores elevados de magnésio, zinco e boro. Valente et al. (2010) avaliaram o teor de nutrientes dos cladódios da *O. monacantha* e encontraram 91,1% de umidade, 15% de cinzas (base seca), 18,5% de fibra bruta (base seca), 5,4% de proteína (base seca) e 1,4% de lipídeos (base seca), valores esses, similares aos encontrados em outras *Opuntia* ssp. Os pesquisadores também isolaram kaempferol e isorhamnetina nos extratos metanólicos dos cladódios, os quais devem ter contribuição na atividade antioxidante *in vitro* apresentada pela *O. monacantha*. Zhao et al. (2007) ao avaliarem os extratos aquosos dos cladódios em relação a composição polissacarídica, encontraram principalmente ramnose e glicose e uma menor proporção de arabinose e manose, e também determinaram a presença de ácido glicurônico.

Em relação as propriedades terapêuticas, alguns estudos demonstraram que o polissacarídeo extraído dos cladódios da planta apresentou moderada atividade anti-tumor (VALENTE et al., 2007), e significativos efeitos anti-diabetes (YANG et al., 2008) e anti-glicação (ZHAO et al., 2007).

Oliveira et al. (1992) avaliaram as características físico-químicas da polpa do fruto de *O. monacantha* e encontraram pH de 5,3, sólidos solúveis de 12 °Brix, acidez total titulável de 0,20%, açúcares redutores de 7,9%, cinzas de 0,28% e umidade de 95,23%. De Bona (2014) avaliou a composição nutricional, compostos bioativos e atividade antioxidante da polpa dos frutos da *O. monacantha*, e encontrou que a qualidade nutricional do fruto é promissora, especialmente em comparação com outras espécies do mesmo gênero *Opuntia*. A polpa do fruto da *O. monacantha* se destacou em relação aos níveis de carotenoides (luteína e β-caroteno), flavonoides (luteolina), compostos fenólicos totais e clorofila total.

3.4 O cacto como alimento e/ou fonte de ingredientes

3.4.1 Cladódios

Os “nopalitos” têm sido utilizados como vegetal fresco, tradicional na dieta mexicana

durante séculos, e são ingredientes em uma diversidade de pratos, incluindo molhos, saladas, sopas, refogados, lanches, bebidas e sobremesas (RODRIGUEZ-FELIX, 2002; SÁENZ, 2000). A produção no México é em torno de 600 milhões de toneladas de peso fresco por ano e, embora os mexicanos sejam os principais consumidores, atualmente eles também são um vegetal tradicional em algumas áreas dos Estados Unidos e são exportados do México para a Europa e Ásia como um produto *gourmet* (vendido em salmoura ou conserva) (PÉREZ-CACHO et al., 2006).

O conteúdo de nutrientes dos cladódios pode variar conforme a sua idade, por exemplo, a fibra bruta (apenas uma porção da fibra dietética total) aumenta com a idade do cladódio, atingindo 17,5% (base seca) (PIMIENTA, 1990). A composição centesimal média dos cladódios foi reportada na revisão de Stintzing e Carle (2005), conforme demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3 – Composição centesimal média dos cladódios de *Opuntia* ssp. (sem espinhos).

	Em base de matéria seca (g/100g)	Em base de matéria úmida (g/100g)
Água	-	88-95
Carboidratos	64-71	3-7
Cinzas	19-23	1-2
Fibra bruta	18	1-2
Proteínas	4-10	0,5-1
Lipídeos	1-4	0,2

Fonte: Stintzing e Carle (2005).

Rodriguez-Felix e Cantwell (1988) relataram que a composição química dos cladódios jovens (“nopalitos”) é de alta proporção de água (cerca de 91%), 12% de proteína (base seca), 2,7% de lipídeos (base seca), 14,3% de cinzas (base seca), 12,9% de fibra bruta (base seca), 58,1% de carboidratos totais (base seca); apresentam também vitamina C (9,8 mg/100 g base fresca) e carotenoides (29,8 µg/100 g base fresca). Sáenz (2006) indica que se pode comparar o valor nutricional dos “nopalitos” frescos com a alface ou o espinafre, com a vantagem de que eles podem ser produzidos de forma rápida e abundante por plantas expostas a altas temperaturas e com pouca água, condições geralmente desfavoráveis para a produção de vegetais folhosos.

Segundo Flôres (2001), para que possam ser utilizados como verdura na alimentação humana as “raquetes” ou brotos de palma devem ser colhidos 30 a 60 dias após a brotação, com 80 a 120 gramas e 15 a 20 cm de comprimento. Guedes et al. (2004) fornecem

equivalência do peso do cladódio em relação ao tamanho: pequeno = 40-60 g; médio = 90-110 g e grande = 150-200 g. Segundo os mesmos autores, o cladódio ideal para uso em preparações culinárias deve apresentar características como: tamanho semelhante à palma da mão de uma pessoa adulta, cor verde brilhante, sem espinhos e encontrar-se facilmente quebrável quando dobrado, o que significa estar fresco para o uso. Devido ao tipo de metabolismo, baseado no ácido crassuláceo, o cacto apresenta diferentes teores de acidez durante o dia. Isto deve ser levado em consideração no momento da colheita, já que deverão ser conjugados os efeitos da acidez nos processos de conservação e aceitação do produto pelos consumidores (VALDEZ-CEPEDA et al., 2008).

A espessura dos cladódios (de aproximadamente 2-3 cm) depende tanto da idade da planta quanto da quantidade de água e nutrientes recebidos durante o crescimento. A epiderme apresenta duas camadas, uma de células verdes, o clorônquima (camada externa), e a outra (camada interna), que é formada por um cilindro de células brancas, denominado parênquima. Sua principal função é o armazenamento de água. Dentro desses tecidos, no clorônquima e parênquima, há células mucilaginosas que armazem mucilagem. Essas células especiais são mais abundantes no parênquima. Esta mucilagem complexa apresenta a propriedade osmótica de reter água fortemente (SEPÚLVEDA et al., 2007).

Stintzing e Carle (2005) destacam que os cladódios, além de vitamina C e β-caroteno, contêm vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e niacina) e compostos fenólicos, tais como flavonoides (quercetina, kaempferol, isorhamnetina) e ácidos fenólicos. Adicionalmente, são fonte de minerais, dentre eles potássio, cálcio, magnésio e ferro. Também apresentam uma importante quantidade de fibras, como a celulose (11%), hemicelulose (8%) e lignina (3,9%), assim como grande quantidade de pectinas e mucilagens. Os primeiros três componentes formam a fração insolúvel da fibra dietética. A mucilagem ou “baba” corresponde a fração solúvel em água, e a sua composição é de principalmente açúcares simples: arabinose (42%), xilose (22%), galactose (21%), ácido galacturônico (8%) e ramnose (7%).

No estudo dos cladódios da *O. ficus-indica* de Jaramillo et al. (2003) os carotenoides luteína, β-caroteno e α-criptoxantina foram identificados e quantificados, sendo que a luteína foi encontrada em maior concentração (representou 44%), seguido do β-caroteno (36%) e da α-criptoxantina (20%), contabilizando 229 µg/g em base seca (carotenoides totais); a atividade antioxidante apresentada pelos extratos dos cladódios foi correlacionada com o conteúdo de carotenoides. O teor de compostos fenólicos totais foi de 1,59 mg/g, e segundo os autores teve menor contribuição na atividade antioxidante apresentada pela amostra.

Do ponto de vista industrial, os cladódios podem ser utilizados de diferentes formas, dependendo do estágio de desenvolvimento: quando são jovens, brotos tenros (10-15 cm) se usam para produção de “nopalitos”, e quando estão parcialmente lignificados (cladódios de 2-3 anos) são aproveitados para a produção de farinha (conforme Figura 3) e outros produtos (VALDEZ-CEPEDA et al., 2008).

Figura 3 – Cladódios de *O. ficus-indica* (aproximadamente 36 meses de desenvolvimento) utilizados para produção de farinha.



Legenda: a) cladódios; e b) farinhas de diferentes granulometrias.
Fonte: Gusmão (2011).

A farinha obtida dos cladódios do “nopal” tem sido investigada em relação às suas propriedades, assim como testada em diferentes alimentos, devido ao seu elevado teor de fibra dietética. Essa farinha poderia substituir outras fontes de fibras vegetais (SÁENZ, 1997; SÁENZ, 2000).

Sepúlveda, Sáenz e Moreno (1995) obtiveram um concentrado com alto teor de fibra natural da *O. ficus-indica*, a qual foi denominada de “farinha de nopal”. Os cladódios (de 2 a 3 anos de idade) utilizados, foram considerados matérias-primas muito baratas, já que foram procedentes da poda da planta destinada a produção comercial de frutas.

Sáenz et al. (1997) relatou o efeito da concentração da farinha (2,5, 5,0, e 7,0%), temperatura e pH sobre a viscosidade das suspensões de “farinha nopal”. Estas características são importantes de serem conhecidas, pois outros ingredientes podem alterar o pH, podendo influenciar na qualidade do alimento quando consumido. Da mesma forma, diferentes condições de preparação e temperaturas de processamento necessário para outros co-produtos, podem afetar profundamente os produtos à base de “farinha de nopal”. Esta “farinha de nopal” obtida teve 43% de fibra dietética total, sendo 28,5% de fibra dietética insolúvel e 14,5% de fibra dietética solúvel; a umidade foi de 7,1% e a atividade de água (a_w) de 0,53,

fatores esses que podem ser ajustados conforme as condições de secagem empregadas.

A farinha do cladódio já foi utilizada como fonte de fibras na elaboração de alimentos processados, tais como: bolo, cookies e sobremesa (AYADI et al., 2009; KIM et al., 2012; SÁENZ et al., 2002a, 2002b). Contudo, Sáenz (2002) alerta que o percentual de incorporação da farinha de cladódio é limitado pelo seu efeito nas características sensoriais; qualquer adição acima de 20% afeta a textura e interfere na aceitação dos produtos, fazendo com que o painel sensorial rejeite as amostras.

3.4.2 Mucilagem

A mucilagem faz parte da fração polissacarídica das plantas, é um produto normal do seu metabolismo e se forma em células especiais dentro dos tecidos, sendo produzida sem haver prejuízo para a planta. São regularmente removidas com água quente ou fria, e são insolúveis em álcool. São também substâncias amorfas e translúcidas, polimérica formada por misturas de monossacarídeos combinados com ácidos urônicos. As mucilagens são encontradas em diferentes partes das plantas, por exemplo, em células epidérmicas de folhas (*Pereskia aculeata* Miller), na casca das sementes (linhaça, chia, psyllium), raízes (inhame), lamela média (*Aloe vera*), cladódios dos cactos (*Opuntia* spp.) (JANI et al., 2009; PRAJAPATI et al., 2013).

Além de seu uso como fruta ou vegetal, os cactos *Opuntia* spp. são considerados fonte potencial de polissacarídeos (mucilagem) que poderiam ser utilizados como hidrocoloide pela indústria de alimentos (MEDINA-TORRES et al., 2000; SÁENZ; SEPÚLVEDA; MATSUHIRO, 2004; SEPÚLVEDA et al., 2007). É bem sabido, que quando os frutos ou cladódios são manipulados e cortados, é secretado um fluido (“baba”) característico. O principal constituinte deste fluido secretado é o polissacarídeo mucilagem (CÁRDENAS; HIGUERA-CIAPARA; GOYCOOLEA, 1997). Esta mucilagem está distribuída tanto nos cladódios, como na pele (casca) e polpa do fruto, ainda que em diversas proporções (VILLASEÑOR, 2008).

A mucilagem desempenha um papel muito importante na fisiologia da planta, principalmente ao considerar que espécies de *Opuntia* crescem sob condições de estresse hídrico (NOBEL; CAVELIER; ANDRADE, 1992). O teor de mucilagem encontrado nos cladódios do cacto pode ser influenciado por alguns aspectos de manejo da cultura. A temperatura pode influenciar o conteúdo de mucilagem, assim como a irrigação e a chuva (SÁENZ; SEPÚLVEDA; MATSUHIRO, 2004). Estes fatores são importantes quando se

considera os cladódios como fonte de mucilagem (SÁENZ, 2000). Segundo Sepúlveda e colaboradores (2007) a utilização mais eficiente desta planta seria favorecida por um maior uso dos cladódios, a partir do processo de poda, para extração de hidrocoloide (mucilagem). Este componente poderia, então, ser utilizado como agente espessante em alimentos.

Variados métodos de extração e purificação da mucilagem foram reportados na literatura. A maioria dos estudos primeiramente homogeneizou os cladódios em água, e após, utilizou etanol para precipitação da mucilagem (CÁRDENAS; GOYCOOLEA, 1997; CÁRDENAS; HIGUERA-CIAPARA; GOYCOOLEA, 1997; MINDT et al., 1975; PAULSEN; LUND, 1979; SÁENZ et al., 1992; SRIVASTAVA; PANDE, 1974; TRATCHTENBERG; MAYER, 1981). Nobel, Cavelier e Andrade (1992) mudou o solvente de precipitação para 2-propanol, conforme proposto por Goldstein e Nobel (1991). O resultado obtido pareceu indicar que pelo menos 93% do precipitado seria mucilagem. Medina-Torres et al. (2000) modificou o procedimento de extração citado por McGarvie e Parolis (1979); os autores maceraram a polpa dos cladódios, depois centrifugaram, decantaram e precipitaram em acetona. O precipitado foi lavado com álcool isopropílico, e por fim seco.

Majdoub et al. (2001) utilizaram éter de petróleo para desengordurar os cladódios, e após estes foram macerados com água deionizada e em seguida filtrados sob sistema de vácuo. O filtrado foi liofilizado ou purificado por ultrafiltração, a fim de eliminar sais e outros compostos de baixo peso molecular. Os autores fizeram uma abordagem interessante em relação à presença de proteínas no primeiro produto obtido. Neste material não purificado (ou parcialmente purificado) devido à presença de proteínas, existe um potencial de propriedades emulsificantes/estabilizantes. Os autores não determinaram o rendimento dos produtos.

Como ainda não existe uma padronização do processo de extração da mucilagem, visto que diferentes autores têm reportado diferentes métodos de extração, conforme já mencionado, isso acaba influenciando nos resultados de rendimento e composição química da mucilagem (SEPÚLVEDA et al., 2007; VILLASEÑOR, 2008).

O rendimento de mucilagem (seca/pó) relatado por Cárdenas, Higuera-Ciapara e Goycoolea (1997) foi de 0,07% (base úmida), já Sáenz e Sepúlveda (1993) encontraram um rendimento próximo a 1,2% (base úmida) na extração de mucilagem dos cladódios. Sáenz et al. (1992) encontraram um rendimento de 1,0% (base úmida) na extração da casca dos frutos do cacto. Goldstein, Andrade e Nobel (1991) relataram que a mucilagem constitui uma fração importante (9-19%) dos cladódios (em base seca) da *O. ficus-indica*. Srivastava e Pande (1974) obtiveram dos cladódios de *O. dillenii* um rendimento de 0,5% (base úmida).

Sáenz e Montoya (1999) relataram que os componentes da mucilagem são de grande interesse com relação à nutrição humana, pois além dos carboidratos e fibras alimentares estão presentes alguns minerais, tais como Ca^{2+} e K^+ .

No estudo de Sepúlveda et al. (2007) foi avaliada a extração da mucilagem em meio aquoso, variando-se o tempo de extração (4 h, 8 h e 16 h), a temperatura (16 °C e 40 °C), a proporção de matéria-prima: água (1:5 e 1:7), e a proporção de extrato aquoso: solvente orgânico (1:3 e 1:4) utilizado para precipitação (foram utilizados dois tipos de álcool: álcool isopropílico 95% e etanol 95%). Os resultados não demonstraram diferença significativa entre os tratamentos (com um nível de significância de 0,05), concluindo-se que os fatores não afetaram o rendimento de extração, a composição química e a cor da mucilagem. Na Tabela 4 são mostrados alguns dados sobre a composição da mucilagem extraída por precipitação alcoólica de Sepúlveda et al. (2007).

Tabela 4 – Rendimento da mucilagem e composição química (g/100 g de base úmida).

Solvente	Rendimento % (b.s.)	Rendimento % (b.u.)	Umidade	Proteína	Cinzas	N	Ca	K
Etanol 95% (relação extrato aquoso: álcool = 1:3)	1,51	20,9	6,0	7,5	36,8	1,02	8,3	1,15
Isopropanol 95% (relação extrato aquoso: álcool = 1:3)	1,36	18,9	6,2	6,7	38,1	1,07	8,2	1,15

Fonte: Sepúlveda et al. (2007).

Por outro lado, Cai, Gu e Tang (2008) ao realizaram um estudo da extração dos polissacarídeos de *O. milpa alta*, avaliaram três fatores: proporção de matéria-prima: água, temperatura e tempo de extração. Empregaram a metodologia de superfície de resposta para maximizar o rendimento dos polissacarídeos obtidos pela combinação dos três fatores. Estes fatores de extração mostraram-se significativos sobre o rendimento, sendo que o máximo rendimento dos polissacarídeos (0,69%) foi obtido empregando uma temperatura de extração de 86,1°C, um tempo de 3,6 h e uma proporção de matéria-prima: água de 1: 3,72. Além disso, a solução de mucilagem, obtida após extração aquosa, foi precipitada com 4 volumes de etanol 95%.

Léon-Martínez, Méndez-Lagunas e Rodríguez-Ramírez (2010) apontam que devido à alta atividade de água ($a_w > 0,8$) e a composição química (polissacarídeos), a mucilagem

fresca (líquida) é suscetível ao ataque microbiano, o que limita a sua vida útil, a qual varia de 3 a 4 dias, dependendo das condições de armazenamento, principalmente temperatura. Isto levanta a necessidade de considerar alternativas de conservação para prolongar a vida útil e melhorar as características da mucilagem. Assim, uma alternativa prática para a conservação da mucilagem seria sua secagem por atomização, já que é um método muito utilizado para produtos sensíveis ao calor. Estes autores, no entanto, ao extraírem a mucilagem dos cladódios da *O. ficus-indica*, não realizaram a etapa de precipitação com algum solvente (ex. álcool), e utilizaram o sobrenadante resultante da extração aquosa, após filtração, como matéria-prima para secagem no atomizador (extrato de mucilagem padronizado para 3 °Brix). Contudo, neste trabalho, não foi reportada a composição química da mucilagem obtida por esse processo de extração, que provavelmente seria menos pura quando comparada com a mucilagem obtida por precipitação.

A composição química da mucilagem do “nopal” *O. ficus-indica* em relação aos monossacarídeos constituintes já foi relatada em muitos estudos. Por exemplo, Amin, Awad e El-Sayed (1970) descreveram a mucilagem como um polissacarídeo neutro de aproximadamente 55 resíduos, sem ácido urônico, contendo arabinose, ramnose, galactose e xilose. Por outra parte, Paulsen e Lund (1979) relataram que o extrato de *Opuntia ficus-indica* era uma mistura de frações neutras de glicose e glicoproteínas, e de frações ácidas contendo arabinose, galactose, ramnose, xilose e ácido galacturônico. Conforme Trachtenberg e Mayer (1981), a mucilagem é um polissacárido que contém arabinose, galactose, ramnose, xilose e 10% de ácido urônico. A composição da mucilagem do “nopal” foi bastante semelhante para Majdoub et al. (2001), composta principalmente de arabinose, galactose, xilose e 19,4% de ácido urônico. As contradições encontradas nos resultados podem dever-se à contaminação da mucilagem com outros compostos da parede celular, e/ou métodos de purificação que não foram completamente eficazes (SÁENZ; SEPÚLVEDA; MATSUHIRO, 2004).

Outros estudos identificaram a estrutura molecular e a composição dos monômeros feita através de diferentes técnicas cromatográficas (FORNI; PENCI; POLESELLLO, 1994; MINDT et al., 1975; SÁENZ et al., 1992; MCGARVIE; PAROLIS, 1979, 1981a, b). A mucilagem se trata de uma substância polimérica complexa, ramificada, que contém quantidades variáveis de L-arabinose, D-galactose, L-ramnose, e D-xilose, como os principais açúcares neutros. A presença de ácido D-galacturônico também foi apontada. A presença deste componente tem sido motivo de confusão por parte de diversos autores que se referem a mucilagem como uma pectina ou um pectinóide. Em geral, a mucilagem de *O. ficus-indica* foi indicada ser composta de: 24,6-42 % de arabinose; 21-40,1 % de galactose; 8-12,7 % de ácido

galacturônico; 7-13,1% de ramnose e 22 % xilose (SÁENZ; SEPÚLVEDA; MATSUHIRO, 2004). A proporção desses monômeros na molécula varia de acordo com vários fatores como: espécie, idade, condições ambientais, método de extração e parte da planta (fruto, casca, cladódio), entre outros fatores.

Estudos feitos por Cárdenas, Higuera-Ciapara e Goycoolea (1997) indicaram que o peso molecular deste hidrocoloide foi de $3,0 \times 10^6$. Este valor foi menor do que o indicado por Trachtenberg e Mayer (1981) sendo de $4,3 \times 10^6$, e bastante diferente do determinado por Medina-Torres et al. (2000) de $2,3 \times 10^4$. As diferentes técnicas de isolamento e possível contaminação da mucilagem com outros componentes celulares, podem explicar essa variação nos resultados.

Alguns trabalhos investigaram o uso da mucilagem como aditivo alimentar, devido as suas propriedades espessantes e emulsificantes (BERNARDINO-NICANOR et al., 2015; MEDINA-TORRES et al., 2003). Esses autores alegam uma provável produção industrial da mucilagem, já que esta poderia integrar a oferta de hidrocoloides comerciais.

Sáenz et al. (1992) realizaram um estudo preliminar da influência do pH no comportamento reológico das dispersões de mucilagem. A mucilagem foi obtida a partir da casca dos frutos da *O. ficus-indica*. Eles descobriram que a viscosidade da dispersão da mucilagem aumentou com o aumento do pH, atingindo um valor máximo (60 mPa.s) no pH 6,6.

Mais tarde, Cárdenas, Higuera-Ciapara e Goycoolea (1997) avaliaram o comportamento reológico da mucilagem extraída dos cladódios da *O. ficus-indica*, fazendo provas reológicas de cisalhamento simples de soluções de mucilagem em diferentes concentrações (de 0,4 % a 5,8 %; NaCl 0,1 M a 20°C). Encontrando que as soluções demonstraram um comportamento não-newtoniano, do tipo pseudoplástico, o qual se intensifica conforme a concentração de mucilagem aumenta. Estes autores usaram o modelo de equação não linear (equação de Cross) para descrever a viscosidade aparente da solução em função da taxa de cisalhamento. Os autores também realizaram estudos de viscoelasticidade, em que observaram que a resposta viscosa foi predominante sobre a resposta elástica em frequências menores, entretanto em altas frequências, as soluções concentradas se comportaram como sólidos elásticos. Os resultados indicaram que existe a formação de agregados coloidais em solução que fornecem as propriedades funcionais já identificadas para o uso da mucilagem em alimentos e em outros produtos como espessante. Esses autores também mencionaram possíveis aplicações da mucilagem como melhorador das propriedades espumantes da clara de ovo, substituto da gordura e como agente ligante de

sabor.

Medina-Torres et al. (2000) também observaram um comportamento *shear-thinning* não-newtoniano de soluções aquosas da mucilagem isolada dos cladódios de *O. ficus-indica*. Houve um aumento importante da pseudoplasticidade devido ao aumento da concentração de mucilagem. Eles utilizaram a Lei da Potência (ou modelo de Ostwald-de-Waele) para correlacionar os dados da viscosidade aparente com a taxa de cisalhamento. Eles também notaram que soluções aquosas de mucilagem tiveram propriedades elásticas muito elevadas, semelhantes àquelas dos polímeros sintéticos, tais como do poli-isobutileno. Em resumo, verificou-se que a viscosidade aparente varia em função da concentração de mucilagem, temperatura, pH e força iônica (devido a ser um polieletrólico). Também, que uma solução de mucilagem a 10 % tem viscosidade equivalente a uma solução de goma xantana a 3 %, a 25°C. Além disso, a mucilagem é um hidrocoloide que não possui a capacidade de gelificar.

A mucilagem de *O. ficus-indica* foi utilizada em concentrações variáveis em géis formados por carragenas (κ -kappa e ι -iota), em que foram estudadas as propriedades mecânicas por reologia (MEDINA-TORRES et al., 2003). A principal função da mucilagem foi promover elasticidade nos géis produzidos, sendo observada uma interação sinérgica no sistema κ -carragena/mucilagem na proporção 80/20, respectivamente, em que foi obtido um gel de maior rigidez do que o gel formado somente por κ -carragena.

Espinosa (2002) demonstrou que a adição de mucilagem de “nopal” em diferentes concentrações (0,5 e 0,8%) às espumas feitas com clara de ovo aumentou a estabilidade da espuma (menor sinérese) em relação ao controle sem adição de mucilagem.

Por fim, a mucilagem do cacto já foi testada na produção de filmes e coberturas comestíveis (DEL-VALLE et al., 2005; ESPINO-DÍAZ et al., 2010), e também como material encapsulante de *Saccharomyces boulardii* (ZAMORA-VEGA et al., 2012) e ácido gálico (MEDINA-TORRES et al., 2013).

3.5 Panificação sem glúten

As propriedades únicas da farinha de trigo são devido ao glúten, que é composto de duas principais frações proteicas: as gliadinas, que contribuem à viscosidade da massa, e as gluteninas, que são responsáveis pela elasticidade da massa. Através do fornecimento de energia mecânica nas etapas de mistura e amassamento, o glúten forma uma rede viscoelástica coesa que tem a capacidade de reter o gás (CO₂) produzido durante a fermentação, permitindo que a massa se expanda para tornar-se mais macia, mais leve e palatável após o cozimento.

Assim, o glúten contribui para a formação de estrutura, o que afeta a aparência geral de muitos produtos assados (CAPRILES; ARÊAS, 2014).

A obtenção de produtos isentos de glúten, portanto, resulta em uma tarefa bastante desafiadora, sendo muitas vezes necessária a combinação de diversos ingredientes e alteração dos processos tradicionais. Para a substituição da farinha de trigo, têm sido desenvolvidas formulações utilizando as farinhas de arroz e milho, que são frequentemente combinadas com os amidos de milho, batata ou mandioca como farinhas de base, já que são ingredientes amplamente disponíveis, baratos e brandos em sabor (CAPRILES; DOS SANTOS; ARÊAS, 2016).

