

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ALINE MACEDO DANTAS

AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS
FENÓLICOS DE POLPAS DE FRUTAS NATIVAS E EXÓTICAS
ORIUNDAS DOS DISTINTOS BIOMAS BRASILEIROS

JOÃO PESSOA – PB

2018

ALINE MACEDO DANTAS

AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS
FENÓLICOS DE POLPAS DE FRUTAS NATIVAS E EXÓTICAS
ORIUNDAS DOS DISTINTOS BIOMAS BRASILEIROS

JOÃO PESSOA – PB

2018

ALINE MACEDO DANTAS

AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS
FENÓLICOS DE POLPAS DE FRUTAS NATIVAS E EXÓTICAS
ORIUNDAS DOS DISTINTOS BIOMAS BRASILEIROS

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos
do Centro de Tecnologia da
Universidade Federal da Paraíba,
em cumprimento dos requisitos
para obtenção do título de Mestre
em Ciência e Tecnologia de
Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Graciele da Silva Campelo Borges

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Marciane Magnani

JOÃO PESSOA – PB

2018

D192a Dantas, Aline Macedo.

Avaliação da bioacessibilidade de compostos fenólicos de polpas de frutas nativas e exóticas oriundas dos distintos biomas brasileiros / Aline Macedo Dantas. - João Pessoa, 2018.

76 f. : il.

Coorientação: Marciane Magnani.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT.

1. análise de componentes principais. 2. atividade antioxidante. 3. diálise. 4. digestão in vitro. I. Magnani, Marciane. II. Título.

UFPB/BC

ALINE MACEDO DANTAS

AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE
POLPAS DE FRUTAS NATIVAS E EXÓTICAS ORIUNDAS DOS DISTINTOS
BIOMAS BRASILEIROS

Dissertação APROVADA em
28/03/2018

BANCA EXAMINADORA

Graciele da S. C. Borges
Prof.^a. Dr.^a. Graciele da Silva Campelo Borges – PPGCTA/CT/UFPB
Orientadora

Prof.^a. Dr.^a. Marciane Magnani – PPGCTA/CT/UFPB
Co-orientadora

Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro
Prof.^a. Dr.^a. Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro – PPGCTA/CT/UFPB
Examinadora Interna

Fernanda Vanessa G. da Silva
Prof.^a. Dr.^a. Fernanda Vanessa Gomes da Silva – DTA/CTDR/UFPB
Examinadora externa

*À minha mãe, Socorro Macedo, por seu amor e dedicação
Ao meu noivo, Eduardo Matos, pelo companherismo e incentivo,*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelas bênçãos concedidas e por guiar os meus passos.

À minha orientadora Prof.^a Dr^a Graciele da Silva Campelo Borges, pela oportunidade de executar esse trabalho, por sua dedicação, competência, paciência e por todo conhecimento transmitido.

À minha co-orientadora Prof.^a Dr^a Marciane Magnani, pela acolhida em seu laboratório e pelas contribuições pertinentes.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo incentivo ao desenvolvimento da ciência e apoio financeiro para a execução do projeto.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, e a todo o corpo docente, por ter proporcionado esse período de grande aprendizado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

A banca examinadora, Prof.^a Dr^a Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro e Prof^a. Dr^a. Fernanda Vanessa Gomes da Silva, pelas contribuições valiosas.

Ao Prof. Dr. Marcos dos Santos Lima, por viabilizar análises importantes para o desenvolvimento deste trabalho.

À minha mãe, Socorro Macedo, por ser a minha fortaleza, por todo amor incondicional, dedicação, companheirismo e incentivo. Obrigada por sempre acreditar no meu potencial.

Ao meu pai, Edmilson Dantas, e irmã, Deise Dantas, por todo amor e confiança.

Ao meu noivo, Eduardo Matos, meu maior incentivador. Obrigada por estar presente nos momentos de felicidade e angústia e por compreender as minhas ausências.

À minha sobrinha Rebeca, que me proporciona momentos de felicidade e amor.

As minhas amigas Camila, Dayene, Elainy, Thayse e Winnie, amigas que o mestrado me proporcionou. Obrigada pelo apoio e troca de conhecimento durante as disciplinas do mestrado, pelos momentos de descontração, por todo o apoio, enfim, pela amizade.

As Luluzinhas, Adma, Carine, Diva, Geany, Narciza, Keliane, Rayssa, Renata e Taliana, pela amizade e incentivo.

Aos técnicos dos laboratórios do CTDR, em especial José Carlos e Aline Souza, por contribuir com o desenvolvimento das análises.

À Isis Mafaldo e Priscila Mayara pela dedicação e contribuição com as análises.

À Rodrigo Dutra, companheiro de pesquisa que se tornou um amigo, obrigada pelo companheirismo e amizade.

RESUMO

Nos distintos biomas do Brasil são produzidos uma grande diversidade de frutos nativos e exóticos. A maior produção concentra-se nos biomas Floresta Amazônica, Cerrado, Mata Atlântica e Caatinga. Atualmente, alguns desses frutos como açaí, cupuaçu, graviola, framboesa, jabuticaba, amora-preta, mirtilo e cajá apresentam uma elevada demanda no mercado interno e externo, devido aos efeitos benéficos à saúde do consumidor, particularmente devido a composição nutricional e a presença de compostos bioativos responsáveis pela elevada atividade antioxidante. Estudos sobre o perfil de compostos fenólicos e atividade antioxidante em polpas de frutas ainda são escassos, porém, são importantes para elucidar suas potencialidades funcionais, e assim, contribuir para ampliação do seu consumo, devido à crescente busca por produtos que proporcionem benefícios à saúde. Este trabalho teve como objetivo avaliar a bioacessibilidade de compostos fenólicos e atividade antioxidante de polpa de frutas brasileiras após a digestão gastrointestinal *in vitro*. As polpas de frutas utilizadas neste experimento foram obtidas de diversas agroindústrias brasileiras, todas atendem aos padrões de identidade e qualidade exigidos pela legislação vigente no Brasil. A digestão gastrointestinal *in vitro* simulou as condições da hidrólise enzimática da boca (α -amilase), estômago (pepsina) e intestino (pancreatina) acoplada com uma membrana de diálise para simulação a parede intestinal. A bioacessibilidade de compostos fenólicos foi determinada a partir do percentual da fração dializada. Para identificação e quantificação de compostos fenólicos utilizou-se o sistema de cromatografia líquida acoplado ao detector de UV. A atividade antioxidante da fração dializada foi avaliada pelos métodos de captura de DPPH $\cdot$ e a capacidade redutora do Fe $^{+2}$. A análise de componentes principais foi aplicada para verificar similaridades e diferenças entre aos grupos de compostos fenólicos e métodos de avaliação da atividade antioxidante. O conteúdo de compostos fenólicos e a sua bioacessibilidade variaram nas polpa de frutas estudadas. O maior conteúdo de compostos fenólicos foi encontrado na polpa de mirtilo seguida de graviola, açaí, framboesa, amora-preta, cajá, cupuaçu e jabuticaba. Os resultados demonstraram uma maior bioacessibilidade dos flavonoides e ácidos fenólicos em relação as antocianinas. A maior bioacessibilidade foi encontrada na catequina, procianidinas, quercetina 3 -glicosídeo, rutina, ácido siríngico, ácido caftáricos, ácido clorogênico e cis resvesratrol, contribuindo para atividade antioxidante. As alterações no conteúdo de compostos fenólicos refletiram na redução da atividade antioxidante após a simulação da digestão gastrointestinal *in vitro*. Os resultados evidenciaram que a digestão gastrointestinal *in vitro* influencia no conteúdo de compostos fenólicos e na atividade antioxidante da polpa de fruta. Além disso, as polpas de frutas de amora-preta e cajá, demonstraram os maiores valores de bioacessibilidade e atividade antioxidante, e seu consumo através da dieta pode contribuir para o aumento da atividade antioxidante endógena.