No entanto, essa substituição afeta negativamente as características tecnológicas e sensoriais dos produtos, porque as farinhas sem glúten quando misturadas para formar a massa, não formam uma estrutura ou uma fase contínua, o que resulta em produtos de baixa qualidade e paladar (HUERTA et al., 2016). Para suprir a falta de glúten e simular seu comportamento viscoelástico, a adição de hidrocoloides tem tido papel estratégico para tornar a massa sem glúten viável de processamento e melhorar ao mesmo tempo a textura do produto final (CAPPÀ; LUCISANO; MARIOTTI, 2013). Eles são adicionados para aumentar a capacidade de retenção de água, assim como para elevar a retenção de gás da massa hidratada, dois papéis que o glúten desempenha nas massas à base de trigo. Assim, a adição dos hidrocoloides permite a obtenção de produtos sem glúten com alguma semelhança aos seus homólogos contendo glúten (CASPER; ATWELL, 2014).

Alguns dos hidrocoloides mais utilizados em panificação sem glúten são a goma xantana, a goma guar, a goma alfarroba e as gomas derivadas da celulose, como a CMC (carboximetilcelulose) e a HPMC (hidroxipropilmetylcelulose), os quais são caracterizados por conter elevado conteúdo de fibra solúvel (CASPER; ATWELL, 2014; TSATSARAGKOU; PROTONOTARIOU; MANDALA, 2016). Eles podem ser usados sozinhos ou em combinação para alcançar sinergias específicas entre suas respectivas propriedades funcionais (CASPER; ATWELL, 2014; MOREIRA; CHENLO; TORRES, 2013). Em formulações sem glúten, os hidrocoloides são geralmente utilizados (sozinhos ou em combinação) em quantidades que variam entre 0,3% a 5% em relação à farinha base, sendo comum os níveis de adição atingirem até 2% (CAPRILES; ARÊAS, 2014).

Além de serem utilizados como substitutos do glúten, na indústria de panificação os hidrocoloides têm sido usados para retardar o endurecimento, diminuir a retrogradação do amido, minimizar os efeitos negativos do congelamento (formação de cristais de gelo), e estender a qualidade global dos produtos. Eles podem induzir mudanças na estrutura dos

principais componentes da farinha ao longo das etapas de panificação e armazenamento do produto (ANTON; ARTFIELD, 2008; MOREIRA; CHENLO; TORRES, 2013).

Os crackers representam um dos segmentos mais importantes da indústria de panificação porque os consumidores enxergam esses produtos com menor densidade de energia em comparação com os biscoitos cookies e outros itens relacionados. São considerados um produto híbrido porque usam os procedimentos de pão e biscoito e são um dos poucos itens de panificação que podem ser fermentados com fermentação química ou biológica (SERNA-SALDIVAR, 2012).

Tal como acontece com outras massas, é importante controlar as propriedades viscoelásticas das massas de biscoito, para garantir que a mesma possa ser formada e moldada para atender as especificações do produto. Assim, na produção de biscoitos sem glúten, ingredientes adicionais também devem ser usados para compensar a ausência do glúten do trigo e proporcionar a formação de uma massa coesa, e uma das abordagens para suprir tais necessidades tem sido através do uso dos hidrocoloides nas formulações (HAN; JANZ; GERLAT, 2010). No estudo da elaboração de cracker sem glúten utilizando-se bagaço de maçã e arroz integral, MIR et al. (2017) utilizou 2% de carboximetilcelulose (CMC), obtendo bons resultados. Em outro estudo, no qual foram desenvolvidos crackers sem glúten usando diferentes farinhas de leguminosas, foi reportada a utilização de menos de 1% de goma xantana (HAN; JANZ; GERLAT, 2010).

Na literatura não foram encontrados trabalhos que reportem a utilização de ingredientes obtidos de cactos, tais como a mucilagem e a farinha do cladódio, para a produção de alimentos isentos de glúten. Apenas são reportados estudos que investigaram a adição da farinha do cladódio em produtos elaborados com farinha de trigo, tais como, cookies, pão e bolo, com o objetivo de melhorar o valor nutricional dos produtos, principalmente através da adição de fibras proporcionada pela incorporação da farinha do cladódio (AYADI et al., 2009; BOUKID; BOUKID; MEJRI, 2015; KIM et al., 2012; MSADDAK et al., 2015, 2017; SÁENZ et al., 2002a).

REFERÊNCIAS

- AHMAD, A.; DAVIES, J.; RANDALL, S.; SKINNER, G. R. B. Antiviral properties of *Opuntia streptacantha*. **Antiviral Research**, v. 30, p. 75-85, 1996.
- AMIN, EL.-S.; AWAD, O. M.; EL-SAYED, M. M. The mucilage of *Opuntia ficus-indica*. **Carbohydrate Research**, v. 15, p. 159–161, 1970.
- ANTON, A. A.; ARTFIELD, S. D. Hydrocolloids in gluten-free breads: a review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 59, n. 1, p. 11–23, 2008.
- AYADI, M. A. et al. Cladodes from *Opuntia ficus indica* as a source of dietary fiber: effect on dough characteristics and cake making. **Industrial Crops and Products**, v. 30, p. 40-47, 2009.
- BARTHLOTT, W.; HUNT, D. R. Cactaceae. In: KUBITZKI, K.; ROHWER, J. G.; BITTRICH, V. (Eds.). **The families and genera of vascular plants, v. II, Flowering Plants. Dicotyledons**, p. 161-197. Berlin: Springer-Verlag, 1993.
- BERNARDINO-NICANOR, A.; HINOJOSA-HERNÁNDEZ, E. N.; JUÁREZ-GOIZ, J. M. S.; MONTAÑEZ-SOTO, J. L.; RAMÍREZ-ORTIZ, M. E.; GONZÁLEZ-CRUZ, L. Quality of *Opuntia robusta* and its use in development of mayonnaise-like product. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 343-350, 2015.
- BOUKID, F.; BOUKID, Z.; MEJRI, M. *Opuntia* cladodes: physicochemical parameters, functional properties and application in formulation of rolled cake of cladode flour fabric (Part 2). **International Journal of Advanced Trends in Computer Science and Engineering**, v. 1, n. 4, p. 30–34, 2015.
- BRUXEL, J.; JASPER, A. A família Cactaceae na Bacia Hidrográfica do Rio Taquari, RS, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 1, p. 71-79, 2005.
- CAI, W.; GU, X.; TANG, J. Extraction, purification, and characterization of the polysaccharides from *Opuntia milpa alta*. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, n. 3, p. 403-410, 2008.
- CAPPA, C.; LUCISANO, M.; MARIOTTI, M. Influence of *Psyllium*, sugar beet fibre and water on gluten-free dough properties and bread quality. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 2, p. 1657–1666, 2013.
- CAPRILES, V. D.; ARÉAS, J. A. G. Novel approaches in gluten-free breadmaking: Interface between food science, nutrition, and health. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 5, p. 871–890, 2014.
- CAPRILES, V. D.; DOS SANTOS, F. G.; ARÉAS, J. A. G. Gluten-free breadmaking: improving nutritional and bioactive compounds. **Journal of Cereal Science**, v. 67, p. 83–91, 2016.
- CÁRDENAS, A.; GOYCOOLEA, F. Reología en solución del mucílago del nopal (*Opuntia*

ficus indica). In: Anais do VII Congreso Nacional y V Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal, Monterrey, México, p. 171–172, 1997.

CÁRDENAS, B. A.; HIGUERA-CIAPARA, C. F. M.; GOYCOOLEA, F. M. Rheology and aggregation of cactus (*Opuntia ficus-indica*) mucilage in solution. **Journal of the Professional Association for Cactus Development**, v. 2, p. 152–159, 1997.

CÁRDENAS, M. L.; SERNA, S.; VELASCO, G. J. Effect of raw and cooked nopal (*Opuntia ficus-indica*) ingestion on growth and profile of total cholesterol, lipoproteins and blood glucose in rats. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 48, n. 4, p. 316–323, 1998.

CARNEIRO, A. M.; FARIA-SINGER, R.; RAMOS, R. A.; NILSON, A. D. **Cactos do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, 2016. 224 p.

CASPER, J. L.; ATWELL, W. A. Gluten-free ingredients. In: CASPER, J. L.; ATWELL, W. A. (Eds.). **Gluten-free baked products**. St. Paul, Minnesota: AACC International, 2014. p. 23–47.

CHAVES, O. M. Flora Digital do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. 2012. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=8326>. Acesso em: 26 fevereiro de 2015.

DA CUNHA, P. L. R.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 649–660, 2009.

DE BONA, G. S. **Avaliação de compostos bioativos em plantas alimentícias não convencionais do Rio Grande do Sul**. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

DEL-VALLE, V.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; GUARDA, A.; GALOTTO, M. J. Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. **Food Chemistry**, v. 91, p. 751–756, 2005.

EL-SAMAHY, S. K.; ABD EL-HADY, E. A.; HABIBA, R. A.; MOUSSA, T. E. Chemical and rheological characteristics of orange-yellow cactus-pear pulp from Egypt. **Journal of the Professional Association for Cactus Development**, v. 8, p. 39–51, 2006.

ESPINO-DÍAZ, M.; ORNELAS-PAZ, J. J.; MARTÍNEZ-TÉLLEZ, M. A.; SANTILLÁN, C., BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; ZAMUDIO-FLORES, P. B.; OLIVAS, G. I. Development and characterization of edible films based on mucilage of *Opuntia ficus-indica* (L.). **Journal of Food Science**, v. 75, p. E347–E352, 2010.

ESPINOSA, S. **Estudio de algunas características físicas de hidrocoloides provenientes de semilla de algarrobo (*Prosopis chilensis* (Mol.) Stuntz) y de cladodios de nopal (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill)**. 71 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Agropecuárias) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade do Chile, Santiago, 2002.

- FARAHNAKY, A.; SHANESAZZADEH, E.; MESBAHI, GH., MAJZOobi, M. Effect of various salts and pH condition on rheological properties of *Salvia macrosiphon* hydrocolloid solutions. **Journal of Food Engineering**, v. 116, p. 782-788, 2013.
- FERNÁNDEZ, M. L.; TREJO, A.; MCNAMARA, D. Pectin isolated from prickly pear (*Opuntia* sp.) modifies low density lipoprotein metabolism in cholesterol-fed guinea pigs. **Journal of Nutrition**, v. 120, p. 1283-1290, 1990.
- FEUGANG, J. M.; KONARSKI, P.; ZOU, D.; STINTZING, F. C.; ZOU, C. Nutritional and medicinal use of cactus pear (*Opuntia* spp) cladodes and fruits. **Frontiers in Bioscience**, v.11, p.2574-2589, 2006.
- FLÓRES, C. A. V. Produção, industrialização e comercialização de verdura de palma forrageira. In: BARBERA, G.; INGLESE, P. (Eds.). **Agroecologia, cultivos e usos da palma forrageira**. Paraíba: SEBRAE/PB, p. 94-102, 2001.
- FORNI, E.; PENCI, M.; POLESELLO, A. A preliminar characterization of some pectins from quince fruit (*Cydonia oblonga* Mill) and prickly pear (*Opuntia ficus indica*) peel. **Carbohydrate Polymers**, v. 23, p. 231–234, 1994.
- FRATI, A. C.; JIMÉNEZ, E.; ARIZA, C. R. Hypoglycemic effect of *Opuntia ficus-indica* in non insulin-dependent diabetes mellitus patients. **Phytotherapy research**, v. 4, n. 5, p. 195–197, 1990.
- FRATI-MUNARI, A. C.; LASTRA, O. V.; ANDRACA C. R. A. Evaluación de cápsulas de nopal en Diabetes Mellitus. **Gaceta Médica de México**, v. 128, n. 4, p. 431–436, 1992.
- GALATI, E. M.; MONFORTE, M. T.; TRIPODO, M. M.; D'AQUINO, A.; MONDELLO, M. R. Antiulcer activity of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae): ultrastructural study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, n. 1, p. 1-9, 2001.
- GALATI, E. M.; PERGOLIZZI, S.; MICELI, N.; MONFORTE, M. T.; TRIPODO, M. M. Study on the increment of the production of gastric mucus in rats treated with *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cladodes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 83, p. 229-233, 2002a.
- GALATI, E. M.; TRIPODO, M. M.; TROVATO, A.; MICELI, N.; MONFORTE, M. T. Biological effect of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae) waste matter. Note I: diuretic activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, p. 17-21, 2002b.
- GOLDSTEIN, G.; ANDRADE, J. L.; NOBEL, P. Differences in water relations parameters from the chlorenchyma and the parenchyma of the *Opuntia ficus-indica* under wet versus dry conditions. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 18, p. 95–107, 1991.
- GOLDSTEIN, G.; NOBEL, P. Changes in osmotic pressure and mucilage during low-temperature acclimation of *Opuntia ficus-indica*. **Plant Physiology**, v. 97, p. 954–961, 1991.
- GONZAGA, D. R.; ZAPPI, D.; FURTADO, S. G.; NETO, L. M. Cactaceae na Serra Negra, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 65, n. 2, p. 443-453, 2014.
- GUEDES, C. C.; OLIVEIRA, J. S.; FERNANDES, M. F.; OLIVEIRA, R.; DEIRO, T. C. B.

J.; SOUSA, V. **Broto de palma, sabor e nutrição.** Recife: SEBRAE/PE – FAEPE, 2004.

GUEVARA-FIGUEROA, T. et al. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 525-532, 2010.

GUSMÃO, R. P. **Avaliação dos aspectos tecnológicos envolvidos na obtenção da farinha de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill).** 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

HAN, J. (Jay); JANZ, J. A. M.; GERLAT, M. Development of gluten-free cracker snacks using pulse flours and fractions. **Food Research International**, v. 43, n. 2, p. 627–633, 2010.

HERNÁNDEZ-URBIOLA, M. I.; PÉREZ-TORRERO, E.; RODRÍGUEZ-GARCÍA, M. E. Chemical analysis of nutritional content of prickly pads (*Opuntia ficus indica*) at varied ages in an organic harvest. **International Journal of Environmental Research Public Health**, v. 8, p. 1287-1295, 2011.

HUERTA, K. da M. et al. Sensory response and physical characteristics of gluten-free and gum-free bread with chia flour. **Food Science and Technology**, v. 36, n. suppl 1, p. 15–18, 2016.

JANI, G. K.; SHAH, D. P.; PRAJAPATI, V. D.; JAIN, V. C. Gums and mucilages: versatile excipients for pharmaceutical formulations. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 5, p. 308-322, 2009.

JARAMILLO-FLORES, M. E.; GONZÁLEZ-CRUZ, L.; CORNEJO-MAZÓN, M.; DORANTES-ÁLVAREZ, L.; GUTIÉRREZ-LÓPEZ, G. F.; HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, H. (2003). Effect of thermal treatment on the antioxidant activity and content of carotenoids and phenolic compounds of cactus pear cladodes (*Opuntia ficus-indica*). **Food Science and Technology International**, v. 9, n. 4, 271–278.

JUN, H.-I. et al. Physicochemical properties and antioxidant activity of Korean cactus (*Opuntia humifusa*) cladodes. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 54, n. 3, p. 288-295, 2013.

KIESLING, R. Cactaceas de la Argentina promisorias agronomicamente. **Journal of the Professional Association for Cactus Development**, v. 4, p. 11-14, 2001.

KIM, J. H. et al. Physical and sensory characteristics of fibre-enriched sponge cakes made with *Opuntia humifusa*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 47, p. 478-484, 2012.

KIM, J.-H.; PARK, S.-M.; HA, H.-J.; MOON, C.-J.; SHIN, T.-K.; KIM, J.-M.; et al. *Opuntia ficus-indica* attenuates neuronal injury *in vitro* and *in vivo* models of cerebral ischemia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 104, p. 257–262, 2006.

KINUPP, V. F. **Plantas alimentícias não convencionais da região metropolitana de Porto Alegre, RS.** 562 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

KINUPP, V. F.; BARROS, I. B. I. Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 846–857, 2008.

KINUPP, V. F.; LISBÔA, G. N.; BARROS, I. B. I. *Opuntia elata* (arumbeva). In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro - Região Sul**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, p. 184-188, 2011.

KOOCHEKI, A.; MORTAZAVI, S. A.; SHAHIDI, F.; RAZAVI, S. M. A.; TAHERIAN, A. R. Rheological properties of mucilage extracted from *Alyssum homolocarpum* seed as a new source of thickening agent. **Journal of Food Engineering**, v. 91, p. 490-496, 2009.

LEE, J-C.; KIM, H-R.; KIM, J.; JANG, Y-S. Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of *Opuntia ficus-indica* var. *Saboten*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 6490-6496, 2002.

LENZI, M.; ORTH, A. I. Mixed reproduction systems in *Opuntia monacantha* (Cactaceae) in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 35, n. 1, 49–58, 2012.

LENZI, M.; SOARES, J.; ORTH, A. I. Predação de *Opuntia monacantha* (Willd.) Haw. (Cactaceae) por *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) em restingas da Ilha de Santa Catarina, sul do Brasil. **Revista Biota**, v. 19, n. 3, p. 35-44, 2006.

LÉON-MARTÍNEZ, F. M.; MÉNDEZ-LAGUNAS, L. L.; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, J. Spray drying of nopal mucilage (*Opuntia ficus-indica*): effects on powder properties and characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, p. 864-870, 2010.

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

LIMA-JUNIOR, F. A.; CONCEIÇÃO, M. C.; RESENDE, J. V.; JUNQUEIRA, L. A.; PEREIRA, C. G.; PRADO, M. E. T. Response surface methodology for optimization of the mucilage extraction process from *Pereskia aculeata* Miller. **Food Hydrocolloids**, v. 33, p. 38–47, 2013.

LÓPEZ-CERVANTES, J.; SÁNCHEZ-MACHADO, D. I.; CAMPAS-BAYPOLI, O. N.; BUENO-SOLANO, C. Functional properties and proximate composition of cactus pear cladodes flours. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 3, 654–659, 2011.

LORENZI, H; SARTORI, S.; BACHER, L. B.; LACERDA, M. **Frutas Brasileiras e Exóticas Cultivadas (de consumo in natura)**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2006. 640 p.

LORO, J. F.; DEL RIO, I.; PÉREZ-SANTANA, L. Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Opuntia dillenii* aqueous extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, n. 2, p. 213-218, 1999.

MAJDOUB, H.; ROUDESLI, S.; PICTON, L.; LE CERF, D.; MULLER, G.; GRISEL, M.

Prickly pear nopal pectin's from *Opuntia ficus-indica*. Physico-chemical study in dilute and semi-dilute solutions. **Carbohydrate Polymers**, v. 46, p. 69–79, 2001.

MCGARVIE, D.; PAROLIS, P. H. Methylation analysis of the mucilage of *Opuntia ficus-indica*. **Carbohydrate Research**, v. 88, p. 305–314, 1981a.

MCGARVIE, D.; PAROLIS, P. H. The acid-labile, peripheral chains of the mucilage of *Opuntia ficus-indica*. **Carbohydrate Research**, v. 94, p. 57–65, 1981b.

MCGARVIE, D.; PAROLIS, P. H. The mucilage of *Opuntia ficus-indica*. **Carbohydrate Research**, v. 69, p. 171–179, 1979.

MEDINA-TORRES, L.; BRITO-DE LA FUENTE, E.; TORRESTIANA-SANCHEZ, B.; ALONSO, S. Mechanical properties of gels formed by mixtures of mucilage gum (*Opuntia ficus-indica*) and carrageenans. **Carbohydrate Polymers**, v. 52, p. 143–150, 2003.

MEDINA-TORRES, L.; BRITO-DE LA FUENTE, E.; TORRESTIANA-SANCHEZ, B.; KATTHAIN, R. Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus-indica*). **Food Hydrocolloids**, v. 14, n. 5, p. 417–424, 2000.

MEDINA-TORRES, L.; GARCÍA-CRUZ, E. E.; CALDERAS, F.; GONZÁLEZ-LAREDO, R. F.; SÁNCHEZ-OLIVARES, G.; GALLEGOS-INFANTE, J. A.; ROCHA-GUZMÁN, N. E.; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, J. Microencapsulation by spray drying of gallic acid with nopal mucilage (*Opuntia ficus-indica*). **LWT – Food Science Technology**, v. 50, p. 642–650, 2013.

MERCÊ, A. L. R.; LANDALUZE, J. S.; MANGRICH, A. S.; SZPOGANICZ, B.; SIERAKOWSKI, M. R. Complexes of arabinogalactan of *Pereskia aculeata* and Co^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , and Ni^{2+} . **Bioresource Technology**, v. 76, p. 29–37, 2001.

MINDT, L.; SAAG, K.; SANDERSON, G. R.; MOYNA, P.; RAMOS, G. Cactaceae mucilage composition. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 26, n. 7, p. 993–1000, 1975.

MIR, S. A. et al. Effect of apple pomace on quality characteristics of brown rice based cracker. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 16, n. 1, p. 25–32, 2017.

MIR, S. A. et al. Influence of hydrocolloids on dough handling and technological properties of gluten-free breads. **Trends in Food Science and Technology**, v. 51, p. 49–57, 2016.

MOREIRA, R.; CHENLO, F.; TORRES, M. D. Effect of chia (*Salvia hispanica* L.) and hydrocolloids on the rheology of gluten-free doughs based on chestnut flour. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 160–166, 2013.

MSADDAK, L. et al. Cladodes from prickly pear as a functional ingredient: effect on fat retention, oxidative stability, nutritional and sensory properties of cookies. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 66, n. 8, p. 851–857, 2015.

MSADDAK, L. et al. *Opuntia ficus-indica* cladodes as a functional ingredient: bioactive compounds profile and their effect on antioxidant quality of bread. **Lipids in Health and**

Disease, v. 16, n. 32, p. 1–8, 2017.

NCIBI, S.; OTHMAN, M. B.; AKACHA, A.; KRIFI, M. N.; ZOURGUI, L. *Opuntia ficus-indica* extract against chlorpyrifos-induced damage on mice liver. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p 797-802, 2008.

NOBEL, P.; CAVELIER, J.; ANDRADE, J. L. Mucilage in cacti: its apoplastic capacitance, associated solutes, and influence on tissue water relations. **Journal of Experimental Botany**, v. 43, p. 641–648, 1992.

OLIVEIRA, M. R. T.; LIMA, E. D. P. A.; LIMA, C. A. A.; SILVA, A. Q.; REGO, F. A. O. Caracterização física e física-química dos frutos de palma (*Opuntia monacantha*, How) e mandacarú (*Cereus peruvianus*, Mill). **Agropecuária Técnica**, v. 13, 49-53. 1992.

PANICO, A. M.; CARDILE, V.; GARUFI, F.; PUGLIA, C.; BONINA, F.; RONSISVALLE, S. Effect of hyaluronic acid and polysaccharides from *Opuntia ficus indica* (L.) cladodes on the metabolism of human chondrocyte cultures. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 315-321, 2007.

PARK, E. H.; CHUN, M. J. Wound healing activity of *Opuntia ficus-indica*. **Fitoterapia**, v. 72, p. 165-167, 2001.

PARK, E. H.; KAHNG, J. H.; LEE, S. H.; SHIN, K. H. An anti-inflammatory principle from cactus. **Fitoterapia**, v. 72, n. 3, p. 288-290, 2001.

PAULSEN, B. S.; LUND, P. S. Water-soluble polysaccharides of *Opuntia ficus-indica* cv “Burbank’s spineless”. **Phytochemistry**, v. 18, p. 569–571, 1979.

PÉREZ-CACHO, M. P. R.; GALÁN-SOLDEVILLA, H.; CORRALES GARCÍA, J.; HERNÁNDEZ MONTES, A. Sensory characterization of nopalitos (*Opuntia* spp.). **Food Research International**, v. 39, p. 285-293, 2006.

PIMIENTA, E. **El Nopal tunero**. 1^a ed. Jalisco, México: Universidad de Guadalajara, 1990. 246 p.

PRAJAPATI, V. D. et al. Pharmaceutical applications of various natural gums, mucilages and their modified forms. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 1685–1699, 2013.

RAMIREZ, G.; AGUILAR, C. The effect of *Opuntia* in lowering serum glucose among NIDDM patients. A systematic review - Preliminary Findings. In: **Anais do I Conference of the Professional Association for Cactus Development**, p. 71–78, 1995.

RAMÍREZ-MORENO, E. et al. Effect of boiling on nutritional, antioxidant and physicochemical characteristics in cladodes (*Opuntia ficus-indica*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, p. 296-302, 2013.

RODRIGUEZ-FELIX, A. Postharvest physiology and technology of cactus pear fruits and cactus leaves. **Acta Horticulturae**, v. 581, p. 191-199, 2002.

RODRIGUEZ-FELIX, A.; CANTWELL, M. Developmental changes in composition and

quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos). **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 38, p. 83-93, 1988.

ROMANO, G. Colección de Opuntia en el National Arid Land Plant Genetic Resources Unit. In: NAZARENO, M. A.; OCHOA, M. J.; DUBEUX JR., J. C. **Cactusnet Newsletter**, v. 13, p. 19-27, 2013.

ROSELL, C. M.; ROJAS, J. A.; BARBER, C. B. Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 75-81, 2001.

SÁENZ, C. Cactus pear fruits and cladodes: a source of functional components for foods. **Acta Horticulturae**, v. 581, p. 253–263, 2002.

SÁENZ, C. Características y composición química de los nopalos. In: ROSSEL, C. (Ed.), **Utilización agroindustrial del nopal**. Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO, 162. Roma, p. 7-22, 2006.

SÁENZ, C. Cladodes: a source of dietary fiber. **Journal of the Professional Association for Cactus Development**, v. 2, p. 117-123, 1997.

SÁENZ, C. Processing technologies: an alternative for cactus pear (*Opuntia* spp.) fruits and cladodes. **Journal of Arid Environments**, v. 46, p. 209–225, 2000.

SÁENZ, C.; ESTÉVEZ, A. M.; FONTANOT, M.; PAK, N. Oatmeal cookies enriched with cactus pear flour as dietary fiber source: physical and chemical characteristics. **Acta Horticulturae**, v. 581, p. 275–278, 2002a.

SÁENZ, C.; MONTOYA, L. C. Nopalitos: Nueva hortaliza para Chile. **El Campesino**, v. 130, n. 6, p. 4–7, 1999.

SÁENZ, C.; PAK, N.; SEPÚLVEDA, E.; LECAROS, M. Caracterización de harina de cladodio de nopal. In: Anais do **VII Congreso Nacional y V Internacional sobre conocimiento y aprovechamiento del nopal**, Monterrey, México, p. 302-303, 1997.

SÁENZ, C.; SEPÚLVEDA, E. Alternativas de industrialización de la tuna (*Opuntia ficus indica*). **Alimentos**, v. 18, n. 3, 29–32, 1993.

SÁENZ, C.; SEPÚLVEDA, E.; MATSUHIRO, B. *Opuntia* spp mucilage's: a functional component with industrial perspectives. **Journal of Arid Environments**, v. 57, p. 275–290, 2004.

SÁENZ, C.; SEPÚLVEDA, E.; PAK, N.; VALLEJOS, X. Uso de fibra dietética de nopal en la formulación de un polvo para flan. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 52, n. 4, p. 387–392, 2002b.

SÁENZ, C.; VÁSQUEZ, M.; TRUMPER, S.; FLUXÁ, C. Extracción y composición química de mucílago de tuna (*Opuntia ficus-indica*). In: Anais do **II Congreso Internacional de la tuna y cochinilla**, Santiago, Chile, p. 93–96, 1992.

SAHA, D.; BHATTACHARYA, S. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a

critical review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 6, p. 587–597, 2010.

SEPÚLVEDA, E.; SÁENZ, C.; ALIAGA, E.; ACEITUNO, C. Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. **Journal of Arid Environments**, v. 68, p. 534–545, 2007.

SEPÚLVEDA, E.; SÁENZ, C.; MORENO, M. Obtención y caracterización de harina de nopal (*Opuntia ficus-indica*). In: Anais do VI Congreso Nacional y IV Congreso Internacional sobre conocimiento y aprovechamiento del nopal, Guadalajara, México, p. 28-31, 1995.

SERNA-SALDIVAR, S. O. Production of chemical-leavened products: crackers, cookies, cakes and related products, donuts, and wheat flour tortillas. In: SERNA-SALDIVAR, S. O. (Ed.). **Cereal Grains: Laboratory Reference and Procedures Manual**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2012. p. 247–285.

SRIVASTAVA, B. K.; PANDE, C. S. Arabinogalactan from pods of *Opuntia dillenii*. **Planta Medica**, v. 25, p. 92–97, 1974.

STINTZING, F. C.; CARLE, R. Cactus stems (*Opuntia* spp.): a review on their chemistry, technology, and uses. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 49, n. 2, p. 175-194, 2005.

TAYLOR, N. P.; ZAPPI, D. C. **Cacti of Eastern Brazil**. England: Royal Botanic Gardens, Kew, 2004. 511 p.

TRACHTENBERG, S.; MAYER, A. M. Composition and properties of *Opuntia ficus-indica* mucilage. **Phytochemistry**, v. 20, p. 2665–2668, 1981.

TREJO-GONZÁLEZ, A. et al. A purified extract from prickly pear cactus (*Opuntia fuliginosa*) controls experimentally induced diabetes in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 55, p. 27–33, 1996.

TROMBETTA, D.; PUGLIA, C.; PERRI, D.; LICATA, A.; PERGOLIZZI, S.; LAURIANO, E. R.; et al. 2006. Effect of polysaccharides from *Opuntia ficus-indica* (L.) cladodes on the healing of dermal wounds in rat. **Phytomedicine**, v. 13, p. 352-358, 2006.

TSATSARAGKOU, K.; PROTONOTARIOU, S.; MANDALA, I. Structural role of fibre addition to increase knowledge of non-gluten bread. **Journal of Cereal Science**, v. 67, p. 58–67, 2016.

VALDEZ-CEPEDA, R. D.; MACÍAS, F. B.; ALVARADO, R. E. V.; QUINTANAR, R. M. Producción y usos del nopal para verdura. In: Anais do VI Simposium Taller Producción y Aprovechamiento del Nopal em el Noroeste del México, 2008. Disponível em: <<http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2008/ee-14-2008/index.html>>.

VALENTE, L. M. M.; PAIXÃO, D.; NASCIMENTO, C. A.; SANTOS, P. F. P.; SCHEINVAR, A. L.; MOURA, L. R. M.; et al. Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae). **Food Chemistry**, v. 123, 1127-1131. 2010.

VALENTE, L. M. M.; SCHEINVAR, L.; SILVA, G. C.; ANTUNES, A. P.; SANTOS, F. A. L.; OLIVEIRA, T. F.; et al. Evaluation of the antitumor and trypanocidal activities and alkaloid profile in species of Brazilian Cactaceae. **Pharmacognosy Magazine**, v. 3, n. 11, p. 167–172, 2007.

VARDHANABHUTI, B.; IKEDA, S. Isolation and characterization of hydrocolloids from monoi (*Cissampelos pareira*) leaves. **Food Hydrocolloids**, v. 20, n. 6, p. 885–891, 2006.

VÁZQUEZ-RAMÍREZ, R.; OLGUÍN-MARTÍNEZ, M.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, R. Reversing gastric mucosal alterations during ethanol-induced chronic gastritis in rats by oral administration of *Opuntia ficus-indica* mucilage. **World Journal Gastroenterology**, v. 12, p. 4318–4324, 2006.

VILLASEÑOR, M. A. A. **Efecto del método de extracción en las características químicas y físicas del mucilago del nopal (*Opuntia ficus-indica*) y estudio de su aplicación como recubrimiento comestible.** 212 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Politécnica de Valênciac, Valênciac, 2008.

WIESE, J.; MCPHERSON, S.; ODDEN, M. C.; SHLIPAK, M. G. Effect of *Opuntia ficus-indica* on symptoms of the alcohol hangover. **Archives of Internal Medicine**, v. 164, p. 1334–1340, 2004.

WILLIAMS, P. A.; PHILLIPS, G. O. Introduction to food hydrocolloids. In: PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. (Eds.), **Handbook of hydrocolloids (2nded.)**, p. 1–22. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2009.

YANG, N.; ZHAO, M.; ZHU, B.; YANG, B.; CHEN, C.; CUI, C.; et al. Antidiabetic effects of polysaccharides from *Opuntia monacantha* cladode in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, n. 4, p. 570–574, 2008.

ZAMORA-VEGA, R.; MONTAÑEZ-SOTO, J. L.; MARTÍNEZ-FLORES, H. E.; FLORES-MAGALLÓN, R.; MUÑOZ-RUIZ, C. V.; VENEGAS-GONZÁLEZ, J.; ARIZA-ORTEGA, T. J. Effect of incorporating prebiotics in coating materials for the microencapsulation of *Saccharomyces boulardii*. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 63, 930–935, 2012.

ZHAO, M.; YANG, N.; YANG, B.; JIANG, Y.; ZHANG, G. Structural characterization of water-soluble polysaccharides from *Opuntia monacantha* cladodes in relation to their anti-glycated activities. **Food Chemistry**, v. 105, p. 1480–1486, 2007.

CAPÍTULO 3: ARTIGOS CIENTÍFICOS

ARTIGO 1: Valorization of *Opuntia monacantha* (Willd.) Haw. cladodes to obtain a mucilage with hydrocolloid features: Physicochemical and functional performance

Artigo publicado na revista *International Journal of Biological Macromolecules*
[\(https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.126\)](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.126)

Melina Dick^a, Lucas Dal Magro^b, Rafael Costa Rodrigues^b, Alessandro de Oliveira Rios^a,
 Simone Hickmann Flôres^{a,*}

^a Bioactive Compounds Laboratory, Institute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, P.O. Box 15059, ZC 91501-970, Porto Alegre, RS, Brazil

^b Biotechnology, Bioprocess and Biocatalysis Group, Institute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, P.O. Box 15090, ZC 91501-970, Porto Alegre, RS, Brazil

*Corresponding author. Tel.: +5551 3308-9789; fax: +5551 3308-7048. E-mail address: simone.flores@ufrgs.br

Abstract

Opuntia monacantha mucilage was investigated for its physicochemical characteristics and functional properties. The mucilage extraction yield was 12% (DW) and it consisted of 80.12% carbohydrates, 15.14% ashes, 3.55% proteins, and 1.19% lipids. Monosaccharide profiling demonstrated a predominantly presence of galactose, glucuronic acid, and arabinose. Viscosimetric measurements gave an intrinsic viscosity of 9.02 dL/g and a molar mass of 1.12×10^6 g/mol. Reconstituted mucilage solution (1% w/v) had a mean particle diameter ($D_{4,3}$) of 648 nm and solubility above 85%. Its emulsifying capacity improved with the increment of mucilage solution in the emulsion; likewise, it provided high emulsion stability through different ratios of oil to polysaccharide solution. It displayed good foaming capacity, although its foam stability progressively reduced over time. In addition, its blending with ovalbumin resulted in a foaming capacity enhancement and in a markedly greater foam stability compared to ovalbumin alone. The rheological studies indicated the mucilage solutions exhibited shear-thinning behavior at concentrations between 1 and 10% and fairly stable viscous properties in the temperature range of 5–80 °C. These outcomes support that *O. monacantha* mucilage may find potentially useful applications in food systems, particularly as an emulsifying, foaming and thickening agent, or as a stabilizer.

Keywords: Polysaccharide, Cladode mucilage, Functional properties, Emulsion, Foam, Viscosity.

Highlights

The mucilage extraction yield from *O. monacantha* cladodes was 12 % (DW).

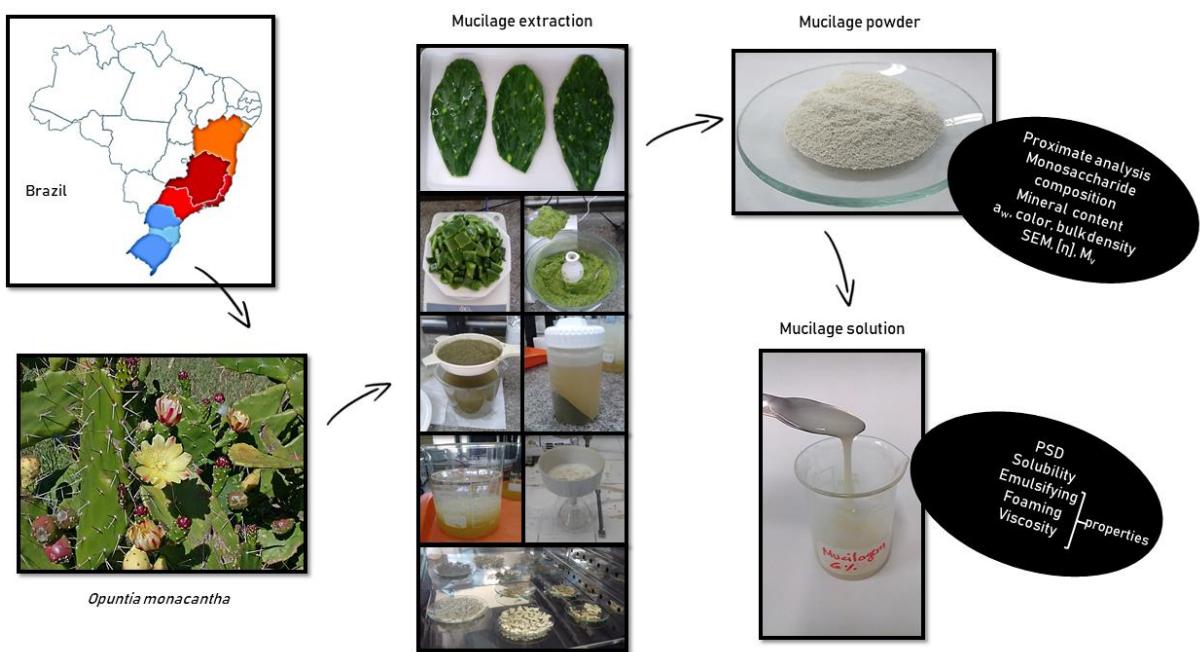
Its monosaccharide profiling comprised mainly of gal, glcA and ara.

The mucilage exhibited emulsifying, foaming and viscosity properties.

The flow behavior of mucilage was pseudoplastic (1-10 %).

These findings suggest the potential of this mucilage as food additive.

Graphical abstract



1 Introduction

Functional polysaccharide gums due to their capability to form colloidal aqueous solutions are aptly termed as hydrocolloids. They constitute a diverse group of long-chain polymers that are readily dispersive and prone to swell in water. To perform specific functions in a multitude of food products, hydrocolloids are mainly employed as thickeners, gelling agents, stabilizers, bulking agents, and emulsifiers [1].

Aside from their functional attributes, in recent years it has been evidenced the dietary fiber aspect of food hydrocolloids since most of them can be classified as dietary fiber [2]. Presumably, thanks to the increasing demand for healthier food products, for example, with reduced fat, sugar and/or enhanced fiber content. In this sense, one of the driving forces that stimulated the development of the hydrocolloids market was the need to meet these commercial trends dictated by health-conscious consumers [3]. Accordingly, finding new hydrocolloid sources with appropriate properties, specific functionality and/or synergistic interactions with the commercial ones is an active area of study [4].

Most of the hydrocolloids utilized for industrial purposes in Brazil have to be imported to satisfy the internal demand [4,5]. Therefore, there is a great opportunity to investigate native plants that offer high prospects for polysaccharide extraction, transforming the Brazilian biodiversity into economic value. This is the case of the botanical family Cactaceae since the country is considered the third geographic center of diversity of cactus in the world [6], but remains with their native cacti quite unexplored and underutilized for food uses. The plants of the Cactaceae family are characterized by the presence of a mucilaginous substance in its succulent pads/cladodes, a complex carbohydrate used by the cactus to retain and store water [7]. This mucilage, especially those obtained from *Opuntia* genus, has attracted the attention of scientists in the last decades, being regarded as an industrial hydrocolloid potential owing to its viscous properties [8].

Opuntia monacantha (Willd.) Haw. (*O. monacantha*) could be highlighted for the obtention of mucilage polysaccharides. This plant is indigenous to South America and demonstrates wide geographical distribution, occurring in a number of Brazilian states of the Atlantic coastal area as well as some regions of the neighboring countries like Argentina, Paraguay, and Uruguay [6,9,10]. It has been introduced and naturalized in Australia, China, Cuba, the Himalayas, India, and South Africa [11]. Valente et al. [11] conducted some analysis on the chemical constituents of the *O. monacantha* cladodes and mentioned that its nutritional profile was similar to the Mexican species *Opuntia ficus-indica* (*Ofi*); besides, they

identified two flavonols (kaempferol and isorhamnetin) with antiradical activity. Other investigations described the pharmacological actions of the *O. monacantha* polysaccharides isolated from cladodes, pointing out a significant anti-diabetic and anti-glycated effects [12,13].

The chemical composition of the hydrocolloid varies widely with the type of extraction and the material origin. Even though some studies have been performed to evaluate and characterize the *Opuntia* spp. mucilage, there exists a broad variability between the isolation methods and the achieved yields, that implies discrepancies in the chemical constitution and the functional attributes of the resulting polysaccharide [14–19]. Hence, the purpose of the present contribution was to extract the mucilage from *O. monacantha* cladodes with satisfactory yield and to examine its chemical composition, physicochemical characteristics, microstructure, as well as to investigate its functional properties in solution (solubility, emulsifying, foaming, and viscosity properties).

2 Materials and methods

2.1 Materials

Fresh cladodes of *O. monacantha* (Willd.) Haw. were harvest from the region of Águas Claras, Viamão city, Rio Grande do Sul state, Brazil ($30^{\circ}09'26.67''S$ and $50^{\circ}52'33.01''W$). They were collected in August 2015 and their voucher was deposited in the Institute of Natural Sciences (ICN) Herbarium in the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS, Porto Alegre, Brazil) under the number 191981.

Commercial ethanol was purchased from Zeppelin® (Zeppelin Comercial de Álcool Ltda, Cachoeirinha, Brazil); xanthan gum from Farmaquimica S.A. (4.49 ± 0.01 % of protein based on dry weight) (Porto Alegre, Brazil) and guar gum from Hexus Food Ingredients (3.98 ± 0.01 % of protein based on dry weight) (Portão, Brazil). Monosaccharide standards were purchased from Sigma-Aldrich Brasil Ltda (São Paulo, Brazil). Sunflower oil Liza® (Cargill Agrícola S.A., Mairinque, Brazil) was used to prepare the emulsions. Dehydrated ovalbumin Naturovos® (Solar Comércio e Agroindústria Ltda, Salvador do Sul, Brazil) with 83 % protein was employed as a reference standard for foaming tests.

2.2 Mucilage extraction

Once collected, the cladodes were taken to the Laboratory of Bioactive Compounds of Federal University of Rio Grande do Sul. After the removal of spines and glochids, they were washed with water to eliminate impurities and then gently blotted with an absorbing paper; the cleaned cladodes were divided into portions and stored at -18 °C until further use. The moisture content of fresh cladodes was determined after drying at 105 °C for 24 h.

The mucilage extraction from the whole cladodes (parenchyma and chlorenchyma tissue) proceeded according to the method of Espino-Díaz et al. [20] with some modifications. The cladodes were cut into small pieces (~1cm³), weighed, and crushed in a food processor (Philips Walita®, RI7762/91, Brazil) to produce a pulp that was submitted to aqueous extraction. The pulp was blended with water 1: 2 w/v (pulp: water), mechanically stirred, and heated to 80 °C for 30 min. Then, this slurry was filtered to remove coarse fibrous fragments, followed by centrifugation (10,000g, 20 min, 20 °C) (Hitachi, CR 21GIII, Japan). The supernatant was precipitated with ethanol 95 % in a ratio of 1: 3 v/v (supernatant: ethanol) and kept overnight at 4 °C. Upon precipitation, the white fibrous mass (mucilage) was recovered by vacuum filtration with the aid of a Buchner funnel and a filter paper. The filtrate was dried in an oven with air-flow circulation (DeLeo, B4AFD, Brazil) at 45 °C for approximately 16 h. The sample was converted into fine particles by gentle grinding with a mortar and pestle and subsequently sieved through a 60-mesh screen to obtain the mucilage powder (standard granulometry ≤ 250 µm). The mucilage powder was packed in polyethylene bags and stored protected from light and humidity. The percentage yield of mucilage was calculated based on the ratio of mucilage powder weight by the fresh cladodes weight taken for the extraction process (n = 8).

2.3 Physicochemical characterization of mucilage powder

2.3.1 Chemical composition

Proximate analysis were conducted following the recommendations of the Official Method of Analysis [21]. The moisture content was determined using the method 934.06. The lipid content was determined gravimetrically using the Soxhlet extraction (method 960.39). The protein content was determined by the Kjeldahl method with a conversion factor of 6.25 (method 960.52). The ash content was determined by incineration in a muffle at 550 °C (method 923.03). The total dietary fiber (TDF), insoluble dietary fiber (IDF) and soluble

dietary fiber (SDF) were determined by the enzymatic-gravimetric method (method 985.29). Total carbohydrate content was determined by the difference between 100 and the sum of the lipid, protein and ash contents of percentages on a dry weight basis.

The monosaccharide analysis was performed by sample acid hydrolysis in order to give the constituent monosaccharides and quantified by HPLC-RID (high-performance liquid chromatography – refractive index detector) [17]. In brief, the mucilage powder (30 mg of dried material) was dissolved in 1 M H₂SO₄ (2 mL) in a sealed tube, and left for 2 h to react at 100 °C. The hydrolysate suspension cooled to room temperature was neutralized with calcium carbonate until effervescence ceases and then centrifuged (9500 rpm, 5 min). A clear supernatant was recovered, filtered through a 0.22 µm membrane and further 20 µm was injected into the system for each analysis.

The Waters HPLC system (Waters, e2695, USA) equipped with a RI detector (Waters, 2414, USA) were used. For separation of galactose, arabinose, xylose, and glucose, the following conditions were applied: column, Aminex® HPX-87P (Bio-Rad, 300 × 7.8 mm, USA); column temperature, 65 °C; mobile phase, water; flow rate, 0.6 mL/min; run time, 22 min. For separation of galacturonic acid and glucuronic acid, the following conditions were applied: column, Aminex® HPX-87H (Bio-Rad, 300 × 7.8 mm, USA); column temperature, 45 °C; mobile phase, 0.008 N sulfuric acid; flow rate, 0.6 mL/min; run time, 12 min. For separation of rhamnose, a Shimadzu HPLC system (Shimadzu, 20A series, Japan) equipped with a RI detector (Shimadzu, RID-20A, Japan) were used, and the following conditions were applied: column, Asahipak NH2P-50 4E (Shodex, 250 × 4.6 mm, Japan); column temperature, 30 °C; mobile phase, acetonitrile: water (80:20, v/v); flow rate, 1.0 mL/min; run time, 30 min. Finally, the monosaccharides were identified by comparing the obtained retention times to those of sugar standards. The quantification of monosaccharides present in the mucilage was performed from calibration curves constructed for each sugar standard.

2.3.2 Mineral contents

The mineral analysis of the mucilage powder was performed in the Laboratory of Soil Analysis of Faculty of Agronomy (UFRGS) and estimated using an inductively coupled plasma – optical emission spectrometer (ICP-OES) (Perkin Elmer, Optima 8300, USA), according to the methodology of Tedesco and Gianello [22]. Phosphorus, potassium, calcium, magnesium, sulfur, sodium, copper, zinc, iron and manganese were determined by wet digestion with nitric-perchloric, and boron was determined by dry digestion. Details regarding this analysis are provided in Table S1 of Supplementary data.

2.3.3 Water activity, color and bulk density

Water activity (a_w) was determined at 25 °C using a water activity instrument (Rotronic, HygroPalm AW1, Switzerland). The color was analyzed using a portable colorimeter (Konica Minolta, CR-400, Japan) in accordance with the *Commission Internationale de l'Eclairage* (CIELAB system) by determining the color coordinates: L^* (lightness), a^* (component red-green), and b^* (yellow-blue component). The bulk density of the mucilage powder was evaluated according to Ayadi et al. [23]. Briefly, the sample was filled into 10 mL graduated measuring cylinder, previously tarred. The bottom of the cylinder was gently tapped on a rubber mat (approx. 10 times) until there was no further diminution of the sample level after filling to the 5 mL mark. The weight was then recorded and used to calculate bulk density as g/mL.

2.3.4 Intrinsic viscosity and viscosimetric molar mass

Viscosimetric measurements of dilute mucilage solutions in distilled water were performed at 25 °C using a Cannon-Fenske routine glass capillary viscosimeter (Schott, capillary n° 75, Germany) immersed in a temperature-controlled bath. The intrinsic viscosity $[\eta]$ was determined from the extrapolation to zero concentration in accordance with the empirical expressions of Huggins and Kraemer, represented by Eqs. (1) and (2), respectively [24]:

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + k_H [\eta]^2 C \quad (1)$$

$$\frac{\ln \eta_{rel}}{c} = [\eta] + k_K [\eta]^2 C \quad (2)$$

where η_{sp} is the specific viscosity (dimensionless), η_{rel} is the relative viscosity (dimensionless), $[\eta]$ is the intrinsic viscosity (dL/g), C is the sample concentration (g/dL), k_H and k_K (both dimensionless) are the Huggins and Kraemer constant, respectively.

The viscosimetric molar mass (M_v) was estimated from intrinsic viscosity by using Mark-Houwink relationship, Eq. (3) [24]:

$$[\eta] = K \times M_v^\alpha \quad (3)$$

where M_v is the molar mass (g/mol), K (dL/g) and α (dimensionless) are constants whose values depend on the shape of the polymer, the solvent used and the temperature of measurement. Values of $K = 3.81 \times 10^{-4}$ dL/g and $\alpha = 0.723$ were utilized for M_v determination [25].

2.4 Morphology by scanning electron microscopy

Surface morphology of the mucilage powder was studied by viewing under a scanning electron microscopy (JEOL, JSM 6060, Japan) at an accelerating voltage of 5.0 kV. The sample was directly deposited on aluminum stubs using a double-sided adhesive carbon conductive tape and was coated with a thin gold layer with the help of a gold sputter in order to make the sample conductive.

2.5 Particle size distribution of mucilage solution

Prior to measurements, the mucilage powder was dispersed in deionized water (1 % w/v) under stirring, and then left overnight at 4 °C to warrant its full hydration. Particle size distribution of the reconstituted sample was evaluated by a laser diffraction particle analyzer (Malvern Instruments, Mastersizer 2000, UK) using water as a dispersant; refractive indexes were adjusted to 1.335 for mucilage solution and 1.330 for deionized water. The acquired parameters included: mean particle diameter reported as D_{4,3} (volume-weighted mean diameter), specific surface area, and the equivalent volume diameters at 10 % (d_{0,1}), 50 % (d_{0,5}), and 90 % (d_{0,9}) cumulative volume, and were processed using the Mastersizer 2000® software (version 5.61). To estimate the particle size distribution, the span value was determined by dividing the difference between d_{0,1} and d_{0,9} by d_{0,5}, in the software program.

2.6 Functional properties

2.6.1 Solubility

The solubility of mucilage powder was determined and compared to xanthan and guar gums, following a slightly modified method from López-Franco et al. [26]. The polysaccharide dispersions were prepared by adding 0.2 g sample powder into 20 mL of distilled water (1 % w/v) in a centrifuge tube. These dispersions were allowed to hydrate for 2 h with magnetic stirring at ambient temperature (25 °C). Thereafter, the tubes were placed in a water bath at 30 °C, 60 °C and 90 °C for 30 min and continuously agitated. The corresponding solutions were then centrifuged (Sigma, 4K15, England) at 2120g, 15 min. Aliquots (10 mL) of the supernatant were dried in an oven at 125 °C overnight until constant weight was reached. Percentage of solubility was calculated using the following Eq. (4):

$$\text{Solubility (\%)} = \frac{w_2}{w_1} \times \frac{20}{10} \times 100 \quad (4)$$

where w_2 is the aliquot dry weight and w_1 is the sample weight.

2.6.2 Emulsifying properties

The emulsifying capacity (EC) and emulsion stability (ES) were evaluated for mucilage powder, xanthan and guar gums, based on a modified method of Gannasin et al. [27]. The polysaccharides (1 % w/v) were dissolved in distilled water with continuous stirring for 2 h; then were left overnight at 4 °C to ensure a complete hydration. Oil in water emulsions under different volume ratios of 50:50, 25:75, 10:90 v/v (oil to polysaccharide solution) were prepared by slowly adding oil into polysaccharide solution, using a high-speed homogenizer (IKA, Ultra-Turrax T25, Germany) at 10,000 rpm for 2 min. The emulsions were centrifuged (Sigma, 4K15, England) at 1300g for 5 min. The volume of the emulsion left was measured and EC was quantified using Eq. (5):

$$EC (\%) = \frac{EV_1}{V_T} \times 100 \quad (5)$$

where EV_1 is the emulsion volume layer and V_T is the total fluid volume.

To determine the ES against high temperature, emulsions previously prepared for EC were heated in a water bath at 80 °C for 30 min, cooled to room temperature (25 °C) with tap water, and centrifuged at 1300g for 5 min. ES was calculated as given by Eq. (6):

$$ES (\%) = \frac{EV_2}{EV_1} \times 100 \quad (6)$$

where EV_2 is the emulsion volume layer remained after heating and EV_1 is emulsion volume layer obtained from EC.