Palavras-chave: análise de componentes principais, atividade antioxidante, diálise, digestão *in vitro*

ABSTRACT

In the different biomes of Brazil are produced a great diversity of native and exotic fruits. The largest production is concentrated in the Amazon Forest, Cerrado, Atlantic Forest and Caatinga biomes. Currently, some of these fruits, such as açaí, cupuaçu, graviola, raspberry, jabuticaba, blackberry, blueberry and cajá, present a high demand in the internal and external markets, due to the beneficial effects on the health of the consumer, particularly due to the nutritional composition and presence of bioactive compounds responsible for high antioxidant activity. Studies on the profile of phenolic compounds and antioxidant activity in fruit pulps are still scarce, however, they are important to elucidate their functional potentialities, and thus, contribute to the expansion of their consumption, due to the growing search for products that provide health benefits. This work aimed to evaluate the bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant activity of Brazilian fruit pulp after gastrointestinal digestion *in vitro*. The fruit pulps used in this experiment were obtained from several Brazilian agroindustries, all complying with the standards of identity and quality required by the legislation in force in Brazil. *In vitro* gastrointestinal digestion simulated the conditions of enzymatic hydrolysis of the mouth (α -amylase), stomach (pepsin) and intestine (pancreatin) coupled with a dialysis membrane for simulation of the intestinal wall. The bioaccessibility of phenolic compounds was determined from the percentage of the dialysate fraction. For the identification and quantification of phenolic compounds the liquid chromatography system was coupled to the UV detector. The antioxidant activity of the dialysate fraction was evaluated by DPPH[•] capture methods, and the reducing capacity of Fe⁺². Principal components analysis was applied to verify similarities and differences between the groups of phenolic compounds and methods of evaluation of antioxidant activity. The content of phenolic compounds and their bioaccessibility varied in the fruit pulp studied. The highest content of phenolic compounds was found in the blueberry pulp followed by graviola, açaí, raspberry, blackberry, cajá, cupuaçu and jabuticaba. The results demonstrated a greater bioaccessibility of flavonoids and phenolic acids in relation to anthocyanins. The highest bioaccessibility was found in catechin, procyanidins, quercetin 3-glucoside, rutin, syringic acid, caftaric acid, chlorogenic acid and cis resveratrol, contributing to antioxidant activity. Changes in the content of phenolic compounds reflected in the reduction of antioxidant activity after simulation of gastrointestinal digestion *in vitro*. The results showed that *in vitro* gastrointestinal digestion influences the content of phenolic compounds and the antioxidant activity of fruit pulp. In addition, blackberry and cajá fruit pulps demonstrated the highest values of bioaccessibility and antioxidant activity, and their consumption through diet may contribute to the increase of endogenous antioxidant activity.

Keywords: antioxidant activity, dialysis, digestion *in vitro*, principal component analysis,

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO

- Fig. 1 Principal component analysis (PCA) of the groups of anthocyanins (A), of flavonoids (C), phenolic acids (E) and antioxidant activity of the frozen pulps. Distribution of frozen pulps from different Brazilian biomes according to PCA (B, D, F). A: açaí; C: cupuaçu; BA: blackberry; BU: blueberry; CJ: cajá; J: jaboticaba; R: raspberry; S: soursop.. **73**
- Fig. 2 (A) Principal Component Analysis (PCA) for bioaccessible phenolic compounds and findings from the antioxidant activity assay of the frozen pulps. (B) Distribution of the dialyzed fraction from frozen pulps after gastrointestinal digestion according to PCA. A: açaí; C: cupuaçu; BA: blackberry; BU: blueberry; CJ: cajá; J: jaboticaba; R: raspberry; S: soursop..... **74**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Frutos com o respectivo bioma brasileiro de origem.....	25
----------	---	----

ARTIGO

Table 1	The phenolic profile in frozen pulps of the biomes Amazon Forest, Cerrado, Atlantic Florest and Caatinga.....	67
Table 2	The phenolic profile in frozen pulps of the biomes Amazon Florest, Cerrado and Caatinga after the <i>in vitro</i> gastrointestinal digestion.....	68
Table 3	The phenolic profile in frozen pulps of the biomes Atlantic Forest after the <i>in vitro</i> gastrointestinal digestion.....	69
Table 4	Antioxidant activity of frozen pulps and dialyzed fractions determined by both FRAP and DPPH• assay.....	68

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 EXPLORAÇÃO DE FRUTOS NO BRASIL.....	13
2.2 FRUTOS EXPLORADOS NOS BIOMAS BRASILEIROS	14
2.3 COMPOSTOS FENÓLICOS DE FRUTOS.....	17
2.3.1 Compostos fenólicos de frutos nativos e exóticos explorados no Brasil	18
2.4 BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS	20
2.4.1 Bioacessibilidade de compostos fenólicos em frutos	22
3 MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1 AMOSTRAGEM	25
3.2 LOCAL DE EXECUÇÃO.....	25
3.3 DIGESTÃO GASTROINTESTINAL <i>in vitro</i>	26
3.4 ANÁLISE DOS COMPOSTOS FENÓLICOS	26
3.4.1 Preparo dos extratos	26
3.4.2 Determinação de compostos fenólicos	27
3.4.3 Atividade antioxidante	28
3.4.3.1 <i>DPPH</i> ’	28
3.4.3.2 <i>FRAP</i>	29
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	29
REFERÊNCIAS	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
ARTIGO: Bioaccessibility of phenolics in frozen pulps produced with fruits distinct Brazilian biomes using a digestion model coupled with simulated intestinal barrier	42
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	75

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é reconhecido mundialmente como um centro de diversidade de frutos nativos e exóticos, devido a sua vasta flora (PEREIRA et al., 2012). Essa variedade de frutos está distribuída nos diferentes biomas brasileiros, como a Floresta Amazônica, Cerrado, Mata Atlântica, Caatinga, Pampa e Pantanal, que possuem condições edafoclimáticas distintas e concentram grande parte da produção de frutos (IBGE, 2004; CANUTO et al., 2010; PEREIRA et al., 2012; NASCIMENTO et al., 2013; CATÃO et al., 2014; SOUZA et al., 2014b; PAZ et al., 2015; CARVALHO et al., 2015).

A maioria dos frutos brasileiros explorados possuem diferenciadas características sensoriais e composição nutricional. Além da presença de água e nutrientes essenciais, como vitaminas, minerais e fibras, proporcionam benefícios à saúde humana que vão além da nutrição básica, devido a elevadas quantidades de compostos bioativos (ALMEIDA et al., 2011; CARDOSO et al., 2011). Dentre os bioativos presentes destaca-se os compostos fenólicos, por exemplo, as antocianinas, flavonoides, ácidos fenólicos e estilbenos que contribuem para prevenção de doenças crônicas não transmissíveis e são eficazes no aumento da concentração de antioxidantes endógenos que desempenham atividade antioxidante no plasma (RUFINO et al., 2011; COSTA et al., 2013; MALTA, et al., 2013; SCHIASSI et al., 2018).

Estudos realizados nas últimas décadas tem demonstrado que embora alguns frutos apresentem considerável quantidade de compostos fenólicos, a composição da matriz alimentar influencia na sua estabilidade durante a digestão gástrica e apenas uma fração destes são absorvidos no intestino e outra fração chegará intacta no colón (REIN et al., 2013; MOSELE et al., 2015). Os compostos fenólicos para exercer seus efeitos benéficos devem ser liberados da matriz alimentar após a ingestão e estarem bioacessíveis para absorção a partir do intestino, e assim, atingirem a corrente sanguínea e o tecido alvo (LIANG et al., 2012; RODRÍGUEZ-ROQUE et al., 2013).

Estudos sobre o perfil de compostos fenólicos em polpa de fruta fortalecem o conhecimento sobre os efeitos benéficos e o potencial de consumo destes produtos (PAZ et al., 2015). Entretanto, ainda são poucos os estudos que relatam os compostos bioativos e atividade antioxidante *in vitro* de polpas de frutas brasileiras (TIBURSKI et al., 2011; CARVALHO et al., 2015; DUTRA et al., 2017).

Diante do exposto, a pesquisa da bioacessibilidade de compostos fenólicos e atividade antioxidante de polpas de frutas após a digestão gastrointestinal é de extrema importância científica a fim de elucidar o potencial funcional e a qualidade nutricional das polpas de frutas, contribuindo para o aumento do consumo pela população e consequentemente fomentar o desenvolvimento da agroindústria de toda região inserida no bioma característico das polpas de frutas.