2.6.3 Foaming properties

The foaming capacity (FC) and foam stability (FS) of mucilage powder were determined using the methodology proposed by Sciarini et al. [28] with some modifications. Mucilage dispersions in distilled water (100 mL) were prepared at concentrations of 0.5 % and 1 % w/v and kept overnight under refrigeration (4 °C) to complete hydration. Ovalbumin protein at a concentration of 5 % w/v was utilized as a reference. Different sets were performed for testing: mucilage solution at 0.5 % or 1 % w/v, ovalbumin at 5 % w/v, and blends of ovalbumin (5 g) added to mucilage solution at 0.5 % or 1 % w/v. Solutions were whipped with a food mixer (Arno, SX84, Brazil) at moderate speed (5 speed) for 10 min. The whipped suspension was immediately transferred to a graduated cylinder, and the foam volume was recorded after 30 s. The foaming capacity (FC) was expressed as Eq. (7):

$$FC (\%) = \frac{FV_1}{SV_T} \times 100 \quad (7)$$

where FV_i is the initial foam volume and SV_T is the total suspension volume.

The foam stability (FS) was calculated as the foam volume changes recorded at intervals of 5, 10, 30, 60, 90 and 120 min, as shown in Eq. (8):

$$FS (\%) = \frac{FV_t}{SV_T} \times 100 \quad (8)$$

where FV_t is the foam volume after time ($t = 5, 10, 30, 60, 90$ and 120 min) and SV_T is the total suspension volume.

2.6.4 Viscosity properties

The mucilage solutions were prepared by dissolving the mucilage powder in water at various concentrations (1 %, 3 %, 6 % and 10 % w/v) under magnetic stirring over approximately 24 h at 25 °C.

The flow behavior was evaluated using a rheometer (Thermo Fisher Scientific, HAAKE MARS III, Germany) assembled with a cone and plate measuring geometry (C35/2° Ti L; cone diameter = 35 mm, cone angle = 2°, gap = 0.105 mm). The apparent viscosity was measured as a function of shear rate from 0.1 to 300 s⁻¹ during 5 min at 25 °C controlled by means of a temperature module (Thermo Fisher Scientific, TM-PE-C, Germany). The experimental data were fitted to the Ostwald-de-Waele model (or power law model), according to Eq. (9):

$$\eta = K \times \dot{\gamma}^{(n-1)} \quad (9)$$

where η is the apparent viscosity (Pa s), $\dot{\gamma}$ is the shear rate (s⁻¹), K is the consistency index (Pa sⁿ), and n is the flow behavior index (dimensionless).

Xanthan and guar gums solutions at 1 % (w/v) were also characterized for rheological comparisons as they are extensively used as commercial thickeners [1].

The temperature dependence of mucilage solutions (1 %, 3 %, 6 % and 10 % w/v) was determined within the temperature range of 5–80 °C. The apparent viscosity was measured as a function of temperature at a shear rate of 10 s⁻¹. The activation energy was quantified using the Arrhenius equation given by Eq. (10) [29]:

$$\eta = A \times \exp\left(\frac{E_a}{R \times T}\right) \quad (10)$$

where η is the apparent viscosity at a specific shear rate (Pa s), A is the frequency factor (Pa s), E_a is the activation energy (J mol⁻¹), R is the universal gas constant (8.314 J mol⁻¹ K⁻¹) and T is the absolute temperature (K).

RheoWin® software (Thermo Fisher Scientific, Germany) provided by the supplier was used to collect and analyze the rheological data.

2.7 Statistical analysis

All the experiments were conducted in triplicates ($n = 3$) and results were expressed as a mean \pm standard deviation. Statistica 12.0 software (Statsoft Inc., Tulsa, USA) was used for statistical analysis. Data were analyzed by ANOVA and Tukey's mean comparison test at a significance level of 5 %.

3 Results and discussion

3.1 Physicochemical characterization of mucilage powder

The yield of recovered mucilage powder from the cladodes of *O. monacantha* was 1.20 % based on fresh weight (FW). This value, as FW, was greater than those previously found by Cai et al. [30] (0.69 % FW), Espino-Díaz et al. [20] (0.68 % FW), and Mindt et al. [31] (0.53 % FW) for the mucilage isolated from *Opuntia milpa alta*, *Opuntia ficus-indica* (*Ofi*), and *O. monacantha*, respectively. In addition, the moisture content in the *O. monacantha* fresh cladodes represented 90.03 % of their total weight, so the extraction yield calculated based on dry weight (DW) was 12.01 %. This mucilage yield compared to those obtained from the cladode of other cacti was superior to that reported by Kalegowda et al. [15] (6.2 % DW – *O. dillenii*) and Bayar et al. [32] (10.24 % DW – *Ofi*), within the range given by Contreras-Padilla et al. [14] (11–17 % DW – *Ofi*), but it was considerably lower than those cited by Sepúlveda et al. [7] (17.9–20.8 % DW – *Ofi*), Petera et al. [33] (24 % DW – *Cereus triangularis*), and Monrroy et al. [18] (20–33% DW – *O. cochenillifera*). Such observed variance in yields can be explained both by differences regarding the plant material utilized for extraction (species, growing conditions, stage of development, etc.) as well as by the applied method for mucilage isolation (separation, purification, and drying procedures).

The chemical composition of *O. monacantha* mucilage is presented in Table 1. Accordingly, the mucilage powder is predominantly carbohydrate (80.12 % DW). In the literature, there is a wide fluctuation in total carbohydrate content documented for the mucilage from Cactaceae family. For example, the carbohydrate content found in this study was higher than those attributed to *Pereskia aculeata* leaves mucilage (between 46 and 48 % DW) [4,34] and *Ofi* mucilage (ranging from 63.4 to 76.6 % DW) [20,32,35], but was less than that one reported for *C. triangularis* mucilage of 85 % [33]. The TDF of mucilage powder

was the main portion of total carbohydrate, being SDF the most important fraction (55.33 % DW) (Table 1). Although the mucilage extracted from cactus cladodes is recognized to be rich in dietary fiber, especially, soluble fiber, reports concerning its dietary fiber composition are rather limited. Rodríguez-González et al. [19] studied the mucilage from different species of *Opuntia* and inferred values of TDF between 60.5 and 79.6 % DW, with those respective values of SDF (54.7–73.6 % DW) also corresponding to the main fraction of dietary fiber.

Table 1. Chemical composition of *O. monacantha* mucilage powder.

Analysis ^a	Quantity
Component (g/100 g DW)	
Moisture	9.65 ± 0.38
Protein	3.55 ± 0.08
Lipid	1.19 ± 0.06
Total Dietary Fiber (TDF)	58.80 ± 1.33
Insoluble Dietary Fiber (IDF)	3.47 ± 0.08
Soluble Dietary Fiber (SDF)	55.33
Total Carbohydrate	80.12
Ash	15.14 ± 0.14
Monosaccharide composition (g/100 g DW)	
Arabinose	11.60 ± 0.60
Galactose	20.84 ± 0.45
Glucose	4.85 ± 0.15
Rhamnose	4.50 ± 0.16
Xylose	6.64 ± 0.33
Galacturonic acid	0.18 ± 0.01
Glucuronic acid	15.22 ± 0.85
Macrominerals (g/100 g DW)	
Phosphorus (P)	0.20 ± 0.01
Potassium (K)	1.50 ± 0.14
Calcium (Ca)	4.10 ± 0.42
Magnesium (Mg)	1.05 ± 0.07
Sulfur (S)	0.11 ± 0.01
Sodium (Na)	0.11 ± 0.01
Microminerals (mg/100 g DW)	
Copper (Cu)	1.3 ± 0.00
Zinc (Zn)	83.3 ± 0.28
Iron (Fe)	5.5 ± 0.14
Manganese (Mn)	410 ± 14.14
Boron (B)	1.8 ± 0.28

^a All measurements are based on dry weight (DW) material, except the moisture.

The monosaccharide analysis revealed the *O. monacantha* mucilage is a

heteropolysaccharide mainly composed of galactose (gal), glucuronic acid (glcA), and arabinose (ara), followed by xylose (xyl), glucose (glc), rhamnose (rham), and minor portion of galacturonic acid (galA) (Table 1). Typically, mucilages are complex polysaccharides of high molecular weight, being known to contain several sugars in their structure [36]. It has been published a diverse monosaccharide composition related to the mucilage isolated from *Opuntia* ssp. but, generally is cited the presence of galactose, arabinose, xylose, and rhamnose as the neutral sugars units as well as galacturonic acid [8,19]. Even more, some authors described the mucilage from cactus species as an arabinogalactan-rich polysaccharide [33,34], which could also be considered the *O. monacantha* mucilage. Regarding the acid fraction, our results concord with the findings of Zhao et al. [13] who also identified glcA in the polysaccharide from the same plant, instead of galA that is usually referred on the studies of *Ofi* mucilage.

The protein content was determined to be of 3.55 % DW (Table 1) and is the same as the one obtained for *C. triangularis* mucilage (3 % DW) [33]. Even so, a notable variation in protein content has been documented for *Ofi* mucilage, with lower (around 1 % DW) [20,32] and superior levels (between 5.5 and 7.7 % DW) [7,19,35] than that described herein. Additionally, Junior et al. [4] and Martin et al. [34] observed a considerable quantity of protein in *P. aculeata* mucilage (values of 10.5 % DW and 19 % DW, respectively), which derives from the raw material (leaves) used for extraction that in turn is high in protein. The lipid content of mucilage powder was 1.19 % DW (Table 1); and it contrasts with previous studies on *Ofi* mucilage which found 0.09 % DW [19], 0.61 % DW [35], and 2.3 % DW [20] of lipid content.

The mucilage powder showed a relatively high ash content (15.14 % DW) (Table 1), and this must be related to the elevated ash proportion often assigned to the cladodes of *Opuntia* ssp. [37], thereby resulting in its raised level in the final product. The above-mentioned result is close to the ash value accounted for *Ofi* mucilage by Rodríguez-González et al. [19] of 16 % DW. Nonetheless, other researchers provided a superior ash content for *Ofi* mucilage (ranging from 20.1 to 39.5 % DW) [8,20,32,35], and Junior et al. [4] even reported a greater value for *P. aculeata* mucilage (ashes of 42.54 % DW).

On account of this substantial amount of ash, the mineral analysis was carried out and the results are given in Table 1. It can be seen that this mucilage has notable content of minerals, especially Ca (4.10 % DW), K (1.50 % DW), and Mg (1.05 % DW). These findings agree with the mineral elements frequently described in the *Opuntia* genus, wherein K and Ca were cited at higher levels, followed by Mg [37]. In this study, calcium was the most

abundant mineral present in the mucilage powder, which is in consonance with earlier reports on *Ophi* mucilage [7,18]. The other macrominerals (P, S, and Na) were found too, albeit in fewer amount. Among the microminerals, can be underlined the elevated levels of Mn and Zn. Presumably, the ashes are usually an unwanted component (the lower the ash content, the higher the purity degree associated with the hydrocolloid gum) [38], however, the prominent quantity of important minerals for human nutrition detected in this work could be advantageous when thinking about new applications of this mucilage hydrocolloid by the food industry [14].

The results of physicochemical characteristics are summarized in Table 2. The water activity (a_w) value of mucilage powder was 0.438, which is below to the a_w critical (0.6) – the maximum value accepted to prevent the growth of any microorganisms in various foods [39] – denoting its relative stability and low susceptibility to spoil during storage. The color analysis indicated the mucilage as a whitish powder (high L^* value), with the chromatic coordinates in the yellow-greenish spectrum (positive b^* component and negative a^* component) (Table 2). These values were consistent with those reported by Sepúlveda et al. [7] for the mucilage powder from *Ophi*, and also comparable to commercial gums used in food systems [40]. The precipitation process with ethanol dissolves part of the chlorophyll present in the cladodes, allowing producing a depigmented mucilage.

Table 2. Physicochemical characteristics of *O. monacantha* mucilage.

Parameter	Value
a_w	0.438 ± 0.01
Color	
L^*	85.96 ± 0.61
a^*	-0.36 ± 0.02
b^*	11.56 ± 0.36
Bulk density (g/mL)	0.785 ± 0.02
$[\eta]$ (dL/g) ^a	9.02 ± 0.52
M_v (g/mol) ^b	1.12×10^6

The results are represented as the means \pm standard deviation.

^a Intrinsic viscosity, measured in distilled water at 25 °C. The value corresponds to the average of intrinsic viscosity values obtained from Huggins and Kraemer's extrapolations to zero concentration.

^b Molar mass, calculated from Mark-Houwink equation, considering $K = 3.81 \times 10^{-4}$ dL/g and $\alpha = 0.723$ [25].

The bulk density of mucilage powder was 0.785 g/mL (Table 2), which is slightly lower than those demonstrated for *O. dillenii* mucilage (0.80 g/mL) [15] and for a commonly utilized industrial gum, such as xanthan gum (0.839 g/mL) [41].

The macromolecular characteristics of the mucilage polysaccharide were investigated by viscosimetric measurements in dilute region where the polymer concentration is low enough to neglect intermolecular association. Intrinsic viscosity $[\eta]$ is a measure of the hydrodynamic volume occupied by an individual polymer coil in a particular solvent [24]. The intrinsic viscosity $[\eta]$ of *O. monacantha* mucilage, calculated from the average of intrinsic viscosity values obtained from Huggins and Kraemer's extrapolations to zero concentration was 9.02 dL/g (Table 2). This value is slightly inferior than 10.94 dL/g previously determined for *Ofi* mucilage by Quinzio et al. [25], but substantially higher than 3.70 dL/g and 2.6 dL/g documented for the mucilage's extracted from *O. dillenii* [15] and *P. aculeata* leaves [34], respectively. Comparing with some commercial gums, intrinsic viscosity of 0.18 dL/g was reported for Arabic gum [42], 14.20 dL/g for locust bean gum, 15.80 dL/g for guar gum [43], and 110.34 dL/g for xanthan gum [44].

The data of intrinsic viscosity was used to estimate the molar mass (M_v) of the extracted mucilage and was found to be 1.12×10^6 g/mol (Table 2), which is close to the values accounted for *O. dillenii* mucilage (1.90×10^6 g/mol) [15] and for *Ofi* mucilage (1.48×10^6 g/mol) [25]; however little superior than 7.9×10^5 g/mol described for *P. aculeata* leaves mucilage [34]. For comparison, the molar masses reported for commercial hydrocolloids were 8.45×10^5 g/mol for Arabic gum [42], 2.08×10^6 g/mol for locust bean gum, 2.91×10^6 g/mol for guar gum [43], and 4.05×10^6 g/mol for xanthan gum [44].

3.2 Particle morphology of mucilage powder

Fig. 1 displays the particle morphology of mucilage powder obtained after drying (moisture content <10 %), grinding and sieving through a 60-mesh screen. Image analysis at various magnifications (400 \times , 1000 \times and 5000 \times) reveals particles of irregular shapes and with a broad range of different sizes. Some fracture shapes of the mucilage particles were probably caused by mechanical breakdown during milling. Additionally, Fig. 1B demonstrates the attraction and adherence of smaller particles to the surface of larger ones, and Fig. 1C shows the mucilage powder elevated bulk porosity, rendering it with a spongy aspect that has been described as typical of hygroscopic materials [45].

Similar morphology was exhibited by the powdered mucilage from *P. aculeata* leaves

[45], which belongs to the Cactaceae family too. Conversely, León-Martínez et al. [16] studied the morphological properties of *Ophiocactus* spray-dried mucilage powder and reported to be a sphere-like shape particle with collapsed walls that is mostly seen when using spray drying process. Therefore, the shape and microstructure of the mucilage powder depends on the method of extraction, purification, drying, and grinding of the product.

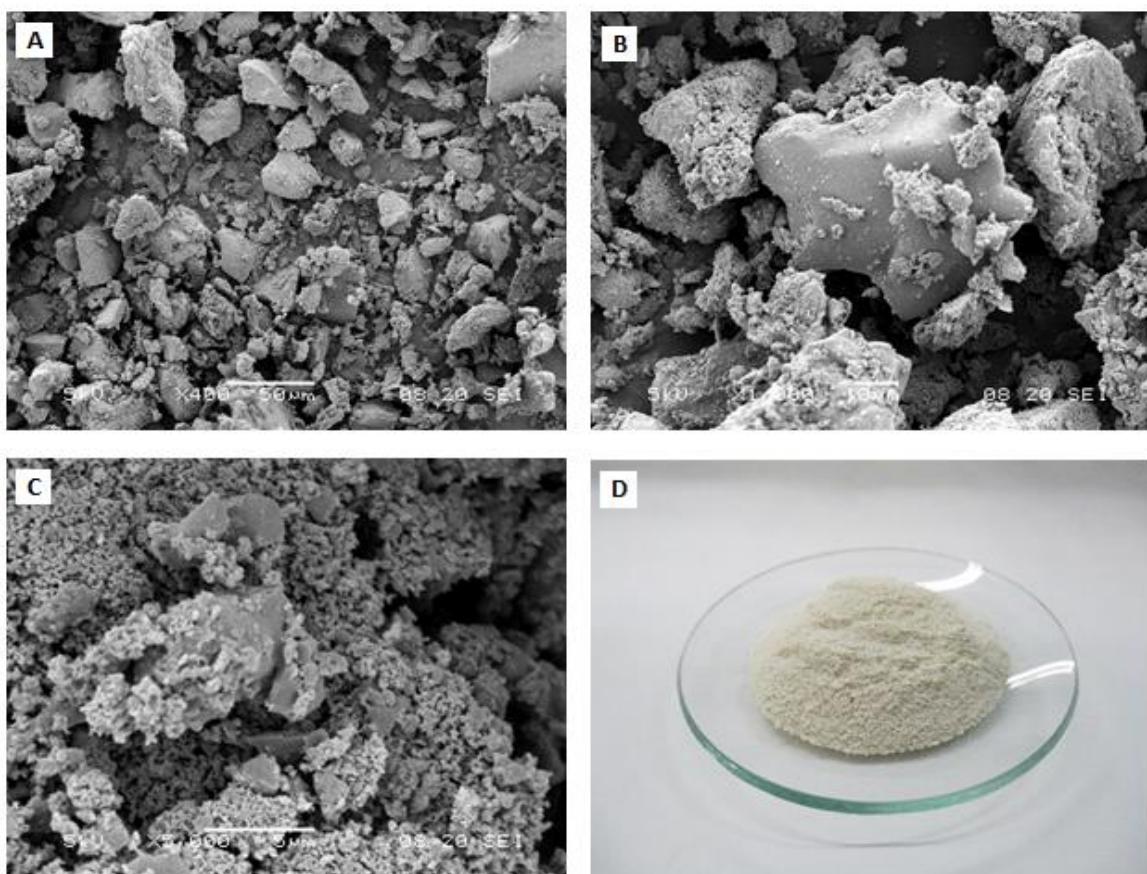


Fig. 1. Micrographs of mucilage powder obtained at a magnification of 400 \times (A), 1000 \times (B), and 5000 \times (C). (D) Illustrates a macroscopic picture of the *O. monacantha* mucilage powder.

3.3 Particle size distribution of mucilage solution

The particle size of hydrocolloids and their distribution are relevant parameters influencing the rate of hydration, dissolution and emulsifying features [46]. In this study the mean particle diameter ($D_{4,3}$) and the specific surface area of the mucilage solution (1 % w/v) were 648 nm and $25.4 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, respectively. The equivalent volume diameters at 10 %, 50 %, and 90 % cumulative volume were 109 nm, 325 nm, and 1400 nm, respectively, which implied in a span value of 3.97 that indicates the mucilage in solution had an ample

distribution of particle sizes (i.e., heterogenous size particle), with a bimodal distribution (as showed in Fig. S1 in the Supplementary data).

Our results for mean particle diameter are within those ones found by Kaewmanee et al. [46] for flaxseed mucilage solutions (0.1 % w/v) which ranged from approximately 300 to 1000 nm. In contrast, León-Martínez et al. [47] observed a much bigger mean particle diameter for *Ofi* mucilage solutions (6 % w/v) with values varying from around 5000 to 155,000 nm, while Haddarah et al. [48] reported a smaller particle diameter for locust bean gum solutions (0.1% w/v), amounting from 56.97 to 92.93 nm. These differences in particle size among polysaccharide solutions might be associated with the different applied processes to obtain the material, especially those concerning drying and grinding methods.

3.4 Functional properties of mucilage

3.4.1 Solubility

Solubility is an important factor since the maximum functionality of any hydrocolloid is achieved after its fully dissolving in water [49]. Water solubility is related to the strength of interactions between the polysaccharide and water through hydrogen bonds driven by means of hydrophilic groups along the polymer chain [50]. The solubility of aqueous solutions (1 % w/v) of mucilage powder and commercial gums at different temperatures are given in Fig. 2.

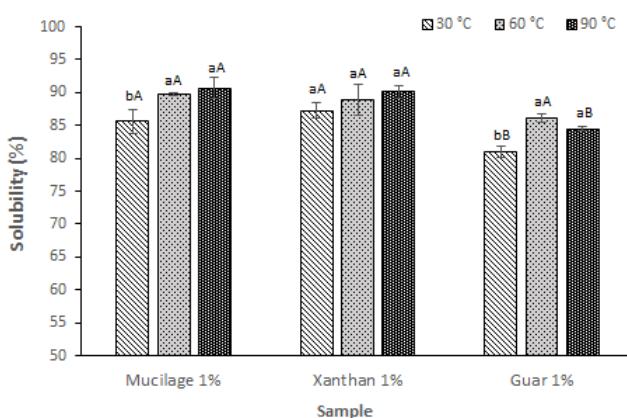


Fig. 2. Sample solubility (%) as a function of temperature. ^{a-c}Bars with different lowercase letters indicate a significantly ($p < 0.05$) different solubility of a sample at different temperatures by Tukey's test. ^{A-C}Bars with different uppercase letters indicate a significantly ($p < 0.05$) different solubility among samples at the same temperature by Tukey's test.

The mucilage showed a fairly high solubility under all tested temperatures (>85%); above 60 °C, it was significantly ($p < 0.05$) superior. There was a general trend suggesting an

improvement in sample solubility with the rise in temperature, although xanthan gum did not change significantly ($p > 0.05$). These findings corroborate with other studies on polysaccharide gums [26,28,51]. The heating process reduces the aggregation of particles, which in turn favors the diffusion of water to the granule bulk [52]. Certain polysaccharides such as guar gum, xanthan gum, pectin, sodium alginate and λ -carrageenan are soluble in cold water, but others like τ -carrageenan, κ -carrageenan, and locust bean gum require heating for ensuring full hydration [50].

The mucilage examined at various temperatures (30 °C, 60 °C and 90 °C) had comparable solubility to xanthan gum, whereas the guar gum showed a significantly ($p < 0.05$) lower values than its counterparts at 30 °C and 90 °C. Thus, the above-described results indicate that the re-dissolved mucilage powder in water has good solubility, behaving similarly to xanthan and guar gums.

3.4.2 Emulsifying properties

The emulsifying capacity (EC) and emulsion stability (ES) of the mucilage and xanthan and guar gums are shown in Fig. 3A and B, respectively. According to Fig. 3A, the mucilage EC was found to increase significantly ($p < 0.05$) with the increment of mucilage solution bulk in the emulsion, the same occurring to xanthan and guar gum. This pattern has also been stated in investigations of several polysaccharide gums [4,15,36,52]. In this study the mucilage EC values (above 90 %) were compatible with those of xanthan gum ($p > 0.05$) at all different ratios of oil to polysaccharide solution; conversely, guar gum imparted an EC significantly ($p < 0.05$) lower than them. Sciarini et al. [28] and Thanatcha and Pranee [40] demonstrated that xanthan gum exhibited a smaller oil separation than guar gum upon centrifugation, which is in concordance with our results.

The concept of EC is commonly associated with surface-active molecules that have the capacity to adsorb at the fine freshly droplets created during emulsification, lowering the interfacial tension appreciably to facilitate droplet disruption, and preventing the newly formed droplets against re-coalescence by providing a protective layer around them [28,45].

Different authors have reported in the literature the surface activity of some polysaccharide gums [34,36,53,54], giving them emulsifying and stabilizing properties. There is a general trend to lower the surface/interfacial tension with increasing gum concentration up to a certain level when a saturated concentration is reached and no further reduction of surface tension is observed [24]. It has been reported that the surface activity may be caused by the presence of some hydrophobic constituents like methyl and acetyl groups, and

proteinaceous fraction [55]. However, it is also pondered that the protein presence in the polysaccharide does not appear to be an absolute requirement for producing higher surface activity [43,56]. On the other hand, acid sugars with carboxyl groups such as uronic acids have been reported to possess surface-active properties [53,54]. In this study, the tested polysaccharides presented close values of protein content (3.55 %, 4.49 %, and 3.98 % for mucilage, xanthan and guar gums, respectively), but they differ in their charge character, being the mucilage and xanthan gum acidic (charged) polysaccharides in contrast to guar gum that is a neutral (nonionic) polysaccharide. Hence, due to the EC similarities between the mucilage and the xanthan gum, we can assume that the uronic acid content also play a role in the emulsifying performance of the polysaccharides.

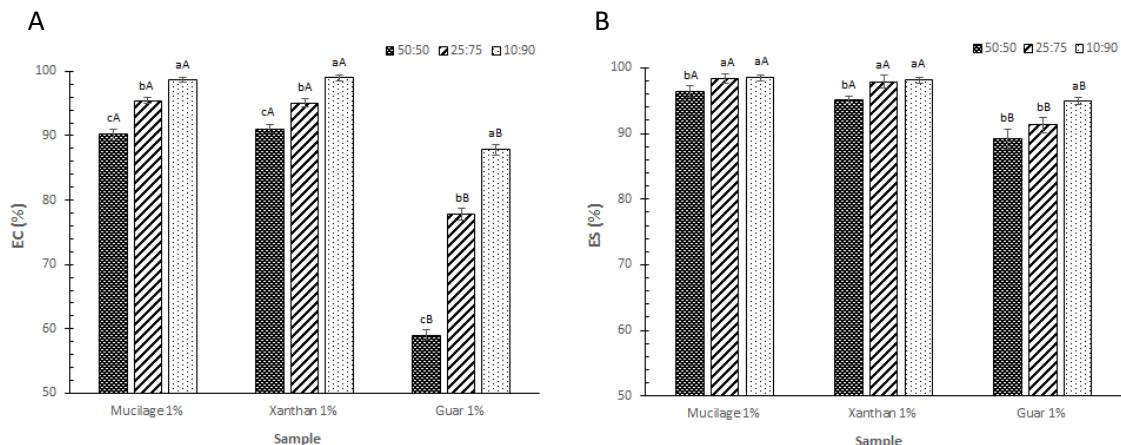


Fig. 3. Sample emulsifying capacity (EC) (A) and emulsion stability (ES) (B) as a function of different ratios of oil to polysaccharide solution (50:50, 25:75, 10:90, v/v). ^{a-c}Bars with different lowercase letters indicate a significantly ($p < 0.05$) different EC or ES of a sample at different ratios of oil to polysaccharide solution by Tukey's test. ^{A-C}Bars with different uppercase letters indicate a significantly ($p < 0.05$) different EC or ES among samples at the same ratio of oil to polysaccharide solution by Tukey's test.

From Fig. 3B it can be seen that heating (80 °C, 30 min) had minimum effect on the destabilization of mucilage emulsions (ES values over 96 %), which means the mucilage was efficient at keeping the emulsion stable. Again, the mucilage ES at varying ratios of oil to polysaccharide solution was analogous to xanthan gum, and both were significantly ($p < 0.05$) higher than guar gum. The mucilage and xanthan gum samples reduced significantly ($p < 0.05$) their ES only at the uppermost proportion of oil in the emulsion (50:50); in contrast, guar gum diminished its ES significantly ($p < 0.05$) from the intermediate proportion of oil tested in the emulsion (25:75). It is generally assumed that the main contribution of hydrophilic polysaccharides to the ES is by increasing the viscosity of the continuous phase surrounding the oil droplets, thus impeding molecular motion and reducing the tendency to

particle coalescence [28,36,51,57].

3.4.3 Foaming properties

The FC and FS of various foaming solutions are summarized in Fig. 4A and B, respectively. As it is seen, the mucilage FC was concentration-dependent, being significantly ($p < 0.05$) greater at 1 % solution (FC = 100 %) than at 0.5 % solution (FC = 57.4 %). The ovalbumin 5 %, used as a reference, had 78.2 % of FC. Meanwhile, the ovalbumin 5 % combined with the mucilage at both concentrations (0.5 % or 1 %) improved significantly ($p < 0.05$) their FC compared to ovalbumin 5 % by itself.

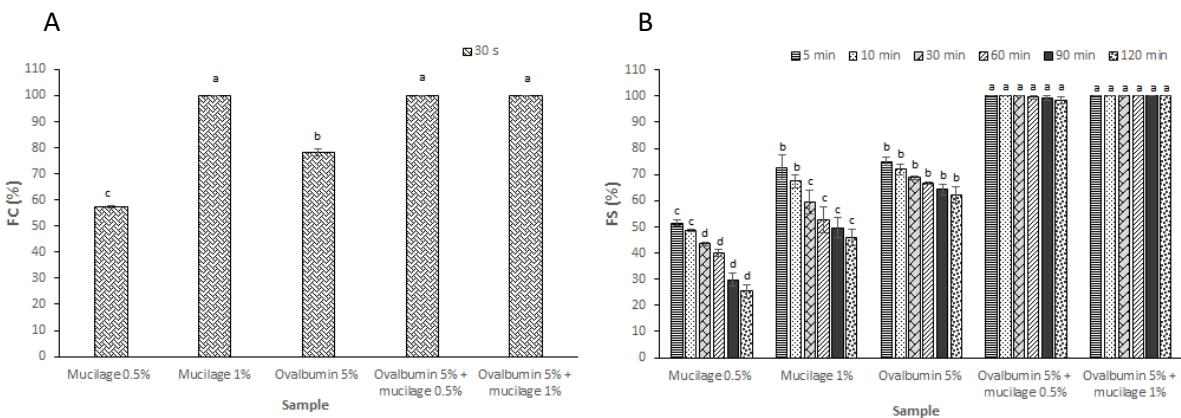


Fig. 4. Foaming capacity (FC) (A) and foam stability (FS) (B) of various foaming solutions. ^{a-c}Bars with different lowercase letters indicate a significantly ($p < 0.05$) different FC among foaming solutions or indicate a significantly ($p < 0.05$) different FS among foaming solutions at the same interval of time ($t = 5$ min, 10 min, 30 min, 60 min, 90 min or 120 min) of foam formation by Tukey's test.

It is worth mentioning that some polysaccharide gums (e.g., xanthan, guar, locust bean gum, carrageenan) were examined and their solutions did not make foam on their own [27,58,59]. Nonetheless, it is reported that the polysaccharide presence in a protein-based foaming solution afford positive effect on the foaming properties, attributed to the increase of aqueous phase viscosity and to an additional role of the polysaccharide in the formation of a cohesive flexible film around air-bubble which improves foam formation [59,60]. This enhancement, however, is sensitive to the protein-polysaccharide interactions and to the polysaccharide concentration utilized to make the foam [58].

Regarding the FS, the mucilage-based foams (at concentrations of 0.5 % and 1 %) progressively diminished their volume over testing time, with the FS value starting from 51.5 % and 72.7 % ($t = 5$ min) and ending with 25.5 % and 46 % ($t = 2$ h), respectively; while the ovalbumin 5 % (reference) promoted less pronounced decrease, reducing from 74.9 to 62.1 %

(5 min to 2 h of test). On the other hand, the mucilage addition (at both concentrations – 0.5 % and 1 %) to a protein-based foaming solution (ovalbumin 5 %) resulted in a strong increase of the stability, conferring a FS of 98.4 % and 100 % after 2 h of test, respectively, that were significantly ($p < 0.05$) higher than the ovalbumin foaming solution by itself.

Several investigations have emphasized the contribution of an appropriate polysaccharide to the stability of a protein system through delivering an increased aqueous phase viscosity that probably structures and stabilize the lamellar water, thereby retarding liquid drainage and air-bubbles coalescence [58–60]. The results reveal the promising potential of this mucilage to be used as an egg white substitute in some applications, such as in bakery and ice cream products or be employed as a foam stabilizer in frothy beverages (like cappuccino and beer). Hence, these foaming properties could be addressed to develop egg-free products, benefiting the consumer who is allergic to eggs or to fulfill the demand for vegan products.

3.4.4 Viscosity properties

The effect of applied shear rate ($\dot{\gamma}$) on apparent viscosity (η) of mucilage solutions at different concentrations is depicted in Fig. 5.

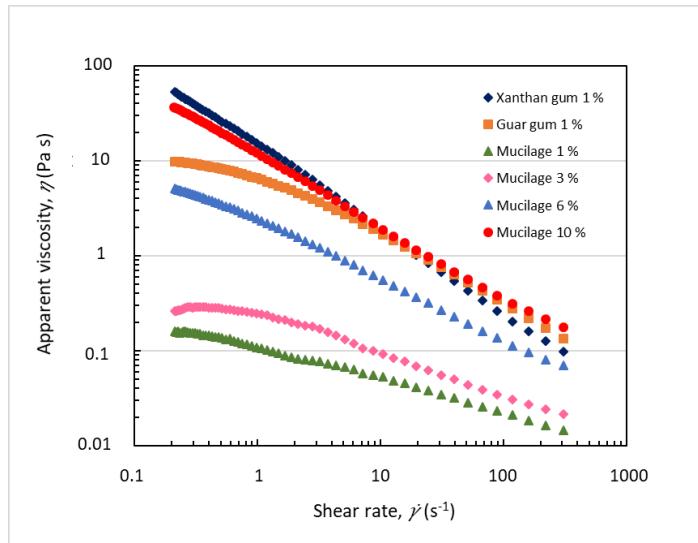


Fig. 5. Apparent viscosity-shear rate profile of *O. monacantha* mucilage solutions at different concentrations (25 °C). Viscosity curves of 1% xanthan gum and 1% guar gum are also included.

As can be noticed, the increment of the shear rate led to a decrease in the apparent viscosity of mucilage solutions (for all concentration levels), which is referred to as shear-thinning (pseudoplastic) flow behavior, i.e., for this type of systems, viscosity depends on the shear rate. At the same time, the Fig. 5 revealed the viscosity became higher with the rise of

sample concentration, as was expected. Shear-thinning reflects an orientation effect. The application of a shear force to a concentrated polymer system causes disruptions of the ordered structure, so the fluid become increasingly aligned in the direction of flow, generating solutions with lower viscosity [51]. In practice, this means that the flow encounters less resistance at higher shearing. This phenomenon was also observed for mucilage solution from *Ophi* [14,17,47], being correlated to the high molecular weight of the polysaccharide.

The experimental rheological data of mucilage solutions were adequately adjusted to the Ostwald-de-Waele model ($r > 0.98$) and parameters are compiled in Table 3. At any concentration of mucilage solutions, the flow behavior index (n) ranged from $0 < n < 1$, confirming the non-Newtonian shear-thinning behavior under the studied conditions. Besides, n index reduced progressively when concentration increased, rendering a more pseudoplasticity to the system. Meanwhile, the consistency index (K) of the fluid was greater with increasing mucilage concentration, which reflects a higher apparent viscosity. Medina-Torres et al. [17] reported that the estimated K indexes of *Ophi* mucilage solutions increased from 0.15 to 25.47 (Pa sⁿ) by augmenting the concentration from 1 to 10 %.

Table 3. Ostwald-de-Waele parameters for mucilage solutions at different concentrations. Commercial gums (xanthan and guar) are also included.

Sample	K (Pa s ⁿ)	n	r
Mucilage 1 %	0.11	0.73	0.989
Mucilage 3 %	0.23	0.68	0.984
Mucilage 6 %	2.44	0.52	0.996
Mucilage 10 %	12.43	0.31	0.999
Xanthan gum 1 %	15.35	0.19	0.999
Guar gum 1 %	5.94	0.65	0.983

K , consistency index (Pa sⁿ); n , flow behavior index (dimensionless).

For comparison purposes, the viscosity curves of xanthan and guar gum solutions at 1 % were added to Fig. 5. The mucilage sample at 10 % exhibited a very close apparent viscosity curve to that obtained for xanthan gum at 1 %, which means is necessary ten times more mucilage powder (solids content) to achieve a similar viscous aqueous solution to xanthan gum. The magnitude of K index of both samples also confirms this result.

In the food industries, a wide range of temperatures are encountered during processing and storage of foods containing hydrocolloids [29]. The influence of temperature on the

mucilage viscous behavior for concentrations ranging from 1 to 10 % is presented in Fig. 6. The experimental results suggest that these solutions were slightly temperature dependent over the studied range (within 5–80 °C), due to the minor changes associated with viscosity by increased temperature. This tendency (less dependency to temperature) was more evident at higher mucilage concentrations.

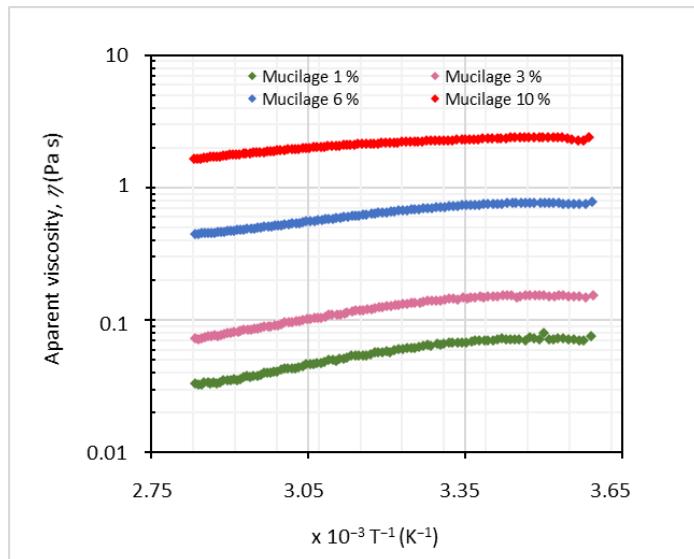


Fig. 6. Effect of the temperature (5–80 °C) on the apparent viscosity of *O. monacantha* mucilage solutions at various concentrations. Data at shear rate of 10 s⁻¹.

The dependence of apparent viscosity on temperature was represented by the Arrhenius equation (Table 4), demonstrating a good fit ($r > 0.95$).

Table 4. Arrhenius parameters for temperature dependence of apparent viscosity (at 10 s⁻¹) of mucilage solutions at various concentrations.

Sample	A (Pa s)	E_a (J mol ⁻¹)	r
Mucilage 1 %	0.001	10,007	0.969
Mucilage 3 %	0.003	9173	0.964
Mucilage 6 %	0.047	6788	0.973
Mucilage 10 %	0.433	4168	0.958

A , frequency factor; E_a , activation energy.

The activation energy (E_a) is the energy required to initiate elementary flow process [29], and it has been reported to be influenced by concentration [61] and shear rate [62]. It was found that the activation energy of mucilage solutions decreased from 10 kJ mol⁻¹ at 1 %

concentration to 4.17 kJ mol⁻¹ at 10 % concentration, denoting a more sensitivity to temperature in a less concentrated mucilage solution. Increase in frequency factor and a reduction in activation energy with rising concentration is in agreement to the results of Karazhiyan et al. [63] and Koocheki et al. [51] for mucilage solutions from cress seed (*Lepidium sativum*) and Qodume shahri seed (*Lepidium perfoliatum*), respectively.

4 Conclusions

The actual study valorizes the cladodes of *O. monacantha* cactus for obtainment of an alternative source of a food hydrocolloid, which has not been considered until now. The mucilage extraction yield was on average of 12 % DW, indicating that the proposed isolation method as a feasible option to process this cactus plant into a value-added polysaccharide gum. The mucilage powder was found to consist of mainly carbohydrates together with a substantial amount of ash, which in turn included appreciable levels of relevant minerals. Also, it has shown it is a heteropolymer, constituted of a monosaccharide mixture of gal, ara, xyl, glc, rham, glcA, and galA.

The mucilage aqueous solution had low particle size and displayed a solubility over 85 %. It presented high emulsifying capacity and promoted stability to the emulsion at various ratios of oil to polysaccharide solution, similarly to xanthan gum, giving prospects for its possible use in food formulation as an emulsifying agent and/or stabilizer. Likewise, it showed a good foaming capacity, which was dependent on its concentration in solution. Even more, the mucilage addition to an ovalbumin-based foam affected the resulting foaming property, functioning as a foam enhancer and a foam stabilizer. The viscosity studies of mucilage solutions demonstrated pseudoplastic behavior in the concentration range of 1–10 % and a relative heat resistance. In this sense, this work unveils several investigative perspectives to promote new technological applications of this material, based on its functional properties.

Acknowledgments

The authors acknowledge the financial support of the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES, Brazil) and the Research Support Foundation of Rio Grande do Sul State (FAPERGS, Brazil) (Project 17/2551-0000945-2), and the technical assistance of the Eletronic Microscope Center (CME) of Federal University of

Rio Grande do Sul (UFRGS). The authors are also grateful to professor Plinho Hertz for supplying the raw material (*O. monacantha* cladodes) for this study. More, we would like to thank Andressa Diprat for her contribution to monosaccharides analysis.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.126>.

Table S1. Methodology used for quantification of minerals in plant tissues.

Determinations	Applied methodology/ Limit of detection
Phosphorus (g/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 0.01 %
Potassium (g/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 0.01 %
Calcium (g/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 0.01 %
Magnesium (g/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 0.01 %
Sulfur (g/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 0.01 %
Sodium (g/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 10 mg/kg
Copper (mg/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 0.3 mg/kg
Zinc (mg/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 1 mg/kg
Iron (mg/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 2 mg/kg
Manganese (mg/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 2 mg/kg
Boron (mg/100 g)	Dry digestion/ espec. abs. mol./ 1 mg/kg

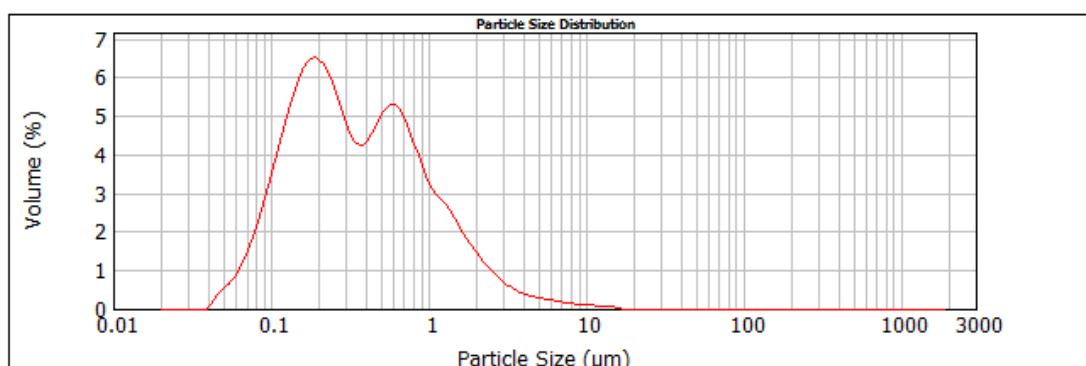


Fig. S1. Particle size distribution of *Opuntia monacantha* mucilage solution (1 % w/v).

References

- [1] P.A. Williams, G.O. Phillips, Introduction to food hydrocolloids, in: G.O. Phillips, P.A. Williams (Eds.), *Handb. Hydrocoll.*, 2nd ed., Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK, 2009: pp. 1–22.
- [2] C. Viebke, S. Al-Assaf, G.O. Phillips, Food hydrocolloids and health claims, *Bioact. Carbohydrates Diet. Fibre.* 4 (2014) 101–114. doi:10.1016/j.bcdf.2014.06.006.
- [3] J.M. Li, S.P. Nie, The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods, *Food Hydrocoll.* 53 (2016) 46–61. doi:10.1016/j.foodhyd.2015.01.035.
- [4] F.A.L. Junior, M.C. Conceição, J.V. de Resende, L.A. Junqueira, C.G. Pereira, M.E.T. Prado, Response surface methodology for optimization of the mucilage extraction process from *Pereskia aculeata* Miller, *Food Hydrocoll.* 33 (2013) 38–47. doi:10.1016/j.foodhyd.2013.02.012.
- [5] P.L.R. da Cunha, R.C.M. de Paula, J.P.A. Feitosa, Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico, *Quim. Nova.* 32 (2009) 649–660. doi:10.1590/S0100-40422009000300009.
- [6] A.M. Carneiro, R. Farias-Singer, R.A. Ramos, A.D. Nilson, *Cactos do Rio Grande do Sul*, Fundação Zoobotânica, do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.
- [7] E. Sepúlveda, C. Sáenz, E. Aliaga, C. Aceituno, Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp., *J. Arid Environ.* 68 (2007) 534–545. doi:10.1016/j.jaridenv.2006.08.001.
- [8] C. Sáenz, E. Sepúlveda, B. Matsuhiro, *Opuntia* spp. mucilage's: a functional component with industrial perspectives, *J. Arid Environ.* 57 (2004) 275–290. doi:10.1016/S0140-1963(03)00106-X.
- [9] V.F. Kinupp, Plantas alimentícias não-convencionais da região metropolitana de Porto Alegre, RS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007. <http://hdl.handle.net/10183/12870>.
- [10] M. Lenzi, A.I. Orth, Mixed reproduction systems in *Opuntia monacantha* (Cactaceae) in Southern Brazil, *Brazilian J. Bot.* 35 (2012) 49–58.
- [11] L.M.M. Valente, D. da Paixão, A.C. do Nascimento, P.F.P. dos Santos, L.A. Scheinvar, M.R.L. Moura, L.W. Tinoco, L.N.F. Gomes, J.F.M. da Silva, Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae), *Food Chem.* 123 (2010) 1127–1131. doi:10.1016/j.foodchem.2010.05.074.
- [12] N. Yang, M. Zhao, B. Zhu, B. Yang, C. Chen, C. Cui, Y. Jiang, Anti-diabetic effects of polysaccharides from *Opuntia monacantha* cladode in normal and streptozotocin-induced diabetic rats, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 9 (2008) 570–574.

- doi:10.1016/j.ifset.2007.12.003.
- [13] M. Zhao, N. Yang, B. Yang, Y. Jiang, G. Zhang, Structural characterization of water-soluble polysaccharides from *Opuntia monacantha* cladodes in relation to their anti-glycated activities, *Food Chem.* 105 (2007) 1480–1486. doi:10.1016/j.foodchem.2007.05.031.
- [14] M. Contreras-Padilla, M.E. Rodríguez-García, E. Gutiérrez-Cortez, M. del C. Valderrama-Bravo, J.I. Rojas-Molina, E.M. Rivera-Muñoz, Physicochemical and rheological characterization of *Opuntia ficus* mucilage at three different maturity stages of cladode, *Eur. Polym. J.* 78 (2016) 226–234. doi:10.1016/j.eurpolymj.2016.03.024.
- [15] P. Kalegowda, A.S. Chauhan, S.M. Nanjaraj Urs, *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl) Haw cladode mucilage: physico-chemical, rheological and functional behavior, *Carbohydr. Polym.* 157 (2017) 1057–1064. doi:10.1016/j.carbpol.2016.10.070.
- [16] F.M. León-Martínez, L.L. Méndez-Lagunas, J. Rodríguez-Ramírez, Spray drying of nopal mucilage (*Opuntia ficus-indica*): effects on powder properties and characterization, *Carbohydr. Polym.* 81 (2010) 864–870. doi:10.1016/j.carbpol.2010.03.061.
- [17] L. Medina-Torres, E. Brito-De La Fuente, B. Torrestiana-Sánchez, R. Katthain, Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*), *Food Hydrocoll.* 14 (2000) 417–424. doi:10.1016/S0268-005X(00)00015-1.
- [18] M. Monrroy, E. García, K. Ríos, J.R. García, Extraction and physicochemical characterization of mucilage from *Opuntia cochenillifera* (L.) Miller, *J. Chem.* (2017) 9 pages. doi:10.1155/2017/4301901.
- [19] S. Rodríguez-González, H.E. Martínez-Flores, C.K. Chávez-Moreno, L.I. Macías-Rodríguez, E. Zavala-Mendoza, M.G. Garnica-Romo, L. Chacón-García, Extraction and characterization of mucilage from wild species of *Opuntia*, *J. Food Process Eng.* 37 (2014) 285–292. doi:10.1111/jfpe.12084.
- [20] M. Espino-Díaz, J. de J. Ornelas-Paz, M.A. Martínez-Téllez, C. Santillán, G. V. Barbosa-Cánovas, P.B. Zamudio-Flores, G.I. Olivas, Development and characterization of edible films based on mucilage of *Opuntia ficus-indica* (L.), *J. Food Sci.* 75 (2010) 347–352. doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01661.x.
- [21] AOAC, Official Methods of Analysis, 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C, 1990.
- [22] M.J. Tedesco, C. Gianello, Metodología de análises de solo, plantas, adubos orgânicos e resíduos, in: C.A. Bissani, C. Gianello, F.A. de O. Camargo, M.J. Tedesco (Eds.), *Fertil. Dos Solos e Manejo Da Adubação Cult.*, Gênesis, Porto Alegre, 2004: pp. 61–66.
- [23] M.A. Ayadi, W. Abdelmaksoud, M. Ennouri, H. Attia, Cladodes from *Opuntia ficus indica* as a source of dietary fiber: effect on dough characteristics and cake making, *Ind. Crops Prod.* 30 (2009) 40–47. doi:10.1016/j.indcrop.2009.01.003.

- [24] Q. Wang, S.W. Cui, Understanding the physical properties of food polysaccharides, in: S.W. Cui (Ed.), *Food Carbohydrates Chem. Phys. Prop. Appl.*, CRC Press, Boca Raton, FL, 2005.
- [25] C. Quinzio, C. Ayunta, B.L. de Mishima, L. Iturriaga, Stability and rheology properties of oil-in-water emulsions prepared with mucilage extracted from *Opuntia ficus-indica* (L.). *Miller*, *Food Hydrocoll.* 84 (2018) 154–165. doi:10.1016/j.foodhyd.2018.06.002.
- [26] Y.L. López-Franco, C.I. Cervantes-Montaño, K.G. Martínez-Robinson, J. Lizardi-Mendoza, L.E. Robles-Ozuna, Physicochemical characterization and functional properties of galactomannans from mesquite seeds (*Prosopis* spp.), *Food Hydrocoll.* 30 (2013) 656–660. doi:10.1016/j.foodhyd.2012.08.012.
- [27] S.P. Gannasin, Y. Ramakrishnan, N.M. Adzahan, K. Muhammad, Functional and preliminary characterisation of hydrocolloid from tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) puree, *Molecules*. 17 (2012) 6869–6885. doi:10.3390/molecules17066869.
- [28] L.S. Sciarini, F. Maldonado, P.D. Ribotta, G.T. Pérez, A.E. León, Chemical composition and functional properties of *Gleditsia triacanthos* gum, *Food Hydrocoll.* 23 (2009) 306–313. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.02.011.
- [29] M.A. Rao, Flow and functional models for rheological properties of fluid foods, in: M.A. Rao (Ed.), *Rheol. Fluid Semisolid Foods*, Third Edit, Springer, New York, USA, 2014: pp. 27–61. doi:10.1007/978-1-4614-9230-6.
- [30] W. Cai, X. Gu, J. Tang, Extraction, purification, and characterization of the polysaccharides from *Opuntia milpa alta*, *Carbohydr. Polym.* 71 (2008) 403–410. doi:10.1016/j.carbpol.2007.06.008.
- [31] L. Mindt, K. Saag, G.R. Sanderson, P. Moyna, G. Ramos, Cactaceae mucilage composition, *J. Sci. Food Agric.* 26 (1975) 993–1000. doi:10.1002/jsfa.2740260716.
- [32] N. Bayar, M. Kriaa, R. Kammoun, Extraction and characterization of three polysaccharides extracted from *Opuntia ficus indica* cladodes, *Int. J. Biol. Macromol.* 92 (2016) 441–450. doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.07.042.
- [33] B. Petera, C. Delattre, G. Pierre, A. Wadouachi, R. Elboutachfaïti, E. Engel, L. Poughon, P. Michaud, T.A. Fenoradosoa, Characterization of arabinogalactan-rich mucilage from *Cereus triangularis* cladodes, *Carbohydr. Polym.* 127 (2015) 372–380. doi:10.1016/j.carbpol.2015.04.001.
- [34] A.A. Martin, R.A. de Freitas, G.L. Sasaki, P.H.L. Evangelista, M.R. Sierakowski, Chemical structure and physical-chemical properties of mucilage from the leaves of *Pereskia aculeata*, *Food Hydrocoll.* 70 (2017) 20–28. doi:10.1016/j.foodhyd.2017.03.020.
- [35] J.L. Rivera-Corona, F. Rodríguez-González, R. Rendón-Villalobos, E. García-Hernández, J. Solorza-Feria, Thermal, structural and rheological properties of sorghum starch with cactus mucilage addition, *LWT - Food Sci. Technol.* 59 (2014) 806–812.