Considerando estes aspectos, o presente trabalho objetivou determinar o perfil de compostos fenólicos e a atividade antioxidante *in vitro* de distintas polpas de frutas comercializadas no Brasil a citar: açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.), amora-preta (*Rubus* spp.), cajá (*Spondias mombin* L.), cupuaçu [*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex. Spreng.) Schum.], framboesa (*Rubus idaeus* L.), graviola (*Annona muricata* L.), jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba* (Vell.) O. Berg), mirtilo (*Vaccinium myrtillus* L.). Ademais, avaliar os efeitos da digestão gastrointestinal *in vitro* na bioacessibilidade dos compostos fenólicos e a atividade antioxidante da fração bioacessível das polpas de frutas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 EXPLORAÇÃO DE FRUTOS NO BRASIL

O Brasil é um país com expressiva produção de frutos, sendo a fruticultura uma atividade de extrema importância para geração de renda e desenvolvimento agrícola do país. Este segmento está presente em todos os Estados brasileiros, gerando cerca de 5,6 milhões de empregos, com plantações que englobam mais de 2 milhões de hectares (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2017). Nos últimos anos, a produção de frutos superou os 40 milhões de toneladas, o que mantém o Brasil como terceiro maior produtor de frutos do mundo, atrás apenas da China e da Índia (IBGE, 2016).

As diferentes condições edafoclimáticas e uma extensa costa litorânea ao longo do seu vasto território compreendido em 8.515.759 km² de terra proporcionam ao Brasil uma diversidade de espécies vegetais distribuídas em seis diferentes biomas: Floresta Amazônica, Caatinga, Cerrado, Floresta Atlântica, Pantanal e Pampa (IBGE, 2017; NERI-NUMA et al., 2018). Nestes biomas existem uma grande quantidade de espécies de frutíferas nativas e exóticas, com frutos de elevado valor nutricional e potencial econômico (SCHIASSI et al., 2018).

Os frutos brasileiros nativos e exóticos apresentam uma boa aceitação no mercado externo, justificado pelas suas características sensoriais únicas e sua elevada concentração de bioativos gerando benefícios à saúde do consumidor, . A presença destes compostos favorecem a sua valorização e permite atingir um mercado mais específico como o de produtos com alegação funcional, proporcionando um grande potencial para a exploração pela agroindústria (RUFINO et al., 2010; CONTRERAS-CALDERÓN et al., 2011; PAZ et al, 2015).

Estes frutos são comumente consumidos *in natura*, entretanto, a alta atividade de água causa uma elevada perecibilidade e a disponibilidade sazonal, são fatores que dificultam a sua comercialização. O beneficiamento é uma alternativa utilizada para ampliar o consumo de frutos e proporcionar a comercialização em distintos mercados, podendo ser produzidos produtos como sucos, néctares, geleias, doces e polpas de frutas (JESUS; LEITE; CRISTIANINI, 2018; NERI-NUMA et al., 2018). A polpa de é uma alternativa prática para o consumo, que diferencia-se de outros produtos por possuir sua composição e características

sensoriais semelhantes ao do fruto fresco (ALMEIDA et al., 2011; CARDOSO et al., 2011; CONTRERAS-CALDERÓN et al., 2011; MOSELE et al., 2015; RUFINO et al., 2011; SCHIASSI et al., 2018).

A polpa de fruta é definida como o produto não fermentado, não concentrado e não diluído, com um teor mínimo de sólidos totais, obtido a partir da parte comestível do fruto (BRASIL, 2000). A produção de polpa de fruta é destinada na preparação de doces, produtos lácteos e bebidas a base de água ou leite, sendo grande parte de sua comercialização destinada à produção de bebidas (ZIELINSKI et al., 2014; COSTA; MERCADANTE, 2017).

No Brasil a polpa de fruta destinada ao consumo como bebida é regulamentada pela Instrução Normativa Nº 1 de 7 de janeiro de 2000 (BRASIL, 2000), e atualmente, devido ao seu mercado em expansão, está em andamento uma consulta pública para atualização dessa regulamentação, através da Portaria Nº 58, de 30 de agosto de 2016 (BRASIL, 2016), que inclui frutos nativos e exóticos ainda não contemplados na legislação vigente.

A atualização regulamentação da produção é importante para assegurar que as características dos frutos não sejam totalmente afetadas após o processamento (BRASIL, 2016), pois as etapas do processamento do fruto para a obtenção da polpa de fruta podem em alterações como: modificando cor, compostos bioativos e características nutritivas e sensoriais (DUTRA et al., 2017).

2.2 FRUTOS EXPLORADOS NOS BIOMAS BRASILEIROS

A produção majoritária dos frutos brasileiros nativos e exóticos encontra-se nos biomas Floresta Amazônica, Cerrado, Mata Atlântica e Caatinga que ocupam 49,29%, 23,92%, 13,04%, 9,92% do território brasileiro, respectivamente (IBGE, 2016).

Além de ser a maior reserva de diversidade biológica do mundo, a Floresta Amazônia é também o maior bioma brasileiro, estendendo-se por quase metade do território nacional, com uma área aproximada de 4.196.946 km², ocupando na sua totalidade os Estados do Acre, Amapá, Amazonas, Pará e Roraima, grande parte de Rondônia (98,8%), mais da metade de Mato Grosso (54%), além de parte de Maranhão (34%) e Tocantins (9%) (IBGE, 2004).

A maior variedade de frutos brasileiros encontra-se no bioma Floresta Amazônica, que possui aproximadamente 220 espécies de plantas produtoras de frutos comestíveis, o que

representa 44% da diversidade de frutos nativos do Brasil (NEVES et al., 2015; PEREIRA et al., 2012). Muitos desses frutos são explorados de forma extrativista ou cultivados e comercializados no mercado local na forma de polpa ou *in natura*, o que confere um baixo valor agregado (RAMOS et al, 2015).

Os frutos como o açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.) e o cupuaçu [*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex. Spreng.) Schum.] são nativos da região amazônica, estão em grande ascensão comercial, são comercializados em todo território nacional e nos últimos anos tem se destacado no comércio internacional. O mercado americano, europeu e japonês tem um grande interesse nos produtos derivados desses dois frutos amazônicos, devido seus compostos bioativos e propriedades funcionais (GORDON et al., 2012).

O açaí é um fruto do tipo baga com 1,0-1,4 cm de diâmetro, de coloração roxa a negra, agrupados em cachos (RUFINO et al., 2010). O seu consumo é crescente, devido principalmente aos benefícios à saúde que vem sendo comprovado em estudos científicos, e por isso, o açaí é conhecido como uma “superfruta”. Essa espécie tem grande potencial econômico, e sua polpa é utilizada na produção de bebidas de açaí, que são exportadas em todo o mundo com a alegação de ser uma bebida energética (YAMAGUCHI et al., 2015).

O cupuaçu é um dos frutos amazônicos mais populares, com tamanho de 12 a 15 cm de comprimento e sabor forte, sua polpa tem uma excelente aceitação entre os consumidores para a preparação de doces, cremes, geleias, sobremesas e licores, sendo considerado um fruto promissor para a industrialização (ALVES et al., 2007; TEXEIRA et al., 2011; BARROS et al., 2016).

O Cerrado é um bioma brasileiro que se estende por um território de aproximadamente 2.036.448 km², ocupando em sua totalidade o Distrito Federal, mais da metade dos Estados de Goiás, Maranhão, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Tocantis e mais outros seis Estados da federação ((IBGE, 2016). Este bioma é considerado uma das mais ricas savanas do mundo, com um vasto patrimônio de recursos naturais e fornece muitos frutos com características sensoriais e nutricionais diferenciadas (CARDOSO et al., 2011; SCHIASSI et al., 2018).