- doi:10.1016/j.lwt.2014.06.011.
- [36] Y.P. Timilsena, R. Adhikari, S. Kasapis, B. Adhikari, Molecular and functional characteristics of purified gum from Australian chia seeds, *Carbohydr. Polym.* 136 (2016) 128–136. doi:10.1016/j.carbpol.2015.09.035.
- [37] L.P. Méndez, F.T. Flores, J.D. Martín, E.M.R. Rodríguez, C.D. Romero, Physicochemical characterization of cactus pads from *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus indica*, *Food Chem.* 188 (2015) 393–398. doi:10.1016/j.foodchem.2015.05.011.
- [38] H. Mirhosseini, B.T. Amid, K.W. Cheong, Effect of different drying methods on chemical and molecular structure of heteropolysaccharide-protein gum from durian seed, *Food Hydrocoll.* 31 (2013) 210–219. doi:10.1016/j.foodhyd.2012.11.005.
- [39] D.S. Reid, Water activity: fundamentals and relationships, in: G.V. Barbosa-Cánovas, A.J. Fontana, Jr., S.J. Schmidt, T.P. Labuza (Eds.), *Water Act. Foods Fundam. Appl.*, First edit, Blackwell Publishing, Iowa, USA, 2007: pp. 15–28.
- [40] R. Thanatcha, A. Pranee, Extraction and characterization of mucilage in *Ziziphus mauritiana* Lam., *Int. Food Res. J.* 18 (2011) 201–212. [http://www.ifrj.upm.edu.my/18\(01\)2011/\(20\)IFRJ-2010-009PraneeThailand\[1\].pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/18(01)2011/(20)IFRJ-2010-009PraneeThailand[1].pdf).
- [41] K.S. Kang, D.J. Pettitt, Xanthan, gellan, welan, and rhamsan, in: R.L. Whistler, J.N. BeMiller (Eds.), *Ind. Gums Polysaccharides Their Deriv.*, Academic Press, 1993: pp. 341–397. doi:10.1016/B978-0-08-092654-4.50017-6.
- [42] D. Gómez-Díaz, J.M. Navaza, L.C. Quintáns-Riveiro, Intrinsic viscosity and flow behaviour of Arabic gum aqueous solutions, *Int. J. Food Prop.* 11 (2008) 773–780. doi:10.1080/10942910701596918.
- [43] Y. Wu, W. Cui, N.A.M. Eskin, H.D. Goff, An investigation of four commercial galactomannans on their emulsion and rheological properties, *Food Res. Int.* 42 (2009) 1141–1146. doi:10.1016/j.foodres.2009.05.015.
- [44] Y. Viturawong, P. Achayuthakan, M. Suphantharika, Gelatinization and rheological properties of rice starch/xanthan mixtures: effects of molecular weight of xanthan and different salts, *Food Chem.* 111 (2008) 106–114. doi:10.1016/j.foodchem.2008.03.041.
- [45] M.C. Conceição, L.A. Junqueira, K.C.G. Silva, M.E.T. Prado, J.V. de Resende, Thermal and microstructural stability of a powdered gum derived from *Pereskia aculeata* Miller leaves, *Food Hydrocoll.* 40 (2014) 104–114. doi:10.1016/j.foodhyd.2014.02.015.
- [46] T. Kaewmanee, L. Bagnasco, S. Benjakul, S. Lanteri, C.F. Morelli, G. Speranza, M.E. Cosulich, Characterisation of mucilages extracted from seven Italian cultivars of flax, *Food Chem.* 148 (2014) 60–69. doi:10.1016/j.foodchem.2013.10.022.
- [47] F.M. León-Martínez, J. Rodríguez-Ramírez, L.L. Medina-Torres, L.L. Méndez Lagunas, M.J. Bernad-Bernad, Effects of drying conditions on the rheological properties of reconstituted mucilage solutions (*Opuntia ficus-indica*), *Carbohydr.*

- Polym. 84 (2011) 439–445. doi:10.1016/j.carbpol.2010.12.004.
- [48] A. Haddarah, A. Bassal, A. Ismail, C. Gaiani, I. Ioannou, C. Charbonnel, T. Hamieh, M. Ghoul, The structural characteristics and rheological properties of Lebanese locust bean gum, J. Food Eng. 120 (2014) 204–214. doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.07.026.
- [49] T.R. Laaman, Hydrocolloids: fifteen practical tips, in: T.R. Laaman (Ed.), Hydrocoll. Food Process., First edit, Blackwell Publishing, 2011: pp. 1–17.
- [50] J.-L. Doublier, G. Cuvelier, Gum and hydrocolloids: functional aspects, in: A.-C. Eliasson (Ed.), Carbohydrates Food, 2nd edn, CRC Press, Boca Raton, FL, 2006: pp. 233–272.
- [51] A. Koocheki, A.R. Taherian, A. Bostan, Studies on the steady shear flow behavior and functional properties of *Lepidium perfoliatum* seed gum, Food Res. Int. 50 (2013) 446–456. doi:10.1016/j.foodres.2011.05.002.
- [52] E. Alpizar-Reyes, H. Carrillo-Navas, R. Gallardo-Rivera, V. Varela-Guerrero, J. Alvarez-Ramirez, C. Pérez-Alonso, Functional properties and physicochemical characteristics of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed mucilage powder as a novel hydrocolloid, J. Food Eng. 209 (2017) 68–75. doi:10.1016/j.jfoodeng.2017.04.021.
- [53] W. Zeng, L. Lai, Characterization of the mucilage isolated from the edible fronds of bird's nest fern (*Asplenium australasicum*), Food Hydrocoll. 40 (2014) 163–172. doi:10.1016/j.foodhyd.2014.02.008.
- [54] S. Razmkhah, s. M.A. Razavi, M.A. Mohammadifar, M.T. Ale, H.A. Gavighi, Protein-free cress seed (*Lepidium sativum*) gum: physicochemical characterization and rheological properties, Carbohydr. Polym. 153 (2016) 14–24. doi:10.1016/j.carbpol.2016.07.086.
- [55] E. Dickinson, Hydrocolloids acting as emulsifying agents - How do they do it?, 78 (2018) 2–14. doi:10.1016/j.foodhyd.2017.01.025.
- [56] W. Zeng, L. Lai, Characterization of the mucilage extracted from the edible fronds of bird's nest fern (*Asplenium australasicum*) with enzymatic modifications, Food Hydrocoll. 53 (2016) 84–92. doi:10.1016/j.foodhyd.2015.03.026.
- [57] X. Huang, Y. Kakuda, W. Cui, Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity, Food Hydrocoll. 15 (2001) 533–542.
- [58] K.D. Martinez, R.I. Baeza, F. Millán, A.M.R. Pilosof, Effect of limited hydrolysis of sunflower protein on the interactions with polysaccharides in foams, Food Hydrocoll. 19 (2005) 361–369. doi:10.1016/j.foodhyd.2004.10.002.
- [59] Y.R. Xie, N.S. Hettiarachchy, Effect of xanthan gum on enhancing the foaming properties of soy protein isolate, J. Am. Oil Chem. Soc. 75 (1998) 729–732. doi:10.1007/s11746-998-0214-5.
- [60] E.A. Makri, G.I. Doxastakis, Surface tension of *Phaseolus vulgaris* and *coccineus*

- proteins and effect of polysaccharides on their foaming properties, Food Chem. 101 (2007) 37–48. doi:10.1016/j.foodchem.2005.12.051.
- [61] M. Marcotte, A.R. Taherian, H.S. Ramaswamy, Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature, Food Res. Int. 34 (2001) 695–703. doi:10.1016/S0963-9969(01)00091-6.
- [62] M. Marcotte, A.R. Taherian, M. Trigui, H.S. Ramaswamy, Evaluation of rheological properties of selected salt enriched food hydrocolloids, J. Food Eng. 48 (2001) 157–167. doi:10.1016/S0260-8774(00)00153-9.
- [63] H. Karazhiyan, S.M.A. Razavi, G.O. Phillips, Y. Fang, S. Al-Assaf, K. Nishinari, R. Farhoosh, Rheological properties of *Lepidium sativum* seed extract as a function of concentration, temperature and time, Food Hydrocoll. 23 (2009) 2062–2068. doi:10.1016/j.foodhyd.2009.03.019.

ARTIGO 2: Mucilage and cladode flour from cactus (*Opuntia monacantha*) as alternative ingredients in gluten-free crackers

Artigo formatado segundo as normas da revista *Food Chemistry*

Melina Dick^a, Christian Limberger^a, Roberta Cruz Silveira Thys^b, Alessandro de Oliveira Rios^a, Simone Hickmann Flôres^{a,*}

^a Bioactive Compounds Laboratory, Institute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, P.O. Box 15059, ZC 91501-970, Porto Alegre, RS, Brazil

^b Baking Laboratory, Institute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, P.O. Box 15059, ZC 91501-970, Porto Alegre, RS, Brazil

*Corresponding author. Tel.: +5551 3308-9789; fax: +5551 3308-7048. E-mail address: simone.flores@ufrgs.br

Abstract

Cactus cladode offers innovative ingredients such as cactus mucilage (CM) and cladode flour (CF) for producing gluten-free snacks. Five different cracker formulations were made: C-C (control cracker prepared with commercial gums), C-CM (cracker containing CM instead of commercial gums), C-CF5, C-CF10, and C-CF15 (crackers incorporated of 5%, 10% and 15% CF, respectively). CF characterization is also presented, demonstrating its great technological potentiality. Proximate composition of C-CM was quite similar to the control (except its superior ash), while the CF-incorporated crackers exhibited increased content of ashes and fiber. In general, crackers' physical properties were not impacted by CM or CF addition, except for the darker color of CF-supplemented crackers. The C-CM and CF-incorporated crackers showed higher total phenolics and antioxidant activity. Additionally, the latter samples were enhanced with carotenoids. Sensory evaluation revealed that C-CM and C-CF5 were those most accepted. Therefore, CM and CF are interesting alternatives for gluten-free cracker elaboration.

Keywords: Hydrocolloid, Texture, Total phenolic content, Carotenoids, Antioxidant activity, Sensory evaluation.

Highlights

Techno-functional characterization of cladode flour (CF) was demonstrated.

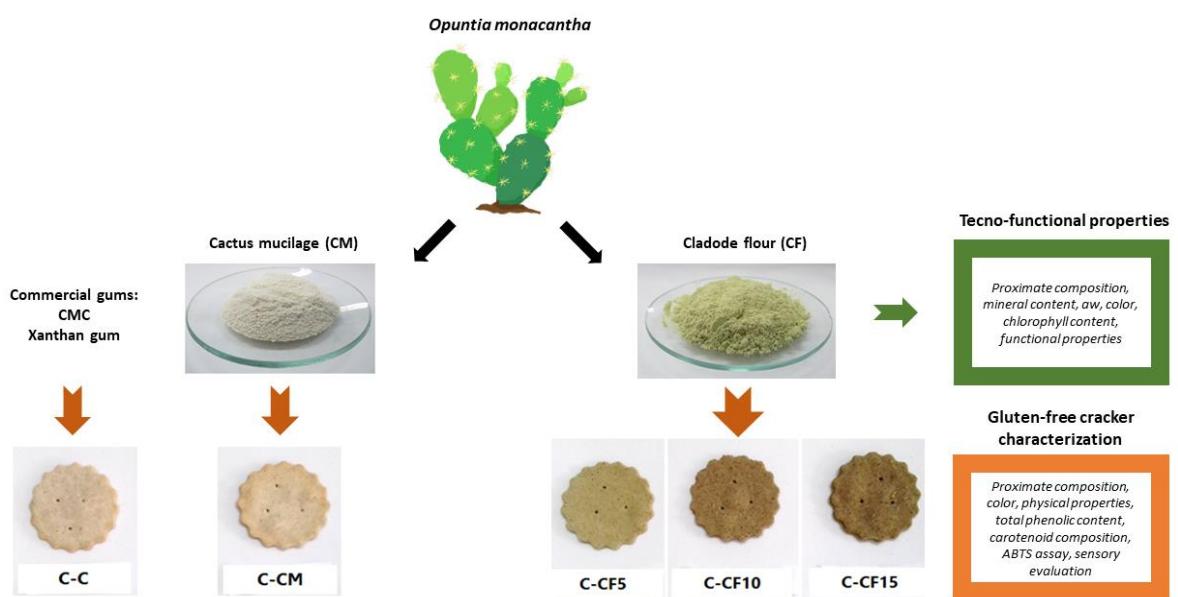
CF and cactus mucilage (CM) were used to develop gluten-free crackers.

CM affected the ashes, total phenolics and antioxidant activity of final cracker.

CF impacted the content of nutrients, phenolics, and carotenoids of end cracker.

The highest acceptance scores were obtained by C-CM and C-CF5.

Graphical abstract



1 Introduction

The consumption and demand for gluten-free products have risen all over the world owing to an increased prevalence of gluten-related disorders like celiac disease. Celiac disease is a serious autoimmune disorder that can occur in genetically predisposed people where the ingestion of gluten leads to damage in the small intestine (Rosell, Barro, Sousa, & Mena, 2014). Currently, the only treatment for celiac disease is lifelong adherence to a strict gluten-free diet.

Crackers, a dry baked food typically made with flour, represent one of the most important segments of the baking industry and could serve as a proper vehicle to meet the consumer demand for a gluten-free snack that is nutritious, convenient and tasty (Millar et al., 2017). Nevertheless, production of gluten-free crackers may encounter technical difficulties because the gluten absence provokes a lack of suitable flow-mechanical properties for the processing of flour doughs. As such, hydrocolloids (e.g. carboxymethyl cellulose, xanthan and guar gum) are usually added on doughs to simulate the viscoelastic properties of gluten and improve the structure, mouthfeel, acceptability, and shelf-life of gluten-free products (Han, Janz, & Gerlat, 2010; Mir, Shah, Naik, & Zargar, 2016).

The *Opuntia* species are considered plants with enormous productive potential and rich sources of dietary fiber (soluble and insoluble fractions) and minerals (Stintzing & Carle, 2005). As a result, the cladodes can constitute a resource of extractable polysaccharides (mucilage) that could be used to modify the texture of food products, with promising perspectives as a food additive/ingredient due to its hydrocolloid features (Dick, Dal Magro, Rodrigues, Rios, & Flôres, 2019).

On the other hand, it is also feasible to use the cladode in its more integral form, taking advantage of the other components present in its matrix, beyond its high content of mucilage. This is the case of the bioactive compounds generally observed by researchers in the cactus cladodes such as polyphenols (principally flavonoids and phenolic acids) and carotenoids with relevant antioxidant activity (Jaramillo-Flores et al., 2003; Mena et al., 2018; Msaddak et al., 2017; Stintzing & Carle, 2005; Valente et al., 2010). Scientific evidence shows the importance of the bioactive compounds in the diet because they may prevent and/or combat several diseases associated with oxidative stress like cardiovascular diseases, cancers, diabetes as well as neurodegenerative diseases, providing advantageous effects on consumers' health apart from the food nutritive function (Yang et al., 2018).

In this sense, the cladodes dehydrated and processed into a powder could be a

convenient form to be included in bakery goods and may increase the concentration of beneficial compounds in the final product. Some studies have been carried out to investigate the use of cladode flour as partial substitute of wheat flour on baked goods (e.g. cookies, bread, and cake) with a wheat flour replacement range from 2.5 to 20 % by the cladode flour (Ayadi, Abdelmaksoud, Ennouri, & Attia, 2009; Msaddak et al., 2017; Msaddak et al., 2015). The main goal of these studies was to improve the nutritional value (fiber and minerals) and the health-promoting properties (antioxidant compounds) of the end product through the addition of cladode flour. Even if interesting results have been obtained there is no available published data on the utilization of cactus ingredients in gluten-free formulated products.

Meanwhile, Brazil is considered the third geographic center of diversity of cacti in the world (Carneiro, Farias-Singer, Ramos, & Nilson, 2016), however, the use of its native cactus plants have hardly been deemed for food purposes, probably attributed to the lack of information available. This is the case of *Opuntia monacantha*, popularly known as *arumbeva* (Kinupp, 2007). The plant demonstrates ample geographical distribution and occurs naturally in a number of Brazilian states, preferentially in the Atlantic coastal area, as well as in the countries of Argentina, Paraguay, and Uruguay. It has been introduced and naturalized in Australia, China, Cuba, the Himalayas, India and South Africa (Valente et al., 2010).

Due to the aforementioned characteristics of cacti cladodes, we glimpse that the mucilage and the cladode flour obtained from *O. monacantha* can be important ingredients in gluten-free baked products. Therefore, firstly this study assessed the physicochemical and techno-functional properties of the cladode flour. Afterward were developed and evaluated the effects of cactus mucilage (CM) and cladode flour (CF) as alternative ingredients to substitute the commercial gums in gluten-free crackers on its proximate composition, physical characteristics, bioactive compounds, antioxidant activity, and sensory acceptance.

2 Materials and methods

2.1 Materials

Cladodes (stems) from *Opuntia monacantha* (Willd.) Haw. were collected in the region of Águas Claras, Viamão city, Rio Grande do Sul state, Brazil ($30^{\circ}09'26.67''S$ and $50^{\circ}52'33.01''W$). Two harvests were carried out in August 2015 for the production of cladode flour (CF) and cactus mucilage (CM) powder. A voucher specimen, registration number 191981, was deposited in the ICN (Institute of Natural Sciences Herbarium of the Federal

University of Rio Grande do Sul). Other baking ingredients included: sour cassava starch (Fritz & Frida®, Ivoti, Brazil), rice flour (Fazenda®, Turvo, Brazil), wholegrain buckwheat flour (Ekosul Produtos Naturais, Estância Velha, Brazil), sunflower oil (Salada®, Gaspar, Brazil), salt (Cisne®, Cabo Frio, Brazil), sugar (União®, Tarumã, Brazil), dry yeast (Fleischmann®, Pederneiras, Brazil), baking powder (Itapan®, Tapiratiba, Brazil), sodium bicarbonate (Fã®, Uberlândia, Brazil), monoglycerides of fatty acids (Creamline MHS 90 M) and α -amylase enzyme (Spring Alfa 140.000) (Granolab do Brasil S/A, Curitiba, Brazil), CMC (sodium carboxymethyl cellulose) gum (Mix®, São Bernardo do Campo, Brazil), xanthan gum (Hexus Food Ingredients, Portão, Brazil), and water. Additional chemicals and reagents used in this study were of analytical grade.

2.2 Extraction procedure of cactus mucilage

The mucilage extraction was performed as previously described by Dick et al. (2019). Briefly, it consisted of crushing the whole cladodes for the obtention of a pulp, homogenization with water (1: 2, w/v, pulp: water) and heating (80 °C, 30 min). Hereafter, the obtained slurry was centrifuged (10,000 g, 20 min, 20 °C) (Hitachi, CR 21GIII, Japan) and then precipitated overnight with 95 % ethanol (1: 3, v/v, supernatant: ethanol). Subsequently, the mucilage was recovered by vacuum filtration and dried in a convection oven (45 °C, 16 h) (DeLeo, B4AFD, Brazil). The sample was converted into fine particles with the aid of a mortar and pestle and sieved through a 60-mesh screen to obtain the cactus mucilage (CM) powder (Fig. 1A). The CM powder comprised of (based on dry weight): 9.65 % moisture, 80.12 % total carbohydrates (58.8 % total dietary fiber), 15.14 % ash, 3.55 % protein, and 1.19 % lipid (Dick et al., 2019).

2.3 Preparation of cladode flour

To produce the cladode flour (CF), the spines were removed with a knife, and the cladodes (with parenchyma and chlorenchyma tissue) were washed with water, cut into small thin strips and dried in a convection oven (DeLeo, B4AFD, Brazil) at 60 °C for approximately 20 h. The dried sample was ground in a laboratory knife mill (Solab, SL-31, Brazil), sieved through a 60-mesh screen (granulometry \leq 250 μm) to obtain a fine powder, so the product had similar characteristics to a flour. The resulting cladode flour (Fig. 1B) was packed in vacuum-sealed plastic bags until further use.

2.4 Characterization of cladode flour

2.4.1 Proximate composition

The proximate analysis of CF was carried out according to the methods of the AOAC (1990): 934.06 for moisture content; 960.52 for protein content ($N \times 6.25$); 960.39 for lipid content; 923.03 for ash content; and 985.29 for dietary fiber by the enzymatic-gravimetric method. Total carbohydrate content was determined by the difference, from the contents of the other components. Results were calculated on a dry weight (DW) basis.

2.4.2 Mineral contents

Simultaneous determination of P, K, Ca, Mg, S, Na, Cu, Zn, Fe, Mn and B in the CF was estimated using an inductively coupled plasma – optical emission spectrometer (ICP-OES) (Perkin Elmer, Optima 8300, USA), according to the methodology described by Tedesco & Gianello (2004). Details regarding this analysis are compiled in Table S1 of Supplementary data. Results were expressed on a dry weight (DW) basis.

2.4.3 Water activity and color parameters

Water activity (a_w) of CF was measured at 25 °C using a portable water activity instrument (Rotronic, HygroPalm AW1, Switzerland). The color of CF was determined using a CIELab colorimeter (Konica Minolta, CR-400, Japan). Color was expressed as L^* (lightness), a^* (+ red; - green), and b^* (+ yellow; - blue) values.

2.4.4 Chlorophyll content

Approximately 0.1 g of CF was weighted in a tube, and 10 mL of 80 % acetone was added. The tube was shaken vigorously for 1 min in a vortex, reposed for 10 min, and then was centrifuged (Hitachi, CR 21GIII, Japan) at 25,000 g (15 min, 10 °C). The supernatant was collected, and the absorbance was measured using a spectrophotometer (Shimadzu, UV-1800, Japan) where chlorophyll *a* was determined at 663 nm and chlorophyll *b* at 647 nm (Lichtenthaler, 1987). The results were expressed as the mass of chlorophyll based on sample dry weight (mg/100 g DW).

2.4.5 Functional properties

The bulk density of the CF was measured by transferring the sample to a 25 mL graduated cylinder, previously tarred. The bottom of the cylinder was gently tapped on a

rubber mat (approx. 10 times) until there was no further diminution of the sample level after filling to the 10 mL mark. The weight was then recorded and bulk density was calculated as the weight of sample per unit volume of sample (g/mL) (Ayadi et al., 2009).

For swelling determination, CF (100 mg) was hydrated with 10 mL of distilled water in a calibrated cylinder (1.5 cm diameter) at room temperature. After equilibration (18 h), the bed volume was recorded and expressed as volume per gram original sample dry weight (mL/g DW) (Robertson et al., 2000).

The water holding capacity (WHC) and oil holding capacity (OHC) of CF were performed according to López-Cervantes, Sánchez-Machado, Campas-Baypoli, & Bueno-Solano (2011) with minor modifications. To determine the WHC, 1 g of CF was placed in a pre-weighed centrifuge tube to which 30 mL of distilled water was added. The suspension was homogenized in a vortex for 1 min and left at room temperature for 24 h. Afterward, the sample was centrifuged (Hitachi, CR 21GIII, Japan) at 25,000 g (30 min, 20 °C); supernatant (non-absorbed water) was carefully discarded, being the tube kept inverted for 1 min. The residue was weighted and WHC was reported as g of water bound per g of sample on dry weight (g water/g DW). The OHC was determined under similar conditions as those of WHC, except that sunflower oil substituted distilled water, and reported as g of oil bound per g of sample on dry weight (g oil/g DW).

2.5 Preparation of gluten-free crackers

After preliminary trials, a basic cracker recipe was obtained and consisted of a flour blend based on sour cassava starch, rice flour, and wholegrain buckwheat flour. Five types of gluten-free crackers were prepared, as indicated in Table 1. The control cracker (C-C) included the commercial gums CMC and xanthan, each one at 1 %. The cracker containing cactus mucilage (C-CM) included CM at 2 %, instead of the commercial gums (CMC and xanthan). The crackers containing cladode flour were free from commercial gums (CMC and xanthan) and were incorporated of three different levels of CF: 5 % (C-CF5), 10 % (C-CF10) and 15 % (C-CF15).

All dry ingredients, except sugar and yeast, were mixed in a bowl, whilst the liquid ingredients (oil and a portion of water) and sugar were mixed separately to form an emulsion. Meanwhile, the dry yeast was prehydrated with a portion of warm water (35° C). The emulsion and the activated yeast were incorporated into the dry ingredients and mixed

manually. The remaining water was added to make a homogenous dough. The total amount of water required to form a cohesive dough varied depending upon the formulation (Table 1).

Thereafter, the dough was sequentially sheeted using a sheeting roll (Arke[®], LEV-30, Brazil). The thickness of the dough was gradually reduced by passing it through a 5 mm and a 2.5 mm roller gap, respectively. Then the roller gap was adjusted to 1 mm and the dough was laminated by passing it seven times through the sheeting rolls. In each pass was poured into the dough a mixture of oil and flour blend (just in half sheet) (Table 1), the sheet was folded in half and rotated 90°. The mixture used for the lamination consisted of oil plus flour blend in a ratio of 1: 4 w/w (oil: flour blend); for those formulations containing cladode flour (C-CF5, C-CF10 and C-CF15) were incorporated in the mixture 5 %, 10 % and 15 % of CF, respectively, based on flour blend.

Table 1. Formulations for the production of gluten-free crackers containing ingredients from cactus (mucilage and cladode flour).

Ingredients	C-C (g/100 g)	C-CM (g/100 g)	C-CF5 (g/100 g)	C-CF10 (g/100 g)	C-CF15 (g/100 g)
Flour blend	100	100	100	100	100
Sour cassava starch	60	60	60	60	60
Rice flour	30	30	30	30	30
Wholegrain buckwheat flour	10	10	10	10	10
Sunflower oil	15	15	15	15	15
Salt	4	4	4	4	4
Sugar	2	2	2	2	2
Dry yeast	2	2	2	2	2
Monoglycerides of fatty acids	1	1	1	1	1
Baking powder	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
Sodium bicarbonate	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
α-amylase enzyme	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
CMC gum	1	-	-	-	-
Xanthan gum	1	-	-	-	-
Cactus mucilage (CM)	-	2	-	-	-
Cladode flour (CF)	-	-	5	10	15
Water	55	50	57	57	57
Flour blend ^a plus oil used for layering	12	12	12	12	12

C-C: control cracker; C-CM: cracker containing cactus mucilage hydrocolloid; C-CF5: cracker incorporated of 5 % cladode flour; C-CF10: cracker incorporated of 10 % cladode flour; C-CF15: cracker incorporated of 15 % cladode flour.

^a Sour cassava starch (60 %), rice flour (30 %), wholegrain buckwheat flour (10 %). For C-CF5, C-CF10 and C-CF15 formulations were added 5 %, 10 % and 15 % of cladode flour, respectively, based on flour blend.

The resulting multilayered sheet was molded with a circular dough cutter (45 mm diameter), and each piece of disk was perforated with a metal pin (3 holes evenly distributed in the triangular form), and thereby arranged in baking sheet and placed in a proofing chamber (Venâncio Ltda, Crescepão AC20T, Brazil) for fermentation (32 °C, 80 % relative air humidity) during 3 h. Afterward, the fermented crackers disks were baked at 170 °C in a forced-air convection oven (Tedesco, turbo FTT-150E, Brazil) for 4-5 min, preheated to 190 °C. Baked samples were then removed from the oven, allowed to cool to room temperature, and packed in polyethylene bags until quality measurements.

Two batches per cracker formulation were produced. For the analyses of proximate composition and bioactive compounds, some portion of the different cracker formulations were reserved and crushed into a powder for further evaluations.

2.6 Characterization of gluten-free crackers

2.6.1 Proximate composition

The proximate analysis of the samples was conducted as described in Section 2.4.1, according to AOAC (1990) methods.

2.6.2 Color

The color of the samples was determined using a colorimeter (Konica Minolta, CR-400, Japan) as referred in Section 2.4.3.

2.6.3 Physical properties

After crackers preparation, weight, volume, diameter, and thickness of ten cracker pieces were averaged for each formulation. The samples were weighed in a semi-analytical balance, and the volume measured using the rapeseed displacement method (10-05.01) (AACC, 2001). The specific volume was calculated from the relationship of volume/weight, and results were expressed as cm³/g. The diameter was measured by laying ten crackers edge-to-edge with the help of a scale; the same set of crackers was rotated 90° and the diameter was remeasured (average of three measurements) and reported in millimeter. The thickness was measured by stacking ten crackers one on top of another and taking the average of these ten pieces; the same set of crackers was turned 90° and the thickness was remeasured (average of three measurements) and reported in millimeter.

The hardness of baked crackers was assessed between 24 and 48 h after their production using a Texture Analyzer (Stable Micro Systems, TA.XT2i, UK) equipped with a three-point bending rig (HDP/3PB); the two adjustable supports of the base plate were set 25 mm apart, and the sample was placed on top; the upper blade moved downwards at a speed of 3 mm/s, measuring the maximum force required to break the sample. Ten determinations were made for each formulation and results were expressed as Newton (N).

2.7 Bioactive compounds and antioxidant capacity

2.7.1 Total phenolic content

The total phenolic content was determined by the spectrophotometric method of Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965). A gram of CF or cracker powder were homogenized (1 min) in a high-speed homogenizer (IKA, Ultra-Turrax T25, Germany) with 10 mL or 5 mL of 80 % methanol, respectively; kept 1 h in contact with the solvent, and then centrifuged (3000 g, 15 min, 10 °C) (Sigma, 4K15, England). A 20 µL aliquot of the supernatant was added to 1.58 mL of water and 100 µL of 1 N Folin-Ciocalteu. After reacting for 3 min, 300 µL of 1 N Na₂CO₃ was added and the mixtures were incubated for 2 h at room temperature in a dark environment. Hereafter, the absorbance was read at 765 nm in an UV-vis spectrophotometer (Shimadzu, UV-1800, Japan). A standard curve was constructed to quantify the total phenolic content, using gallic acid at concentrations of 0 to 0.850 mg/mL, and the results were expressed as mg gallic acid equivalent (GAE)/g of sample on dry weight.

2.7.2 Carotenoid profile

The carotenoid composition of the CF and the CF-incorporated crackers (C-CF5, C-CF10, C-CF15) were determined by high-performance liquid chromatography (HPLC). The carotenoid extract was prepared according to the method described by Mercandante, Britton, and Rodriguez-Amaya (1998). Briefly, this involved an exhaustive extraction with acetone, transfer to ethyl ether/petroleum ether, overnight saponification with 10 % KOH in methanol, washing, and concentration prior to HPLC.

The HPLC system used was an Agilent 1100 Series (Santa Clara, USA) equipped with an online degasser, a quaternary solvent pump, an automatic injector, and a UV-Vis detector. The carotenoid separation was performed according to Zanatta and Mercadante (2007). A C₃₀ reversed phase polymeric column (250 × 4.6 mm; 3 µm particle size) (YMC, Japan) was used. The mobile phase was water, methanol and methyl *tert*-butyl ether (MTBE) starting at 5:90:5

(v/v/v), reaching 0:95:5 (v/v/v) in 12 min, 0:89:11 (v/v/v) in 25 min, 0:75:25 (v/v/v) in 40 min, and finally 0:50:50 (v/v/v) after a total of 60 min, at a flow rate of 1 mL/min and an injection volume of 5 µL at 33 °C. Chromatograms were processed at 450 nm and the spectra were obtained between 250 and 600 nm. Compounds were identified by comparing the sample retention times with the retention times obtained for the standards under the same conditions. For quantification of carotenoids, standard curves of lutein (1 – 65 µg/mL), β-carotene (5 – 50 µg/mL), zeaxanthin (1 – 40 µg/mL), α-carotene (2 – 25 µg/mL), and cryptoxanthin (4 – 100 µg/mL) were used. The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) for the carotenoids were, respectively: 6.9×10^{-3} and 1.15×10^{-2} µg/g for lutein, 6.53×10^{-2} and 10.89×10^{-2} µg/g for β-carotene, 9.56×10^{-2} and 1.59×10^{-2} µg/g for zeaxanthin, 1.97×10^{-2} and 3.28×10^{-2} µg/g for α-carotene, and 2.11×10^{-2} and 3.51×10^{-2} µg/g for cryptoxanthin.

2.7.3 ABTS assay

Antioxidant capacity was performed by the determination of 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) radical scavenging activity (Re et al., 1999). The extracts were obtained in the same way as in the total phenolic content analysis (Section 2.7.1), except by the extract concentration utilized: 0.1 g of CF and 0.5 g of cracker powder mixed with 12 and 10 mL of 80 % methanol, respectively. The ABTS radical cation was produced by reacting 7 mM ABTS stock solution with 140 mM potassium persulfate and allowing the mixture to stand in the dark for 16 h at room temperature before use. For the assay, the ABTS•⁺ solution was diluted with ethanol to an absorbance of 0.70 ± 0.02 at 734 nm. An aliquot of 100 µL of each extract was mixed with 1 mL ABTS•⁺ solution and an absorbance (734 nm) reading in an UV-vis spectrophotometer (Shimadzu, UV-1800, Japan) was taken after 6 min. Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) was used as standard (0 – 16 µM) and results were expressed as µmol trolox equivalent (TE)/g of sample on dry weight.

2.8 Sensory evaluation of gluten-free crackers

The sensory evaluation of the cracker samples was conducted using an acceptance test. Each analysis was performed by an untrained panel of 50 people, with ages between 18 and 59. The samples were provided on white dishes coded with a three-digit random number. The acceptance attributes such as appearance, color, odor, crunchiness, taste, aftertaste, and

overall acceptability were evaluated by the panel using a hedonic scale of 9 points (ranging from 1, dislike extremely to 9, like extremely). This study was approved by the Ethics Committee of the University (Protocol n° 2.139.343). To calculate the percentage of acceptance of each attribute, the following equation was used (Meilgaard, Civille, & Carr, 2007):

$$\text{Acceptance (\%)} = \frac{\text{Average acceptance}}{9} \times 100$$

2.9 Statistical analysis

All the experiments were conducted at least in triplicate and results were expressed as a mean \pm standard deviation. Statistica 12.0 (Statsoft Inc., Tulsa, USA) software was used to analyze the data. The means were compared by Tukey's test at a 5 % level of significance using analysis of variance (ANOVA).

3 Results and discussion

3.1 Cladode flour characterization

The proximate composition of the CF from *O. monacantha* is given in Table 2. Obtained results showed it contains high levels of fiber (insoluble and soluble fractions) and ashes, and a minor proportion of moisture, protein, and lipids. Valente et al. (2010) evaluated the cladodes from the same species of this study and reported similar values of protein (5.4 % DW) and lipid content (1.4 % DW), and slightly lower ash content (15 % DW). In general, the nutritional profile described in the literature for the *Opuntia* ssp. cladodes are in the range of 40–60 % for TDF, 19–23 % for ash, 4–10 % for protein, and 1–4 % for lipids (Guevara-Arauza et al., 2015; Stintzing & Carle, 2005), which agrees with this investigation. Table 2 reveals that potassium (K) was the most abundant mineral in *O. monacantha* CF, followed by calcium (Ca), and magnesium (Mg), which concur with the results determined by other authors for *Opuntia* genus (Ayadi et al., 2009; Ramírez-Moreno, Marqués, Sánchez-Mata, & Goñi, 2011). Among microelements, could be highlighted the substantial amounts of manganese (Mn) and zinc (Zn).

The results from the nutritional composition of *O. monacantha* CF demonstrate that

this ingredient can be used to produce value-added food products, based on its high content of fiber (insoluble and soluble fraction) and important minerals; for example, its addition could improve the nutritional quality of gluten-free products that are frequently made from refined flour and/or starch.

Table 2. Characterization of cladode flour from *O. monacantha*.

Parameter	Result
<i>Component (g/100 g DW)^a</i>	
Moisture	5.13 ± 0.13
Protein	5.12 ± 0.19
Lipid	1.72 ± 0.08
Ash	18.29 ± 0.11
Total Dietary Fiber (TDF)	45.36 ± 1.74
Insoluble Dietary Fiber (IDF)	32.86 ± 0.38
Soluble Dietary Fiber (SDF)	12.50
Total Carbohydrate	74.87
<i>Macrominerals (g/100 g DW)^a</i>	
Phosphorus (P)	0.19 ± 0.01
Potassium (K)	4.55 ± 0.49
Calcium (Ca)	2.75 ± 0.21
Magnesium (Mg)	1.05 ± 0.08
Sulfur (S)	0.16 ± 0.02
Sodium (Na)	0.50 ± 0.02
<i>Microminerals (mg/100 g DW)^a</i>	
Copper (Cu)	0.75 ± 0.21
Zinc (Zn)	17.85 ± 0.35
Iron (Fe)	2.6 ± 0.57
Manganese (Mn)	250 ± 28.28
Boron (B)	2.2 ± 0.28
<i>Chlorophyll content (mg/100 g DW)^a</i>	
Chlorophyll <i>a</i>	67.82 ± 0.39
Chlorophyll <i>b</i>	27.13 ± 0.98
Total chlorophyll	94.96 ± 0.59
<i>Color and a_w</i>	
<i>L</i> *	68.83 ± 1.67
<i>a</i> *	-6.43 ± 0.57
<i>b</i> *	23.74 ± 0.25
Water activity (a _w)	0.37 ± 0.00
<i>Functional properties</i>	
Bulk density (g/mL)	0.77 ± 0.01
Swelling (mL/g)	17.49 ± 0.88
Water holding capacity (g water/g DW)	7.03 ± 0.19
Oil holding capacity (g oil/g DW)	1.26 ± 0.04

Results are mean ± standard deviation.

^a All measurements are on dry weight (DW) basis, except the moisture.

Regarding the chlorophyll content in CF (Table 2), the chlorophyll *a* content represented more than the double of the chlorophyll *b* content, which is in accordance with the findings of Ayadi et al. (2009) and Maki-Díaz et al. (2015) for *Opuntia ficus-indica* (*Ofi*) fresh cladodes. Evenmore, Ayadi et al. (2009) reported for the spiny cladodes slightly higher values of chlorophyll content than that obtained herein (131.08 mg/100 g DW of total chlorophyll, 73.63 mg/100 g DW of chlorophyll *a*, and 35.34 mg/100 g DW of chlorophyll *b*).

Aside from their physiological role, fiber-rich ingredients can be used for economic and technological purposes (Guillon & Champ, 2000). Table 2 also summarizes some technological properties of CF (a_w , color, bulk density, swelling, WHC, and OHC).

The water activity (a_w) is a key parameter concerning the conservation of food products. At a_w values below 0.5, no microbial proliferation occurs, so this indicates the relatively high stability of this flour. A similar result was observed by Boukid et al. (2015) for a powder obtained from *Ofi* cladodes and dried at 60 °C ($a_w = 0.36$).

The color parameters of CF showed a high lightness (L^*) and a pale green aspect (Table 2; Fig. 1B). Ayadi et al. (2009) reported comparable values for *Ofi* cladode flour. Those authors and also Boukid et al. (2015) suggested that CF could be used as a natural dye in bakery products, thus avoiding the addition of other synthetic green coloring agents.

With respect to the bulk density (Table 2), it can be observed that the found value is similar to the data earlier determined by Ayadi et al. (2009). The swelling measures the hydration capacity of a powder, being influenced by its content of polysaccharides. The CF exhibited a swelling value of 17.49 mL/g, which was higher than other vegetable fibers such as apple (7.42 mL/g) and citrus (10.45 mL/g) previously reported (Robertson et al., 2000).

The interest in the use of fiber-rich ingredients has raised mainly due to their texturizing effects in formulated foods. They can be used as functional ingredients to modify the viscosity, avoid syneresis, decrease calories and as a replacement for fat, being utilized in a variety of food categories, such as baked goods, beverages, confectionery, dairy, frozen dairies, meat, pasta, and soups (Elleuch et al., 2011; Guillon & Champ, 2000; Thebaudin, Lefebvre, Harrington, & Bourgeois, 1997).

The *O. monacantha* CF presented a water holding capacity (WHC) of 7.03 g water/g DW (Table 2). Studies on cladode flour prepared from *Ofi* are found in the literature. The WHC obtained in our study is similar to the finding of Msaddak et al. (2015) (7.95 g water/g DW), within the values of López-Cervantes et al. (2011) (6.48 – 14.44 g water/g DW), and higher than that reported by Ayadi et al. (2009) (3.15 – 6.85 g water/g DW). This variation in WHC values described by different authors for *Opuntia* plants can be attributed to the species

and age of cladodes, the degree of milling of the flours and the drying conditions (López-Cervantes et al., 2011). Its noteworthy that the WHC value obtained in this research was higher than those reported for maize flour (1.42 g/g), rice flour (1.29 g/g), maize starch (1.34 g/g), wheat starch (0.63 g/g), and potato starch (0.17 g/g) (Martínez & Gómez, 2017).

Alongside their hydration properties, fibers possess the capacity to hold oil. The oil holding capacity (OHC) of fiber is an important functional property because oil plays a significant role in increasing the mouthfeel of foods, and also in the prevention of fat and flavor loss during cooking (Thebaudin et al., 1997). Analysis revealed that the OHC of CF was 1.26 g oil/g DW (Table 2), which coincides with the data reported by Ayadi et al. (2009) (between 1.29 and 1.31 g oil/g DW) and by Msaddak et al. (2015) (1.77 g oil/g DW), both for *Ophi* cladode flour.

3.2 Proximate composition of gluten-free crackers

The proximate composition of the different gluten-free crackers is shown in Table 3. It can be seen that the addition of varying amounts of CF to the recipe significantly ($p < 0.05$) lowered the moisture content of the resulting cracker, likely due to the insoluble fiber portion found in the CF. No significant ($p > 0.05$) differences were observed in both protein and lipid content among all evaluated samples.

The ash content ranged from 4.27 % (C-C) to 5.48 % (C-CF15), being increasingly higher ($p < 0.05$) in the crackers with a superior proportion of CF, which is explained by the elevated percentage of ash present in the cladodes (18.29 %), as already mentioned. Msaddak et al. (2015) noticed that the inclusion of cladode powder to cookies increased the amounts of potassium, magnesium, calcium, iron, and zinc. Regarding the C-CM sample, even though the mucilage hydrocolloid was used at a small quantity (2 %) its presence imparted greater ash content than the control (C-C), presumably owing to the mucilage's high ash level (15.14 %).

The total dietary fiber content of C-CM and C-CF5 samples did not show significant ($p > 0.05$) differences in comparison with the control, whereas the C-CF10 and C-CF15 samples inferred significantly ($p < 0.05$) higher values. These results demonstrate the crackers' fiber enrichment from 10 % CF-incorporation level, which is important because the consumption of fibers has been associated with positive physiological effects on human health.

Table 3. Proximate composition and physical characteristics of gluten-free crackers.

Parameter	Formulation				
	C-C	C-CM	C-CF5	C-CF10	C-CF15
Component (g/100 g DW)^A					
Moisture	7.39 ± 0.05 ^a	6.86 ± 0.14 ^b	5.75 ± 0.14 ^c	5.82 ± 0.06 ^c	5.43 ± 0.06 ^d
Protein	3.61 ± 0.02 ^a	3.98 ± 0.14 ^a	3.82 ± 0.02 ^a	3.94 ± 0.16 ^a	3.83 ± 0.14 ^a
Lipid	11.51 ± 0.41 ^b	12.14 ± 0.29 ^{ab}	12.62 ± 0.57 ^{ab}	13.26 ± 0.49 ^a	12.78 ± 0.34 ^a
Ash	4.27 ± 0.04 ^d	4.98 ± 0.05 ^b	4.75 ± 0.03 ^c	5.04 ± 0.05 ^b	5.48 ± 0.03 ^a
Total Dietary Fiber (TDF)	3.48 ± 0.28 ^c	3.20 ± 0.25 ^c	3.66 ± 0.58 ^c	5.09 ± 0.01 ^b	6.58 ± 0.12 ^a
Insoluble Dietary Fiber (IDF)	1.87 ± 0.20 ^d	2.06 ± 0.22 ^{cd}	3.13 ± 0.29 ^{bc}	3.37 ± 0.18 ^{ab}	4.55 ± 0.51 ^a
Soluble Dietary Fiber (IDF) ^B	1.61	1.14	0.53	1.72	2.02
Total Carbohydrate ^C	77.13	75.70	75.15	72.66	71.34
Physical characteristics					
Weight (g)	2.77 ± 0.13 ^{ab}	2.86 ± 0.10 ^a	2.58 ± 0.09 ^c	2.63 ± 0.16 ^{bc}	2.73 ± 0.15 ^{abc}
Diameter (mm)	40.00 ± 0.62 ^a	40.01 ± 0.21 ^a	40.08 ± 0.38 ^a	40.06 ± 0.32 ^a	40.07 ± 0.19 ^a
Thickness (mm)	3.53 ± 0.03 ^a	3.41 ± 0.09 ^a	2.67 ± 0.03 ^b	2.80 ± 0.05 ^b	3.47 ± 0.03 ^a
Specific volume (cm ³ /g)	1.88 ± 0.31 ^a	1.90 ± 0.08 ^a	2.07 ± 0.34 ^a	2.01 ± 0.29 ^a	2.14 ± 0.08 ^a
Hardness (N)	17.27 ± 3.77 ^a	16.51 ± 1.47 ^a	14.50 ± 1.42 ^a	16.36 ± 1.78 ^a	17.71 ± 4.11 ^a
Color					
<i>L</i> *	71.00 ± 1.10 ^a	70.06 ± 1.09 ^a	60.04 ± 1.48 ^b	52.89 ± 1.58 ^c	47.76 ± 1.56 ^d
<i>a</i> *	3.00 ± 0.08 ^a	3.01 ± 0.05 ^a	0.96 ± 0.14 ^b	0.70 ± 0.06 ^c	0.14 ± 0.03 ^d
<i>b</i> *	18.26 ± 0.16 ^c	18.17 ± 0.89 ^c	21.49 ± 0.22 ^b	22.71 ± 0.14 ^a	23.62 ± 0.18 ^a

C-C: control cracker; C-CM: cracker containing cactus mucilage hydrocolloid; C-CF5: cracker incorporated of 5 % cladode flour; C-CF10: cracker incorporated of 10 % cladode flour; C-CF15: cracker incorporated of 15 % cladode flour. Results are mean ± standard deviation. Different letters in the same row indicate significant differences ($p < 0.05$) by Tukey's test.

^A All values are on dry weight (DW) basis, except the moisture.

^B Calculated by the equation: SDF = TDF - IDF.

^C Calculated by the equation: total carbohydrate = 100 - (protein (DW) + lipid (DW) + ash (DW) + TDF (DW)).

3.3 Physical characteristics of gluten-free crackers

Some physical aspects of gluten-free crackers are summarized in Table 3. All tested formulations did not exhibit significant ($p > 0.05$) differences in terms of weight, diameter, specific volume, and hardness. Consequently, these physical parameters of crackers were not affected by the replacement of the commercial gums (CMC and xanthan) with cactus mucilage (C-CM), neither by the inclusion of cladode flour at different levels (C-CF5, C-CF10, and C-CF15).

In relation to the thickness, the samples C-CF5 and C-CF10 presented significantly lower values than the C-C. This result might be due to the various amounts of CF used in the CF-incorporated crackers, that imparted different balances of insoluble/soluble fiber fractions in each formulation, and possibly, resulted in different interactions among ingredients in the blend.

Table 3 also presents the effects of CM and CF addition in the color of the samples and Fig. 1C depicts their appearance. The color parameters (L^* , a^* , and b^*) of the cracker containing CM (C-CM) did not vary significantly ($p > 0.05$) from the control (C-C), which confirms they were quite similar in terms of color. In contrast, the CF incorporation into the crackers' formulation influenced their color significantly ($p < 0.05$). The L^* value decreased, indicating that the color of the end product progressively became darker (browner) by the rise of CF fraction. Besides, a^* (red-green profile) value diminished and b^* (yellow-blue profile) value augmented, highlighting the minor intensity of red color and the higher intensity of yellow color for respective crackers gradually enhanced with CF.

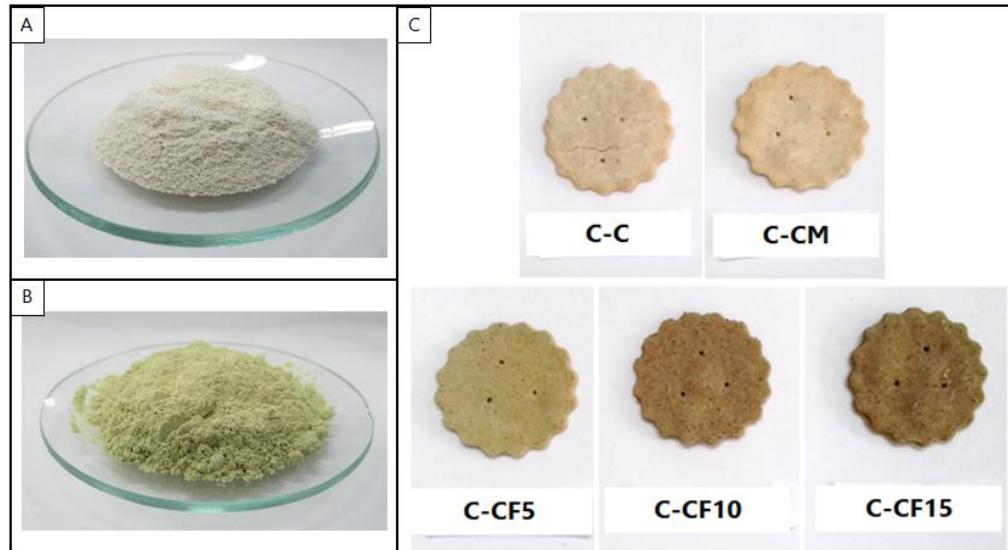


Fig. 1. Appearance of the ingredients obtained from *Opuntia monacantha* cactus: cactus mucilage (CM) powder (A) and cladode flour (CF) (B). (C) shows the appearance of the prepared gluten-free crackers incorporated of these ingredients. C-C: control cracker; C-CM: cracker containing cactus mucilage hydrocolloid; C-CF5: cracker incorporated of 5 % cladode flour; C-CF10: cracker incorporated of 10 % cladode flour; C-CF15: cracker incorporated of 15 % cladode flour.

3.4 Bioactive compounds and antioxidant capacity

The total phenolic content (TPC) of CF and the various experimental crackers are presented in Table 4. As shown, the CF-incorporated crackers showed a progressive and significant ($p < 0.05$) increase in the TPC by the increment of CF. Similar findings have also been reported by Msaddak et al. (2017) when wheat bread was supplemented with CF (wheat flour substitution from 2.5 to 10 % by CF). The presence of polyphenolic compounds already documented for the cactus cladodes, mainly flavonoids and phenolic acids (Mena et al., 2018;

Msaddak et al., 2017; Stintzing & Carle, 2005; Valente et al., 2010) certainly contributed to the superior values of TPC in the CF-formulated crackers than in the control.

Interestingly, the cracker containing cactus mucilage (C-CM) also exhibited higher TPC compared to the control sample, almost two-fold higher. It is believed that the mucilage extraction from the cladodes still leaves phenolic compounds associated with the mucilage, which probably does not occur in the process for obtainment the commercial gums used in the control cracker.

Table 4. Total phenolic content, carotenoid composition, and antioxidant activity (ABTS) of cladode flour and gluten-free crackers.

Sample	Total phenolic compounds (mg GAE/g DW) ^A	Carotenoids (µg/g DW)					ABTS (µmol TE/g DW) ^C
		Lutein	β-carotene	Zeaxanthin	α-carotene	Total carotenoids ^B	
Cladode flour	5.54 ± 0.07 ^a	48.79 ± 4.57 ^a	27.86 ± 0.09 ^a	11.69 ± 0.39 ^a	7.52 ± 0.23 ^a	95.86 ± 5.28 ^a	66.53 ± 5.54 ^a
C-C	0.26 ± 0.02 ^f	-	-	-	-	-	2.12 ± 0.08 ^f
C-CM	0.45 ± 0.03 ^e	-	-	-	-	-	2.53 ± 0.08 ^e
C-CF5	0.67 ± 0.02 ^d	0.70 ± 0.00 ^d	0.87 ± 0.05 ^d	0.21 ± 0.00 ^d	0.18 ± 0.01 ^d	1.96 ± 0.06 ^d	5.30 ± 0.17 ^d
C-CF10	0.80 ± 0.02 ^c	1.22 ± 0.06 ^c	1.38 ± 0.07 ^c	0.34 ± 0.01 ^c	0.27 ± 0.01 ^c	3.21 ± 0.14 ^c	9.98 ± 0.30 ^c
C-CF15	1.01 ± 0.04 ^b	1.61 ± 0.21 ^b	1.79 ± 0.04 ^b	0.49 ± 0.04 ^b	0.39 ± 0.01 ^b	4.28 ± 0.29 ^b	15.73 ± 0.73 ^b

C-C: control cracker; C-CM: cracker containing cactus mucilage hydrocolloid; C-CF5: cracker incorporated of 5 % cladode flour; C-CF10: cracker incorporated of 10 % cladode flour; C-CF15: cracker incorporated of 15 % cladode flour.

Results are mean ± standard deviation. Different letters in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$) by Tukey's test.

-, Not determined.

^AGAE: gallic acid equivalent.

^BTotal carotenoids: sum of lutein, β-carotene, zeaxanthin, and α-carotene content.

^CTE: trolox equivalent.