Um dos frutos exóticos produzidos no Cerrado é a graviola (*Annona muricata* L.), um fruto com casca espinhosa, polpa ácida e fibrosa, com uma a cem sementes de 1-2 cm de comprimento e seu peso varia de 0,9 a 10 kg. Este fruto possui um sabor exótico e aroma atrante, e por isso, desperta o interesse dos mercados locais e da indústria, sua polpa é comumente utilizada na elaboração de bebidas, doces e sorvetes, além do consumo *in natura* (SUN et al., 2016; JIMÉNES et al., 2014).

O bioma Mata Atlântica ocupa aproximadamente 1.110.182 km², abrangendo inteiramente três Estados: Espírito Santo, Rio de Janeiro e Santa Catarina, 98% do Paraná e porções de outros 11 Estados, ocorrendo principalmente na costa brasileira (IBGE, 2004).

A Mata Atlântica é uma floresta tropical com a maior biodiversidade do continente americano (ALEZANDRO et al., 2013; CATÃO et al., 2014). Dentre os frutos que podemos encontrar neste bioma, estão a jabuticaba [*Myrciaria jabuticaba* (Vell.) O. Berg], o mirtilo (*Vaccinium myrtillus* L.), a amora-preta (*Rubus idaeus* L.) e a framboesa (*Rubus idaeus* L.) (NASCIMENTO et al., 2013; SOUZA et al., 2014a; SOUZA et al., 2014b). Esses frutos são bagas, conhecidos no mercado internacional como “berry”, que tem despertado nos últimos anos o interesse dos consumidores e da indústria de alimentos, devido ao alto conteúdo de compostos fenólicos, principalmente as antocianinas (LÓPEZ-VIDAÑA et al., 2016).

A jabuticaba é um fruto nativo de 3-4 cm de diâmetro, suportadas principalmente nos troncos principais e ramos da planta, sua casca é roxo intenso, sua polpa é branca e doce e possui de uma a quatro sementes. Um fruto popular no Brasil que pode ser consumido *in natura* ou na forma de geleia, suco, sorvete, licor e polpa de fruta (REYNERTSON et al., 2006; LEITE et al., 2011).

O mirtilo é um fruto exótico do tipo baga que pode atingir até 10 mm de diâmetro, proveniente de uma planta arbustiva. Quando maduro é de cor azul e sabor amargo e ácido, pode ser consumido fresco ou em preparações de molhos e geleias, além de serem empregados em suplementos dietéticos e produtos farmacêuticos (GARZÓN et al., 2010; BUJOR, et al., 2016; POPOVIĆ et al., 2016).

A amora-preta é um fruto exótico de 3 a 12 g, consumida na sua forma fresca, mas também pode ser utilizada na produção de polpas congeladas, sucos, geleias, compotas, entre outros produtos (KAUME; HOWARD; DEVAREDDY, 2011).

A framboesa é um fruto exótico de sabor doce e cor atrativa; com tamanho de até 20 mm. Atualmente, sua exploração é crescente e grande parte de sua produção é destinado ao preparo de gelatinas, balas, xaropes, polpa de fruta e vinhos (CHEN, et al., 2013; SOUZA et al., 2014b).

Os frutos do tipo “berry” possuem uma alta perecibilidade, sua vida útil é de 2-3 dias a 24°C, o que dificulta o seu cultivo em regiões de clima quente (LÓPEZ-VIDAÑA et al., 2016). Desta forma, a exploração das “berrys” na forma de polpa é a alternativa de beneficiamento efetiva na conservação de suas características sensoriais e nutritivas (MOZE et al., 2011; MIKULIC-PETKOVSEK et al., 2012).

O bioma da Caatinga é exclusivo do Brasil, correspondendo a uma região semiárida, que ocupa aproximadamente 60% da região Nordeste, totalizando uma área aproximada de 844.453 km², que se estende pelos estados do Ceará, Bahia, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Alagoas, Sergipe, Piauí e Minas Gerais (IBGE, 2004; SILVA et al., 2014). A flora da caatinga apresenta uma diversidade de espécies frutíferas ainda pouco exploradas comercialmente, a exemplo do cajá (*Spondias mombin* L.) (TRENTIN et al., 2011; MONTEIRO et al., 2015).

O cajá também conhecido como taperabá ou cajá-mirim, é um fruto nativo, carnoso, de forma elíptica com 3-4 cm de comprimento, amarelo e de sabor agri-doce. Este fruto tem se destacado entre produtores, pesquisadores e na indústria, nos mercados nacionais e internacionais devido a sua qualidade nutricional e potencial de processamento industrial, sendo muito utilizado como matéria-prima de polpas, sucos, picolés, sorvetes, néctares e geleias (SOUZA; BLEICHER, 2002; CARVALHO et al, 2015; FREITAS et al., 2017).

2.3 COMPOSTOS FENÓLICOS DE FRUTOS

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários dos frutos, sintetizados a partir de carboidratos, e em geral, produzidos como mecanismos de defesa contra patógenos e doenças, a exemplo da proteção a exposição excessiva de radiação ultravioleta, além de atrair polinizadores. São caracterizados por possuírem um anel aromático com um ou mais grupamentos hidroxila, e classificam-se como flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, cumarinas e estilbenos deferenciando-se de acordo com o número de anéis aromáticos e os elementos estruturais que ligam a esses anéis (COSTA et al, 2013; OGAH et al., 2014).

Esses compostos são fitoquímicos biologicamente ativos, que se encontram nos frutos em quantidades variadas e proporcionam inúmeros efeitos benéficos ao organismo humano (TADAPANENI et al. 2014). A presença de compostos fenólicos em frutos já foi associada em estudos *in vitro* e *in vivo* a atividade antioxidante, inibição da oxidação de lipossomas e inflamação de células do cérebro, potencial antiproliferativo, efeitos anti-inflamatórios, antimutagênicos e imunomoduladores (WESTON et al., 2010; FRAGOSO et al., 2013; PANDEY et al.; 2016; POULOSE et al., 2014; CARVALHO et al. 2017).

A atividade antioxidante destes compostos fenólicos de frutos vem sendo alvo de muitas pesquisas nos últimos anos (ALMEIDA et al., 2011; CHEN et al., 2013; POPOVIĆ et al., 2016; CARVALHO et al., 2017). Esses compostos agem como inibidores e decompositores de radicais livres, quelantes de metais e eliminadores de oxigênio (PALACIOS et al., 2011).

O excesso de radicais livres no organismo humano, conhecido como estresse oxidativo, está associados ao desenvolvimento de uma série de patologias. E o consumo de produtos que possuem compostos antioxidantes em sua composição pode contribuir para o equilíbrio entre a produção de radicais livres e a proteção endógena, atuando na regulação do estresse oxidativo (WOOTON-BEARD; RYAN, 2011).

2.3.1 Compostos fenólicos de frutos nativos e exóticos explorados no Brasil

No açaí já foram identificados aproximadamente 90 compostos bioativos, dentre os quais estão os compostos fenólicos como flavonoides e principalmente antocianinas (YAMAGUCHI et al., 2015). No perfil fenólico desta fruta já foram descritos ácidos fenólicos, tais como ácido ferúlico, gálico, protocatecuico, elágico, vanílico, *p*-cumárico, siringico, ácido clorogênico, ácido 3,4-di-hidroxibenzóico, ácido 4-hidroxibenzóico, ácido vanílico, ácido cafeico, ácido siríngico, ácido *p*-cumarico, antocianinas como cianidina-3-glucosídeo, cianidina-3-rutinosídeo, isoorientina e o estilbeno resveratrol (ROJANO et al., 2011; CARVALHO et al., 2017).

A presença desses compostos no açaí foram relacionados à inibição da oxidação de lipossomas, redução do dano oxidativo e inflamação de células cerebrais, potenciais efeitos antiproliferativos e anti-inflamatórios, ação ateroprotetor e protetora contra carcinogêneses, além da atividade antioxidante (PACHECO-PALENCIA et al., 2008; NORATTO et al., 2011; KANG et al., 2012; FRAGOSO et al., 2013, POULOSE et al., 2014).

Santos et al. (2010), avaliou a atividade antioxidante e a correlação com componentes bioativos de polpas de cupuaçu, concluindo que a capacidade antioxidante das polpas está correlacionada com o teor de fenólicos totais. Dentre os fenólicos antioxidantes do cupuaçu estão hipolaetina 8-O- β -D-glucoronídeo, isoscutellareina 8-O- β -D glucuronídeo 3''-sulfato, hipolaetina 3-metil éter, hipolaetina 8-O- β -D glucuronídeo 3'' – sulfato, epicatequina, clovamida, ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido *p*-hidroxibezoico, ácido vanílico, ácido

cinâmico, ácido *p*-cumárico, ácido cafeico e ácido ferulico (PUGLIESE et al., 2013; OLIVEIRA; ROGERO; GENOVESE, 2015; BARROS et al., 2016; LOURENÇO NETO et al., 2018).

Segundo Nunes et al. (2013) a polpa de graviola possui uma moderada a fraca atividade antioxidante pelo método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Porém, apresenta relevante quantidade de compostos fenólicos e mesmo assim, independente da intensidade da atividade antioxidante pode ser considerada como uma importante fonte de antioxidantes dietéticos (MELO et al., 2008). Dentre os compostos fenólicos encontrados neste fruto estão o ácido cinâmico, ácido *p*-cumárico, ácido cafeico, catequina, galocatequina, quercetina, luteolina e galato de epicatequina (JIMÉNEZ et al., 2014; GEORGE et al., 2015).

Na jabuticaba estão presentes as antocianinas, e compostos como a quercetina, isoquercetina, quercitrina, rutina, miricetina, ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido elágico. Esses compostos estão relacionados ao potencial antioxidante, anti-inflamatório e citotóxico (REYNERTSON et al., 2006; LEITE et al., 2011; ALEZANDRO et al., 2013; CASTRO et al., 2014).

O mirtilo é considerado fonte importante de vários compostos fenólicos, tais como os flavanóis (catequina e epicatequina), flavonóis (quercetina, miricetina e rutina), ácidos fenólicos (ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido ferulico, ácido *p*-cumárico, ácido elágico, ácido gálico), estilbenos (trans-resveratrol), e é rico em antocianinas (delfinidina 3-galactosídeo, cianidina 3-galactosídeo, delfinidina-3-arabinosídeo, cianidina-3-glucosídeo, petunidina 3-galactosídeo, cianidina-3-arabinósídeo, petunidina 3-glucosídeo, peonidina 3-galactosídeo, petunidina 3-arabinósido, peonidina 3-glucosídeo, malvidina 3-galactosídeo, peonidina 3-arabinosídeo, malvidina 3-glucosídeo, malvidina 3-arabinosídeo), que constitui cerca de 90% do total de fenólicos, essa elevado conteúdo de fenólicos proporciona ao mirtilo um alto potencial antioxidante e efeitos biológicos como o protetor contra carcinogêneses, anti-inflamatório e atividade antimicrobiana (ZIBERNA et al., 2010; MOZE et al., 2011).

Devido ao conteúdo de compostos fenólicos, as amoras-pretas possuem algumas propriedades biológicas, tais como atividade antiproliferativa, e protetor contra carcinogêneses e elevada atividade antioxidante (SEERAM et al., 2006; MCDOUGALL et al., 2008; SOUZA, et al., 2014b). Essas propriedades são devido principalmente ao alto conteúdo de antocianinas como: cianidina 3-galactosídeo, cianidina 3-glicosídeo, cianidina 3-arabinosídeo, cianidina 3-xilosídeo, malvidina 3-arabinosídeo, perlagonidina 3-glucosídeo, cianidina-3-rutinosídeo, ciadinina 3-(3-malonil) glicosídeo, ciadinidina 3-(6-malonil) glicosídeo; e flavonóis como

quercetina 3-glicosídeo, quercetina 3-glicosídeo, quercetina 3-rutinosídeo, quercetina 3-xilosilglucuronídeo, quercetina 3-glicosilpentosídeo, kaempferol 3-glicuronídeo, kaempferol 3-glicosídeo, kaempferol 3-galactosídeo, quercetina 3-glicuronídeo, quercetina 3-O-[6-(3-hidroxi-3-metil-glutaroil) - β -D-galactosídeo, miricetina, quercetina 3-metilhexosídeo, quercetin 3-oxalylpentosídeo (KAUME, HOWARDE, DEVAREDDY, 2014).

A framboesa é considerado uma fonte de compostos fenólicos, como as antocianinas (cianidina 3-glicosídeo, cianidina-3-sophorosídeo, cianidina-3-glicosilrutinosídeo, cianidina-3-rutinosídeo, pelargodina-3-glicorutinosídeo, pelargodina-3-sophorosídeo, pelargodina-3-rutinosídeo), ellagitaninas (lambertianina C e ácido elágico), flavonoides (catequina, kampferol -3-glucoronídeo, quercetina 3-glucoronídeo) e ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido *p*-cumarico, ácido cafeico, ácido ferulico, ácido sinápico, ácido vanílico e ácido cinâmico) (RAO; SNYDER, 2010; KULA; KRAUZE-BARANOWSKA., 2016a). Dentre as atividades biológicas que esses composto apresentam, estão a antioxidante, antiinflamatória, antimicrobiana e propriedades anticancerígenas (JEONG et al., 2010; RAUDONE et al., 2014; KULA; KRAUZE-BARANOWSKA, 2016b).

A polpa do cajá apresenta alto conteúdo de compostos fenólicos totais e uma boa capacidade de complexar o radical DPPH^{*} (VASCO; RUALES; KAMAL-ELDIN, 2008; TIBURSKI et al., 2011). Porém, estudos com enfoque no perfil de compostos fenólicos deste fruto são escassos na literatura.

2.4 BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS

A bioacessibilidade dos compostos fenólicos refere-se à quantidade desses compostos que atravessam a parede intestinal e que tornam-se disponível para absorção na corrente sanguínea. É importante o conhecimento sobre a bioacessibilidade dos fenólicos das diversas matrizes alimentares, pois é uma indicação preditiva sobre a quantidade que estes serão absorvidos na parede intestinal (WOOTTON-BEARD; RYAN, 2011).

Para que os compostos fenólicos estejam bioacessíveis é necessário que sejam liberados da matriz alimentar, e assim disponíveis para utilização em funções fisiológicas normais, sendo a fração que atravessa a parede do intestino considerada a fração bioacessível (TAGLIAZUCCHI et al., 2010; LIANG et al., 2012; CILLA et al., 2016).

Em uma matriz alimentar, deve-se ser considerado a interação dos compostos fenólicos com os demais constituintes alimentares, pois essa interação pode aumentar ou diminuir a bioacessibilidade destes (SENGUL; SUREK; NILUFER-ERDIL, 2014). Entretanto, os compostos fenólicos mais bioacessíveis não são necessariamente aqueles presentes em concentrações mais elevadas na matriz alimentar (TAGLIAZUCCHI et al., 2010).

A digestão gastrointestinal *in vitro* simula algumas condições gastrointestinais biológicas (enzimas gástricas e pancreáticas) e químicas (pH, temperatura e sais biliares), como também avalia o quão estáveis e bioacessíveis são os compostos fenólicos e consequentemente a atividade antioxidante destes compostos após o processo de digestão (TAGLIAZUCCHI et al., 2010). Esse método é empregado para a avaliação da bioacessibilidade, devido a segurança, rapidez e não possuir restrições éticas quando comparado com o método *in vivo* (YOU et al., 2010).

Dentre os fatores de influência na bioacessibilidade estão a estrutura química dos compostos, o material vegetal, a fibra dietética, o conteúdo proteico e sua possível interação molecular com os compostos fenólicos, o pH, a temperatura, a presença enzimas e de inibidores ou potencializadores de absorção (SAHAN et al., 2017).

Um exemplo de como as condições do meio trato gastrointestinal afetam a bioacessibilidade, é a transição do ambiente gástrico ácido para o intestinal alcalino que pode causar uma diminuição na quantidade de flavonoides bioacessíveis, como a antocianina que é instável no pH intestinal (BOUAYED; HOFFMANN; BOHN, 2011). Essa instabilidade foi demonstrada por Peixoto et al. (2016), que observaram que a bioacessibilidade das antocianinas de jabuticaba diminuiu de 45% no ambiente gástrico para 10% no ambiente intestinal.