Table 4 gives the carotenoid composition of CF and CF-incorporated crackers. The consumption of carotenoid pigments has been proposed to confer health benefits such as reduce the risk of developing degenerative chronic diseases attributed to their role as antioxidants (Burns, Fraser, & Bramley, 2003; Updike & Schwartz, 2003), so these natural pigments have received particular attention. Four individual carotenoids were identified in CF: lutein, β-carotene, zeaxanthin, and α-carotene. The total carotenoid content in CF was determined to be 95.86 µg/g DW, corresponding to 51 % of lutein, 29 % of β-carotene, 12 % of zeaxanthin, and 8 % of α-carotene. Jaramillo-Flores et al. (2003) and González-Cruz, Filardo-Kerstupp, Bello-Pérez, Güemes-Vera, and Bernardino-Nicanor (2012) also reported the presence of lutein and β-carotene as the major carotenoid constituents of *Ofi* cladodes. In contrast to our work, both studies documented the presence of α-cryptoxanthin but did not mention the presence of zeaxanthin and α-carotene.

As examples, some important sources of dietary lutein are spinach (881 µg/g DW), kale (515 µg/g DW), broccoli (84 µg/g DW) and pea (41 µg/g DW) (Updike & Schwartz,

2003); good sources of β -carotene are carrot (320 $\mu\text{g/g}$ DW), sweet potato (381 $\mu\text{g/g}$ DW) and mango (50 $\mu\text{g/g}$ DW) (Burns et al., 2003); whereas good levels of zeaxanthin can be found in corn (24 $\mu\text{g/g}$ DW) (Updike & Schwartz, 2003). On the other hand, carotenoid content in some cereal grains are reported to be found in low amounts, such as in bread wheat (0.1 – 2.5 $\mu\text{g/g}$ DW), durum wheat (1.5 – 4.8 $\mu\text{g/g}$ DW), and einkorn (5.3 – 13.6 $\mu\text{g/g}$ DW) (Hidalgo, Brandolini, & Pompei, 2010).

Regarding the gluten-free crackers, it is expected some carotenoid losses during their processing mostly due to the exposure to high temperatures of baking (Hidalgo et al., 2010). The proportion of the individual carotenoids in the prepared crackers changed comparing to the CF, being the β -carotene the predominant pigment ($\approx 43\%$), followed by lutein ($\approx 38\%$). The other two carotenoids (zeaxanthin and α -carotene) remained in a similar proportion as in the CF. It is cited that lutein is more susceptible to oxidation, i.e., small temperature changes are required to reduce this compound rapidly (Rodriguez-Amaya, 2001).

The antioxidant activity of the CF and the elaborated crackers were determined by using the *in vitro* ABTS assay (Table 4). Analysis of the antioxidant capacity revealed a similar trend to that found in the Folin-Ciocalteu assay. All tested samples showed significantly ($p < 0.05$) higher values than the control, ranging from 2.53 $\mu\text{mol TE/g DW}$ (C-CM) to 15.73 $\mu\text{mol TE/g DW}$ (C-CF15). The superior amount of antioxidant activity in the C-CM might result from the presence of phenolic compounds in the cactus mucilage, while in the CF-incorporated crackers may derive from the presence of bioactive antioxidant compounds (phenolic compounds and carotenoids) in the CF. In this respect, Msaddak et al. (2015) suggested that the CF inclusion in cookies enhanced their antioxidant potential as well as their stabilization against oxidative damage during storage.

3.5 Sensory evaluation

The five different formulations of gluten-free crackers were evaluated for their sensory attributes with an acceptability test (Table 5). The sensory analysis indicated no statistical ($p > 0.05$) differences for appearance, color, and odor attributes of all tested crackers. Indeed, with the appearance and color attributes for all samples, ranging from 5 – 7 (neither like nor dislike to like moderately) of the 9-point hedonic scale, indicates that even for the CF-incorporated crackers which were darker in color, specially C-CF10 and C-CF15, these attributes are not likely to be a hindrance to product acceptability. A different result was found by Msaddak et al. (2017) for the cladode flour addition at various levels of substitution

(2.5 – 10 %) to wheat bread, suggesting that more than 7.5 % of CF supplementation was manifested with rejection by panelists, assigned to the green color increment.

Table 5. Sensory evaluation (acceptance test) of gluten-free crackers.

Formulation	Attribute ^A						Overall acceptability
	Appearance	Color	Odor	Crunchiness	Taste	Aftertaste	
C-C	6.26 ± 1.17 ^{ab}	5.90 ± 1.43 ^b	6.32 ± 1.30 ^a	5.50 ± 1.95 ^b	6.46 ± 1.39 ^{bc}	6.18 ± 1.52 ^{ab}	6.16 ± 1.31 ^b
C-CM	6.38 ± 1.32 ^{ab}	6.08 ± 1.50 ^{ab}	6.62 ± 1.16 ^a	6.60 ± 1.50 ^a	7.16 ± 1.36 ^{ab}	6.66 ± 1.45 ^{ab}	7.02 ± 1.06 ^a
C-CF5	6.96 ± 1.48 ^a	6.80 ± 1.49 ^a	6.33 ± 1.45 ^a	7.15 ± 1.37 ^a	7.35 ± 1.42 ^a	6.72 ± 1.77 ^a	7.38 ± 1.11 ^a
C-CF10	6.22 ± 1.66 ^{ab}	6.11 ± 1.59 ^{ab}	6.28 ± 1.60 ^a	6.41 ± 1.44 ^a	6.07 ± 1.58 ^c	5.74 ± 1.61 ^{bc}	6.27 ± 1.37 ^b
C-CF15	5.93 ± 1.55 ^b	5.74 ± 1.77 ^b	5.93 ± 1.64 ^a	6.48 ± 1.47 ^a	5.67 ± 1.83 ^c	4.98 ± 2.11 ^c	5.73 ± 1.70 ^b

C-C: control cracker; C-CM: cracker containing cactus mucilage hydrocolloid; C-CF5: cracker incorporated of 5 % cladode flour; C-CF10: cracker incorporated of 10 % cladode flour; C-CF15: cracker incorporated of 15 % cladode flour.

Results are mean ± standard deviation.

Different letters in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$) by Tukey's test.

^A Scored on 9-point hedonic scales where 9 = like extremely, 8 = like very much, 7 = like moderately, 6 = like slightly, 5 = neither like nor dislike, 4 = dislike slightly, 3 = dislike moderately, 2 = dislike very much, and 1 = dislike extremely.

Interestingly, it is possible to observe that all samples containing cactus ingredients provided significantly ($p < 0.05$) higher crunchiness scores than the control, demonstrating that their utilization affected positively this attribute. In their work, Guevara-Arauza et al. (2015) reported that the addition of a soluble fiber fraction (mucilage) from nopal cactus on wheat bread rolls resulted in a better distribution of starch granules into the dough compared to the control bread. This may give us an insight on why the use of cactus ingredients in crackers, namely CM – mainly composed of soluble fiber – and CF – mainly composed of insoluble and soluble fibers – reflected in superior crunchiness scores.

Concerning the taste, it can be inferred that the samples C-CM and C-CF5 were the most accepted. The addition of CF from 10 % promoted a decrease in the taste acceptability and also compromised the acceptance of aftertaste, being the C-CF15 sample regarded as “unacceptable”. These attributes (taste and aftertaste) might have influenced the lower overall acceptability of the samples C-CF10 and C-CF15 in comparison with the C-CF5 sample. In this respect, Sepúlveda, Gorena, Chiffelle, Sáenz, and Catalán (2013) stated that taste and aroma of foods formulated with cladode flour can be adversely impacted by its inclusion, due to its herbaceous flavor. The sensory characteristics could mostly be affected if the powder derives from the cladodes with the epidermis (peel) where there are the major amounts of chlorophylls; nevertheless, the flour prepared from the whole cladode (with peel) demonstrated higher content of soluble fiber and bioactive compounds.

The overall acceptability rating reflected the scores obtained in the other attributes and indicated that the cracker containing cactus mucilage (C-CM) and the one supplemented with

5 % cladode flour (C-CF5) were those that had greater overall acceptability, reaching an acceptance rate of 78 % and 82 %, respectively, which were superior to the control cracker.

4 Conclusions

This study demonstrates the feasibility of utilizing the mucilage and the cladode flour from *O. monacantha* as alternatives in front of the commercial gums in the manufacturing of gluten-free crackers.

The cracker containing cactus mucilage exhibited similar characteristics to the control counterpart (prepared with commercial hydrocolloids) with an additional improvement of the total phenolic content, antioxidant activity, as well as the sensory acceptability score. On the other hand, the cladode flour features in a single matrix the mucilage (important to aid cohesiveness to the gluten-free dough) and other bioactive constituents. In general, its inclusion at different levels augmented both nutritional and functional values of the resulting cracker (higher content of fiber, ashes, total phenolics, carotenoids, and antioxidant activity). Moreover, the sensory analysis showed that 5 % of CF incorporation reached a high acceptance rate (more than 80 %).

In summary, the ingredients obtained from cactus cladodes fulfilled the technological requirements for the elaboration of gluten-free snacks and can also be considered potential functional food ingredients.

Acknowledgments

All authors are grateful to the Brazilian agencies, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS, Brazil) (Project number 17/2551-0000945-2) for their financial support provided for this research. We also would like to thank professor Plinio Hertz for kindly supplying the raw material (*O. monacantha* cladodes) for this study.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found in the online version.

Table S1. Methodology used for quantification of minerals in plant tissues.

Determinations	Applied methodology/ Limit of detection
Phosphorus (g/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 0.01 %
Potassium (g/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 0.01 %
Calcium (g/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 0.01 %
Magnesium (g/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 0.01 %
Sulfur (g/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 0.01 %
Sodium (g/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 10 mg/kg
Copper (mg/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 0.3 mg/kg
Zinc (mg/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 1 mg/kg
Iron (mg/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 2 mg/kg
Manganese (mg/100 g)	Wet digestion nitric percloric/ ICP-OES/ 2 mg/kg
Boron (mg/100 g)	Dry digestion/ espec. abs. mol./ 1 mg/kg

References

- AACC. (2001). *Approved Methods of Analysis* (11th ed.). St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists.
- AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis* (15th ed.). Washington, D.C: Association of Official Analytical Chemists.
- Ayadi, M. A., Abdelmaksoud, W., Ennouri, M., & Attia, H. (2009). Cladodes from *Opuntia ficus indica* as a source of dietary fiber: effect on dough characteristics and cake making. *Industrial Crops and Products*, 30(1), 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.01.003>
- Boukid, F., Boukid, Z., & Mejri, M. (2015). Opuntia cladodes: physicochemical parameters, functional properties and application in formulation of rolled cake of cladode flour fabric (Part 2). *International Journal of Advanced Trends in Computer Science and Engineering*, 1(4), 30–34.
- Burns, J., Fraser, P. D., & Bramley, P. M. (2003). Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables. *Phytochemistry*, 62(6), 939–947. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00710-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00710-0)
- Carneiro, A. M., Farias-Singer, R., Ramos, R. A., & Nilson, A. D. (2016). *Cactos do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre: Fundação Zoobotânica, do Rio Grande do Sul.

- Dick, M., Dal Magro, L., Rodrigues, R. C., Rios, A. de O., & Flôres, S. H. (2019). Valorization of *Opuntia monacantha* (Willd.) Haw. cladodes to obtain a mucilage with hydrocolloid features: Physicochemical and functional performance. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123, 900–909. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.126>
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., & Attia, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: characterisation, technological functionality and commercial applications: a review. *Food Chemistry*, 124(2), 411–421. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.077>
- González-Cruz, L., Filardo-Kerstupp, S., Bello-Pérez, L. A., Güemes-Vera, N., & Bernardino-Nicanor, A. (2012). Carotenoid content, antioxidant activity and sensory evaluation of low-calorie nopal (*Opuntia ficus-indica*) marmalade. *Journal of Food Processing and Preservation*, 36(3), 267–275. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2011.00589.x>
- Guevara-Arauza, J. C., Bárcenas, D. G., Ortega-Rivas, E., Martínez, J. D. P., Hernández, J. R., & de Jesús Ornelas-Paz, J. (2015). Effect of fiber fractions of prickly pear cactus (nopal) on quality and sensory properties of wheat bread rolls. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 2990–2997. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1341-7>
- Guillon, F., & Champ, M. (2000). Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. *Food Research International*, 33(3–4), 233–245. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00038-7](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00038-7)
- Han, J. (Jay), Janz, J. A. M., & Gerlat, M. (2010). Development of gluten-free cracker snacks using pulse flours and fractions. *Food Research International*, 43(2), 627–633. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.015>
- Hidalgo, A., Brandolini, A., & Pompei, C. (2010). Carotenoids evolution during pasta, bread and water biscuit preparation from wheat flours. *Food Chemistry*, 121(3), 746–751. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.034>
- Jaramillo-Flores, M. E., González-Cruz, L., Cornejo-Mazón, M., Dorantes-álvarez, L., Gutiérrez-López, G. F., & Hernández-Sánchez, H. (2003). Effect of thermal treatment on the antioxidant activity and content of carotenoids and phenolic compounds of cactus pear cladodes (*Opuntia ficus-indica*). *Food Science and Technology International*, 9(4), 271–278. <https://doi.org/10.1177/1082013036093>
- Kinupp, V. F. (2007). *Plantas alimentícias não-convencionais da região metropolitana de Porto Alegre, RS*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Retrieved from <http://hdl.handle.net/10183/12870>
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350–382.
- López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D. I., Campas-Baypoli, O. N., & Bueno-Solano, C. (2011). Functional properties and proximate composition of cactus pear cladodes flours. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 31(3), 654–659. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000300016>

- Maki-Díaz, G., Peña-Valdivia, C. B., García-Nava, R., Arévalo-Galarza, M. L., Calderón-Zavala, G., & Anaya-Rosales, S. (2015). Physical and chemical characteristics of cactus stems (*Opuntia ficus-indica*) for exportation and domestic markets. *Agrociencia*, 49, 31–51.
- Martínez, M. M., & Gómez, M. (2017). Rheological and microstructural evolution of the most common gluten-free flours and starches during bread fermentation and baking, 197, 78–86. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.11.008>
- Meilgaard, M., Civille, G. V., & Carr, B. T. (2007). *Sensory Evaluation Techniques* (4th ed.). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Mena, P., Tassotti, M., Andreu, L., Nuncio-Jáuregui, N., Legua, P., Del Rio, D., & Hernández, F. (2018). Phytochemical characterization of different prickly pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.) cultivars and botanical parts: UHPLC-ESI-MSn metabolomics profiles and their chemometric analysis. *Food Research International*, 108(January), 301–308. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.062>
- Mercandante, A. Z., Britton, G., & Rodriguez-Amaya, D. B. (1998). Carotenoids from Yellow Passion Fruit (*Passiflora edulis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4102–4106. <https://doi.org/10.1021/jf9801724>
- Millar, K. A., Barry-Ryan, C., Burke, R., Hussey, K., McCarthy, S., & Gallagher, E. (2017). Effect of pulse flours on the physiochemical characteristics and sensory acceptance of baked crackers. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 1155–1163. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13388>
- Mir, S. A., Shah, M. A., Naik, H. R., & Zargar, I. A. (2016). Influence of hydrocolloids on dough handling and technological properties of gluten-free breads. *Trends in Food Science and Technology*, 51, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.005>
- Msaddak, L., Abdelhedi, O., Kridene, A., Rateb, M., Belbahri, L., Ammar, E., ... Zouari, N. (2017). *Opuntia ficus-indica* cladodes as a functional ingredient: bioactive compounds profile and their effect on antioxidant quality of bread. *Lipids in Health and Disease*, 16(32), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12944-016-0397-y>
- Msaddak, L., Siala, R., Fakhfakh, N., Ayadi, M. A., Nasri, M., & Zouari, N. (2015). Cladodes from prickly pear as a functional ingredient: effect on fat retention, oxidative stability, nutritional and sensory properties of cookies. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66(8), 851–857. <https://doi.org/10.3109/09637486.2015.1095862>
- Ramírez-Moreno, E., Marqués, C. D., Sánchez-Mata, M. C., & Goñi, I. (2011). In vitro calcium bioaccessibility in raw and cooked cladodes of prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica* L. Miller). *LWT - Food Science and Technology*, 44(7), 1611–1615. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.01.001>
- Re, R., Pellegrini, N., Anna, P., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, 26(98), 1231–1237.

- Robertson, J. A., de Monredon, F. D., Dysseler, P., Guillou, F., Amado, R., & Thibault, J.-F. (2000). Hydration properties of dietary fibre and resistant starch: a European collaborative study. *LWT - Food Science and Technology*, 33(2), 72–79. <https://doi.org/10.1006/fstl.1999.0595>
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). *A guide to carotenoid analysis in foods*. Washington, D.C: International Life Sciences Institute Press.
- Rosell, C. M., Barro, F., Sousa, C., & Mena, M. C. (2014). Cereals for developing gluten-free products and analytical tools for gluten detection. *Journal of Cereal Science*, 59(3), 354–364. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.10.001>
- Sepúlveda, E., Gorena, T., Chiffelle, I., Sáenz, C., & Catalán, E. (2013). Effect of the cactus cladodes peeling in the functional, technological and chemical characteristics and bioactive compounds in cactus cladodes powders. *Acta Horticulturae*, 995, 269–272. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.995.32>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <https://doi.org/10.12691/ijebb-2-1-5>
- Stintzing, F. C., & Carle, R. (2005). Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition and Food Research*, 49(2), 175–194. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200400071>
- Tedesco, M. J., & Gianello, C. (2004). Metodologia de análises de solo, plantas, adubos orgânicos e resíduos. In C. A. Bissani, C. Gianello, F. A. de O. Camargo, & M. J. Tedesco (Eds.), *Fertilidade dos solos e manejo da adubação de culturas* (pp. 61–66). Porto Alegre: Gênesis.
- Thebaudin, J. Y., Lefebvre, A. C., Harrington, M., & Bourgeois, C. M. (1997). Dietary fibres: Nutritional and technological interest. *Trends in Food Science and Technology*, 8(2), 41–48. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(97\)01007-8](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(97)01007-8)
- Updike, A. A., & Schwartz, S. J. (2003). Thermal processing of vegetables increases cis isomers of lutein and zeaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(21), 6184–6190. <https://doi.org/10.1021/jf030350f>
- Valente, L. M. M., da Paixão, D., do Nascimento, A. C., dos Santos, P. F. P., Scheinvar, L. A., Moura, M. R. L., ... da Silva, J. F. M. (2010). Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae). *Food Chemistry*, 123(4), 1127–1131. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.074>
- Yang, C. S., Ho, C. T., Zhang, J., Wan, X., Zhang, K., & Lim, J. (2018). Antioxidants: differing meanings in Food Science and Health Science. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(12), 3063–3068. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05830>
- Zanatta, C. F., & Mercadante, A. Z. (2007). Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*). *Food Chemistry*, 101(4), 1526–1532. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.004>

CAPÍTULO 4: CONSIDERAÇÕES FINAIS

4 DISCUSSÃO GERAL

Este trabalho teve como objetivo obter dois distintos produtos de uma espécie de cacto nativa brasileira (*Opuntia monacantha*): a mucilagem e a farinha do cladódio, e avaliar a aplicabilidade desses ingredientes em biscoito tipo cracker sem glúten. A caracterização desses dois ingredientes, assim como os resultados das suas aplicações em biscoitos, foi apresentada em dois artigos científicos.

No primeiro estudo “Valorization of *Opuntia monacantha* (Willd.) Haw. cladodes to obtain a mucilage with hydrocolloid features: Physicochemical and functional performance” foi obtido um hidrocoloide natural, a mucilagem, a qual foi caracterizada quanto a sua composição química e potenciais propriedades funcionais para aplicação em alimentos.

A metodologia de extração da mucilagem contida nos cladódios desta planta envolveu a utilização de água e etanol (agente precipitante), os quais são disponíveis a baixo custo. A definição da proporção de cladódio/água, temperatura e proporção de sobrenadante/etanol empregados no processo de extração foram definidos após extensa revisão bibliográfica em conjunto com testes preliminares. Deste modo, pôde-se obter um produto com rendimento satisfatório (1,2 % considerando os cladódios frescos, ou 12 % considerando os cladódios secos) quando comparado com os valores médios reportados na literatura para a extração de mucilagem de outras cactáceas.

Na Tabela 1 é possível visualizar os valores de composição centesimal da mucilagem (artigo 1) em comparação com a farinha do cladódio (artigo 2).

Tabela 1 – Composição centesimal da mucilagem e da farinha do cladódio.

	Mucilagem ¹	Farinha do cladódio ²
Umidade	9,65%	5,13%
Proteína	3,55%	5,12%
Lipídeos	1,19%	1,72%
Cinzas	15,14%	18,29%
Fibras dietéticas totais	58,80%	45,36%
Fibras dietéticas insolúveis	3,47%	32,86%
Fibras dietéticas solúveis	55,33%	12,50%
Carboidratos totais	80,12%	74,87%

¹ Valores apresentados no artigo 1.

² Valores apresentados no artigo 2.

Os monossacarídeos constituintes da mucilagem também foram determinados, e verificou-se predominantemente a presença de galactose, ácido glicurônico e arabinose. A

mucilagem em pó mostrou-se visualmente apresentável, com cor clara, semelhante à cor de hidrocoloides comerciais. As medidas viscosimétricas indicaram uma alta massa molar ($1,12 \times 10^6$ g/mol) e viscosidade intrínseca intermediária (9.02 dL/g) em comparação com outros hidrocoloides. A mucilagem reconstituída em água, apresentou elevada solubilidade (acima de 85%) nas diferentes temperaturas testadas. A capacidade emulsificante foi maior com o aumento da proporção de mucilagem na emulsão. A mucilagem também apresentou capacidade espumante, a qual foi maior utilizando-se maior percentual de mucilagem em solução. É importante ressaltar que esta é uma característica interessante, visto que muitas gomas polissacarídicas não possuem tal capacidade (ex. goma guar, goma xantana, goma alfarroba). Em relação à viscosidade, a mucilagem apresentou menor poder espessante quando comparada com as gomas xantana e guar, por exemplo, para obter-se um poder espessante similar, é necessário 10% de mucilagem em solução, em contrapartida a apenas 1% de goma xantana.

Portanto, os resultados contidos neste primeiro artigo apontam que a planta *Opuntia monacantha* pode ser uma matriz para a obtenção de um hidrocoloide com diversas funcionalidades que podem ser exploradas pela indústria de alimentos, tais como: emulsificante, espumante, espessante, bem como estabilizante. Essas propriedades, ainda precisam ser estudadas em variadas aplicações alimentares. Como passo inicial, seria interessante avaliar o comportamento dessa mucilagem em diferentes sistemas-modelo, como por exemplo, na presença de sais, açúcares, diferentes pHs e temperaturas, com o intuito de simular o comportamento deste hidrocoloide em alimentos processados.

No segundo estudo “Mucilage and cladode flour from cactus (*Opuntia monacantha*) as alternative ingredients in gluten-free crackers” avaliou-se primeiramente as características tecnológicas-funcionais da farinha do cladódio, e após os efeitos da utilização da mucilagem e da farinha de cladódio em biscoitos tipo cracker sem glúten.

Para obtenção da farinha do cladódio utiliza-se menos etapas de processamento quando comparada com a mucilagem, e também, utiliza-se o cladódio de forma mais integral, desta maneira, além de conter mucilagem (predominantemente fibra solúvel), a farinha do cladódio possui alguns compostos bioativos (compostos fenólicos e carotenoides) incorporados à sua matriz.

Os resultados da composição química da farinha do cladódio avaliados nesta pesquisa, demonstram uma oportunidade para o desenvolvimento de produtos fortificados utilizando-se essa matéria-prima, baseado em seu alto teor de fibra (frações insolúvel e solúvel) e minerais (potássio, cálcio, magnésio, zinco e manganês). Além disso, este ingrediente pode ser

utilizado em diferentes produtos alimentícios, da mesma forma que outros ingredientes ricos em fibras, para diminuição do conteúdo calórico, redução da sinérese, redução do conteúdo de gordura, e modificação da viscosidade e da textura. Contudo, deve-se levar em consideração o sabor característico herbáceo/amargo que a adição desta farinha pode trazer ao alimento, o que pode acarretar na redução da aceitação do produto. Por isso, são necessários testes prévios para estabelecer os limites máximos e mínimos de incorporação dessa farinha.

Em relação a aplicação da mucilagem e da farinha do cladódio em biscoitos tipo cracker sem glúten, ambos foram efetivos e auxiliaram na obtenção de uma massa coesa no lugar das gomas comerciais (xantana e CMC) utilizadas no biscoito controle. O uso da mucilagem elevou os níveis de cinzas do biscoito final (devido ao seu elevado conteúdo desse componente, Tabela 1), aumentou o conteúdo de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (pelo método ABTS), e revelou maior aceitação na avaliação sensorial do que o biscoito controle. Já a farinha do cladódio em diferentes percentuais de incorporação, elevou os conteúdos de cinzas e fibras, impactou na cor dos biscoitos, aumentou o conteúdo de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, e adicionou carotenoides ao biscoito. Contudo, a incorporação de maior quantidade de farinha de cladódio (principalmente no nível de 15 %) teve impacto negativo no sabor residual, o que reduziu a aceitação global dos biscoitos. Desta forma, a mucilagem e a farinha do cladódio apresentam potencial tecnológico para aplicação em produtos sem glúten. Entretanto, o impacto da adição de cada ingrediente na formulação resulta em distintas características, as quais devem ser avaliadas.

Por fim, é importante considerar que a investigação das características desses ingredientes alimentícios obtidos do cacto *O. monacantha*, como a mucilagem e a farinha do cladódio, estabelece a base do conhecimento para prospectar possíveis usos desse vegetal, o que pode ter um reflexo positivo também, na preservação ambiental da espécie.

5 CONCLUSÃO GERAL

Os cactos nativos brasileiros, podem ser mais valorizados para a obtenção de ingredientes alimentares, tais como a mucilagem e a farinha do cladódio.

Os resultados apresentados para a caracterização da mucilagem extraída dos cladódios da *O. monocantha* mostraram o potencial desta cactácea para a obtenção de um hidrocoloide que pode ser utilizado em diversos ramos indústrias frente às gomas comerciais comumente empregadas pela indústria.

A farinha, obtida dos cladódios desidratados e triturados, pode ser incorporada em formulações alimentícias para modificar a viscosidade/textura dos produtos. Esta farinha, além de apresentar elevado conteúdo de fibra dietética e minerais, carrega em sua matriz compostos bioativos (compostos fenólicos e carotenoides) que contribuem para sua atividade antioxidante.

A mucilagem e a farinha de cladódio foram ingredientes eficazes na elaboração de biscoitos tipo cracker sem glúten e auxiliaram na formação de uma massa viscoelástica coesa, do mesmo modo que as gomas comerciais utilizadas no biscoito controle. Esses ingredientes obtidos do cacto impactaram de maneira diferente nas características finais dos biscoitos.