O conteúdo de flavonoides em uma matriz pode ser aumentado após a simulação das condições gástricas, como foi observado em polpa de mangaba, onde ocorreu um aumento de 125,37 % da rutina após a simulação da fase gástrica. Os autores explicam que o aumento pode ser devido a geração da rutina a partir da quercetina, sua forma aglicona, pois as condições ácidas podem ter favorecido a ruptura das ligações com açúcares (DUTRA et al., 2017).

Em um estudo que avaliou a bioacessibilidade de compostos fenólicos de variedades de maçãs, Bouayed; Hoffmann e Bohn (2011) verificaram que as enzimas digestivas intestinais possuem efeitos na liberação de flavonoides ligados a matriz, contribuindo para o aumento do conteúdo total desses compostos.

O processamento dos alimentos também pode influenciar no aumento dos compostos fenólicos bioacessíveis, como consequência da ruptura celular de paredes vegetais, dissociação

dos complexos nutrientes-matriz ou transformações em estruturas moleculares mais ativas (CILLA et al., 2016). Hithamani e Srinivasan (2014a) avaliaram o efeito do cozimento sob pressão em relação a bioacessibilidade de flavonoides de cereais, e concluíram que o cozimento sob pressão aumentou a bioacessibilidade de flavonoides presentes em *Eleusine coracana* e *Pennisetum glaucum*. Em outro estudo Hithamani e Srinivasan (2014b), verificaram os efeitos do cozimento sob pressão e do aquecimento em micro-ondas sobre a bioacessibilidade de compostos fenólicos de grão-de-bico, e foi observado um aumento na bioacessibilidade desses compostos após serem submetidos ao cozimento sob pressão, porém ocorreu uma redução quando o grão de bico foi submetido ao aquecimento em micro-ondas.

Kamiloglu e Capanoglu (2013) observaram que a secagem de figos pode ter efeito adverso sobre a bioacessibilidade dos compostos fenólicos, o que pode levar a diminuição da fração absorvida no intestino delgado em comparação com os figos frescos.

Em sistema de digestão gastrointestinal que simulam a parede intestinal do intestino com o uso de membranas dialisáveis, observou-se a redução da fração bioacessível de compostos fenólicos, que estavam presentes tanto na forma livre como complexados a outros constituintes da matriz, como a proteínas, polissacarídeos, complexos minerais, que possuem solubilidade reduzida e que levam a baixa bioacessibilidade (BOUAYED; HOFFMANN; BOHN, 2011).

Desta forma, é importante considerar a absorção e a atividade dos diversos compostos fenólicos oriundos de alimentos, em relação às diversas condições fisiológicas do trato gastrointestinal de humanos, compreendendo os fatores que afetam a bioacessibilidade desses compostos, sua importância biológica e eficácia como ingredientes funcionais (CORREA-BETANZO et al, 2014; KOSÍŃSKA-CAGNAZZO, 2015).

2.4.1 Bioacessibilidade de compostos fenólicos em frutos

Nos últimos anos, estudos com foco na bioacessibilidade de compostos fenólicos em frutos vêm sendo realizados. Esses estudos já demonstraram que as características físico-químicas como tamanho molecular, estrutura básica, grau de polimerização e conjugação com outros fenólicos influenciam na absorção e no metabolismo desses compostos (CARBONELL-CAPELLA et al, 2014).

Em um estudo simulando as condições da digestão gastrointestinal Pavan, Sancho e Pastore (2014), avaliaram os extratos de araticum (*Annoma marcgravii*), jaca (*Artocarpus heterophyllus*) e mamão (*Carica papaya*), em relação aos efeitos sobre a atividade antioxidante dos compostos fenólicos. Estes autores relataram que após a digestão *in vitro*, a atividade antioxidante dos extratos de araticum e jaca aumentaram significativamente, e ocorreram reduções no conteúdo de compostos fenólicos totais nos extratos de araticum e mamão, essas reduções podem estar relacionada a instabilidade desses compostos em pH mais alcalino, demonstrando que a composição desses extratos pode ser afetada durante o processo de digestão.

Correa-Betanzo et al. (2014), avaliaram a bioacessibilidade de compostos fenólicos de mirtilo selvagem (*Vaccinium angustifolium*) através da digestão gastrointestinal *in vitro*. Os resultados demonstraram que após a digestão intestinal ocorreu uma diminuição de 49% dos fenólicos (ácido clorogênico, quercetina, seringetina 3-galactosídeo) e de 15% de antocianinas (delfinidina 3-galactosídeo, delfinidina 3-glicosídeo, delfinidina 3-arabinose, cianidina 3-glicosídeo, petunidina 3-galactose, peonidina 3-galactose, malvidina 3-galactose, malvidina 3-glicosídeo, malvidina 3-arabinose, delfinidina 6-acetil 3- glicosídeo, malvidina 6-acetil 3-glicosídeo) quando comparados com as amostras não digeridas. Foram detectados apenas traços de delfinidina 3-arabinose e petunidina 3-galactose, apesar desses compostos terem sido detectados nas amostras não digeridas e após a fase gástrica. Os autores sugerem que esse resultado é devido a alterações estruturais das antocianinas durante a passagem pelo trato gastrointestinal, resultado da clivagem do anel benzopireno das antocianinas em condições alcalinas.

Bouayed, Hoffmann e Bohn (2011), estudaram os fenólicos livres de quatro variedades de maçãs em um modelo *in vitro* de digestão gastrointestinal, incluindo a diálise, e observaram uma maior liberação dos compostos fenólicos totais na fase gástrica, cerca de 65% ocorrendo uma liberação adicional menor que 10% durante a digestão intestinal, mas este efeito não foi significativo para todos os tipos de maçãs. Os autores relataram que as quantidades de compostos fenólicos foram inferiores quando comparados com o da extração química, sendo um indício da liberação incompleta ou degradação dos composto fenólicos durante a digestão.

A bioacessibilidade e atividade antioxidante dos polifenóis de uvas vermelhas foram avaliados por Tagliazucchi et al. (2010), esses autores relataram que a quantidade de polifenóis, flavonóides e antocianinas bioacessíveis, aumentaram durante a digestão gástrica, e cerca de 90% dos polifenóis extraídos foram flavonoides, sendo que cerca de 15% desses polifenóis

foram perdidos durante a transição do ambiente gástrico ácido para o ambiente intestinal alcalino. Na fase de incubação com solução pancreática, ocorreu um aumento da bioacessibilidade dos polifenóis e flavonóides, enquanto que a bioacessibilidade das antocianinas diminuiu, sugerindo que as antocianinas das uvas vermelhas, são estáveis em condições ácidas, e são degradadas nas condições alcalinas do intestino.

Liang et al. (2012), avaliaram a bioacessibilidade *in vitro* e a atividade antioxidante das antocianinas das amoras (*Morus atropurpurea* Roxb). Os resultados demonstraram que a bioacessibilidade das antocianinas diminuiu após a digestão intestinal, recuperando apenas 0,34% na fração absorvida, e 4,58% na fração não absorvida. Além disso, foi demonstrada uma boa capacidade de complexar os radicais DPPH[•] e ABTS[•], usados para avaliar a atividade antioxidante após a digestão. Os autores sugerem que os fenólicos gerados pela degradação das antocianinas contribuem para a capacidade antioxidante, pois perdem o seu glicosídeo, gerando compostos fenólicos como o resveratrol, miricetina, epicatequina galato, derivados de quercetina, ácido cafeico, ácido ferúlico e o ácido de quinina acilado.

A estabilidade após a digestão *in vitro* dos ácidos fenólicos de blackthorn (*Prunus spinosa* L.) foi estudada por Pinacho et al. (2015), que observaram os níveis de ácido protocatecuico, ácido gálico e ácido cafeico reduziram menos de 5% após a simulação da fase intestinal. A estabilidade dos ácidos fenólicos também foi relatada por Dutra et al. (2017), que observou uma alta bioacessibilidade do ácido trans-cinâmico (127,580 %) em polpa de umbu-cajá (*Spondias* spp.). Esses estudos corroboram com a alegação de que os ácidos fenólicos presente em frutos podem ser resistentes a alteração de pH e hidrólise enzimática (PINACHO et al., 2015). Porém a geração desses compostos pode ser devido a rearranjos químicos que hidrolisam ligações, a exemplo de ligações éster de ellagitaninas, que após a simulação das condições gastrointestinais se rearranjam como ácido elágico (ALMINGER et al., 2014). Ademais, os ácidos fenólicos possuem um baixo peso molecular o que favorecem a sua estabilidade após a digestão intestinal (CARBONELL-CAPELLA et al, 2014).

Dutra et al. (2017) também avaliaram a bioacessibilidade de flavonoides de umbu-cajá, após a simulação da digestão gastrointestinal, e observaram um aumento dos flavonoides, sendo a catequina o flavonoide que apresentou a mais alta bioacessibilidade (69,94%). Os autores concluíram que as enzimas digestivas presentes, favorecem a liberação dos flavonoides ligados a matriz e em valores de pH intestinal hidrolisam parcialmente as proantocianinas, resultando na alta da bioacessibilidade da catequina.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 AMOSTRAGEM

As polpas de frutas (Tabela 1) utilizadas neste estudo foram obtidas de diversas agroindústrias brasileira. Todas as polpas de frutas atendiam aos parâmetros de identidade e qualidade exigidos na legislação brasileira (BRASIL, 2000).

Tabela 1: Frutos explorados em distintos biomas no Brasil

Bioma	Frutos	Nome científico
Floresta Amazônica	Açaí	<i>Euterpe oleraceae</i> Mart.
	Cupuaçu	<i>Theobroma grandiflorum</i> (Willd. ex. Spreng.) Schum.
Mata Atlântica	Jaboticaba	<i>Myrciaria jaboticaba</i> (Vell.) O. Berg
	Mirtilo	<i>Vaccinium myrtillus</i> L.
	Amora-preta	<i>Rubus</i> spp.
	Framboesa	<i>Rubus idaeus</i> L.
Caatinga	Cajá	<i>Spondias mombin</i> L.
Cerrado	Graviola	<i>Annona muricata</i> L.

3.2 LOCAL DE EXECUÇÃO

Os ensaios e procedimentos para a simulação da digestão gastrointestinal *in vitro* e a determinação da atividade antioxidante foram conduzidos no Laboratório de Análise Físico-químicas e no Laboratório de Processamento de alimentos localizados no Centro de Tecnologia de Desenvolvimento Regional (CTDR) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Os compostos fenólicos foram identificados e quantificados no Instituto Federal do Sertão Pernambucano, as amostras foram armazenadas e transportadas sob congelamento (-18°C).

3.3 DIGESTÃO GASTROINTESTINAL *in vitro*

O ensaio de digestão gastrointestinal *in vitro* foi realizado de acordo com o descrito por Rodríguez-Roque et al. (2013), com modificações. A digestão *in vitro* das polpas de frutas foi conduzida por duas etapas, a digestão gástrica, seguida da digestão intestinal. Inicialmente foi adicionada à 50 mL de cada polpa de fruta, 5 mL de solução salivar (2,38 g de Na₂HPO₄, 0,19 g de KH₂PO₄, 8 g de NaCl e 200 U/L de α -amilase) em frascos âmbar. Posteriormente, essa mistura foi incubada por a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ por 10 min com agitação de 90 rpm. Afim de simular a digestão gástrica foi adicionado 1 mg de pepsina porcina e pH ajustado para 2 com HCl 0,1 mol/L, com posterior incubação a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ por 2 h sob agitação a 90 rpm., e por fim arrefecida num banho de gelo. As amostras então seguiram para digestão intestinal, onde 60 cm do segmento da membrana de diálise foi preenchido com 15 mL de NaHCO₃ (0,5 mol/L). A membrana foi completamente imersa nas amostras da digestão até pH 5,0 ser atingido. Depois, foi adicionado 5 mL de uma solução com pancreatina (0,12 g) e sais biliares (0,75 g). As amostras foram incubadas sob agitação (95 rpm) a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 2 h para completar a fase intestinal. Ao final a membrana de diálise foi retirada e enxaguada com a água destilada, sendo esta a fração retida na membrana a fração absorvida e portanto, bioacessível.

A bioacessibilidade foi expressa em porcentagem e foi determinada de acordo com a Equação 1.

$$\text{Bioacessibilidade (\%)} = (\text{CF digerido} / \text{CF não digerido}) \times 100 \quad (\text{Equação. 1})$$

Onde:

CF digerido corresponde à concentração de compostos fenólicos das polpas digerida e CF não digerido a concentração de composto fenólicos das polpas não digeridas.

3.4 ANÁLISE DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

3.4.1 Preparo dos extratos

Foram preparados extratos fenólicos das polpas e frações absorvidas e não absorvidas, onde foi adicionado 5 g de polpa ou totalidade das frações digeridas e não digeridas em 10 mL de metanol e o pH reduzido para 2 com adição de HCl 0,1 mol/L. Seguindo para uma extração em banho de ultrassom (UNIQUE, modelo USC-1800, Brasil) a 40 KHz durante 30 min a 25°C. Posteriormente foi centrifugada a 6000 g por 15 min usando centrífuga, modelo SL-701 (Solab, São Paulo, Brasil). O extrato foi concentrado utilizando um evaporador rotativo (Fisatom 802, São Paulo, Brasil). Estes extratos foram utilizados para a quantificação da atividade antioxidante e a identificação e quantificação de compostos fenólicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

3.4.2 Determinação de compostos fenólicos

O perfil dos compostos fenólicos foi identificado e quantificado nas polpas de frutas e nas frações absorvidas e não absorvidas através da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

O sistema cromatográfico foi o Agilent 1260 Infinity LC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA), equipado com bomba quaternária com solvente (modelo G1311C), degassor, amostrador automático (modelo G1329B), compartimento de coluna termostático (modelo G1316A) e Diodes Array Detector (DAD) (modelo G1315D). A separação cromatográfica para compostos fenólicos foi realizada em uma coluna Zorbax Eclipse Plus RP-C18 (100 × 4,6 mm, 3,5 µm) e a pré-coluna Zorbax C18 (12,6 × 4,6 mm, 5 µm). A temperatura da coluna foi ajustada a 35 °C. As aquisições de dados foram realizadas usando o software OpenLAB CDS *ChemStation Edition™* (Agilent Technologies).

A caracterização de compostos fenólicos foi realizada segundo Padilha et al. (2017), com modificações. Os extratos das polpas de frutas foram filtrados através de um filtro de seringa 0,45 µm (PTFE) e em seguida injetou-se 20 µL. As fases móveis foram compostas por água acidificada com 0,1 M de ácido fosfórico (pH 2,0, fase A) e metanol acidificado com 0,5% de ácido fosfórico (fase B); foi utilizado um caudal de 0,8 mL.min⁻¹. A eluição foi completa em 33 minutos usando um gradiente: 0-5 min: 5% B; 5-14 min: 23% B; 14-30 min: 50% B; 30-33 min: 80% B (retorno das condições iniciais). A detecção dos compostos foi no comprimento de onda de 220 nm para catequina, epicatequina, epicatequina galato, epigallocatequina galato,

procianidina B1, procianidina B2, procianidina A2 e procianidina A2; 280 nm para ácidos gálico e siríngico, hesperidina, cis-resveratrol e naringenina; 320 nm para ácido caftárico, ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido ρ -cumárico e trans-resveratrol; 360 nm para quercetina 3-glicosídeo, rutina e Kaempferol; e 520 nm para malvidina 3,5-diglicosídeo; malvidina 3-glicosídeo, cianidina 3,5-diglicosídeo, cianidina 3-glicosídeo, pelargonidina 3,5-diglicosídeo, pelargonidina 3-glicosídeo, peonidina 3-glicosídeo, petunidina 3-glicosídeo, delphinidina 3-glicosídeo.

3.4.3 Atividade antioxidante

Métodos distintos foram empregados para avaliar a atividade antioxidante das polpas e fração absorvida, são eles: DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e FRAP (*ferric reducing antioxidant power*).

3.4.3.1 DPPH[•]

A capacidade dos antioxidantes presentes no extratos de complexar o radical estável DPPH[•] foi avaliada de acordo com o método descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com modificações. Uma solução de 0,06 mmol.L⁻¹ de DPPH[•] foi preparada diluída em metanol. Posteriormente uma alíquota de 2,9 mL da solução de DPPH[•] foi adicionada a uma alíquota de 90 μ L do extrato da polpa e a absorbância medida a 515 nm após 30 min utilizando um espectrofotômetro Cary 60 (Agilent Technologies, Malásia). A curva padrão foi realizada com Trolox e os resultados expressos em μ M Trolox/ g de polpa seca.

3.4.3.2 FRAP

A capacidade dos antioxidantes presentes nos extratos em reduzir o ferro foi determinada pelo método FRAP, segundo Rufino et al. (2006), com modificações. Inicialmente foi preparado o reagente FRAP com tampão acetato 0,3 M (pH 3,6), TPTZ (2,4,6-tris (2-pyridyl)-s-triazine) 10 mM/L em uma solução de HCl 40 M/L e FeCl₃ 20 mM. Em uma alíquota de 90 µL do extrato foi adicionado 270 µL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP. Posteriormente foram agitadas e mantida num banho de água durante 30 minutos a 37 °C. A absorbância foi medida a 595 nm em espectrofotômetro Cary 60 (Agilent Technologies, Malásia). A curva padrão foi realizada com Trolox e os resultados expressos em µM Trolox / g de polpa seca.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As diferenças entre o conteúdo dos compostos fenólicos e atividade antioxidante das polpas de frutas foram avaliadas utilizando a análise de variância (ANOVA) e média (Tukey, $p \leq 0.05$). O teste -t foi utilizado para medir as diferenças ($p \leq 0.05$) entre a atividade antioxidante antes e após da digestão gastrointestinal *in vitro* em polpas congeladas. A análise de componentes principais (PCA) foi aplicada ao conteúdo de compostos fenólicos e % de bioacessibilidade de compostos fenólicos na polpa de fruta, a fim de facilitar a visualização de resultados. Todas as análises estatísticas foram realizadas com Statistica Software 5.1.

REFERÊNCIAS

- ALEZANDRO, M. R.; DUBÉ, P.; DESJARDINS, Y.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jabuticaba: *Myrciaria jabuticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. **Food Research International**, v. 54, p. 468-477, 2013.
- ALMEIDA, M., M. B.; SOUSA, P. H. M. S.; ARRIAGA, A. M. C.; PRADO, G. M. P.; MAGALHÃES, C. E. C.; MAIOA, G. A.; LEMOS, T. L. G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 11, p. 2155-2159, 2011.
- ALMINGER, M.; AURA, M.; BOHN, T.; DUFOUR, C.; EL, S. N.; GOMES, A., MCDUGALL, G. J. In vitro models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. **Comprehensive Reviews in Food and Food Safety**, v. 13, p. 413-436, 2014.
- ALVES, R. M.; SEBBENN, A. M.; ARTERO, A. S.; CLEMENT, C.; FIGUEIRA, A. High levels of genetic divergence and inbreeding in populations of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*). **Tree Genetics & Genomes**, v. 2, p. 289-298, 2007.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA 2017. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2017. 88 p.
- BARROS, H. R. M.; GARCÍA-VILLALBA, R.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; GENOVESE, M. I. Evaluation of the distribution and metabolism of polyphenols derived from cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) in mice gastrointestinal tract by UPLC-ESI-QTOF. **Journal of Functional Foods**, v. 22, p.477-489, 2016.
- BOUAYED, J.; HOFFMANN, L.; BOHN, T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: bioaccessibility and potential uptake. **Food Chemistry**, v.128, p.14-21, 2011.
- BRAND-WILLIAMS, W.;CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, v .281, n. 1, p. 25–30, 1995.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 1, de 07 de janeiro de 2000. **Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpas e sucos de frutas**. MAPA, Brasília, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 58, de 30 de agosto de 2016. **Projeto de instrução normativa**. MAPA, Brasília, 2016.

BUJOR, O.; BOURVELLEC, C. L.; VOLF, I.; POPA, V. I.; DUFOUR, C. Seasonal variations of the phenolic constituents in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves, stems and fruits, and their antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 213, p. 58-68, 2016.

CANUTO, G. A. B.; XAVIER, A. A. O.; NEVES, L. C.; BENASSI, M. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, 2010.

CARBONELL-CAPELLA, J. M.; BUNIEWSKA, M.; BARBA, F. J.; ESTEVE, M. J.; FRÍGOLA, A. Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p. 155-171, 2014.

CARDOSO, L. M.; MARTINO, H. S. D.; MOREIRA, A. V. B.; RIBEIRO S. M. R. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) of the Cerrado of Minas Gerais, Brazil: Physical and chemical characterization, carotenoids and vitamins. **Food Research international**, v. 44, p. 2151-2154, 2011.

CARVALHO, A. V.; SILVEIRA, T. F. F. da; MATTIETTO, R. de A.; OLIVEIRA, M. do S., P. de; GODOY, H. T. Chemical composition and antioxidant capacity of açai (*Euterpe oleracea*) genotypes and commercial pulps. **Journal of the Science, of Food and Agriculture**, v. 97, p. 1467-1474, 2017.

CARVALHO, J. M., MAIA, G. A.; FONSECA, A. V. V.; SOUSA, P. H. M.; RODRIGUES, S. Effect of processing on physicochemical composition, bioactive compounds and enzymatic activity of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) tropical juice. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 2, p. 1182-1187, 2015.

CASTRO, V. C. de; SILVA; P. H. A. da; OLIVEIRA, E. B. de; DESOBRE, S.; HUMEAU, C. Extraction, identification and enzymatic synthesis of acylated derivatives of anthocyanins from jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) fruits. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 49, p. 196-204, 2014.

CATÃO, E. C. P.; LOPES, F. A. C.; ARAÚJO, J. F.; CASTRO, A. P.; BARRETO, C. C.; BUSTAMANTE, M. M. C.; QUIRINO; B. F.; KRUGER, R. H. Soil acidobacterial 16s rRNA

gene sequences reveal subgroup level differences between savanna-like cerrado and atlantic forest brazilian biomes. **International Journal of Microbiology**, v. 14, p. 1-12, 2014.

CHEN, L.; XIN, X.; ZHANG, H.; YUAN, Q. Phytochemical properties and antioxidant capacities of commercial raspberry varieties. **Journal of Fuctional Foods**, v. 5, p. 508-515, 2013.

CILLA, A.; BOSCH, L.; BARBERÁ, R.; ALEGRÍA, A. Effect of processing on the bioaccessibility of bioactive compounds – A review focusing on carotenoids, minerals, ascorbic acid, tocopherols and polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, In press, 2016.

CONTRERAS-CALDERÓN, J.; CALDERÓN-JAIMES, L; GUERRA-HERNÁNDES, E.; GARCÍA-VILLANOVA B. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research Internatinal**, v. 44, p. 2047-2053, 2011.

CORREA-BETANZO, J.; ALLEN-VERCOE, E.; MCDONALD; J.; SCHOETER, K; CORREDIG, M; PALIYATH,G. Stability and biological activity of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) polyphenols during simulated in vitro gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 165, p. 522-531, 2014.

COSTA, A. G. V.; GARCIA-DIAZ, D. F.; JIMENEZ, P.; SILVA, P. I. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red–black berries. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p. 539-549, 2013.

COSTA, G. A.; MERCADANTE, A. Z. In vitro bioaccessibility of free and esterified carotenoids in cajá frozen pulp-based beverages. **Journal of Food Composition and Analysis**. In press, 2017.

DUTRA, R. L.; DANTAS, A. M.; MARQUES, D. de A.; BATISTA, J. D. F.; MEIRELES, R. L. A.; CORDEIRO, A. M. T. M.; MAGNANI, M.; BORGES, G. da S. C. Bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic compounds in frozen pulps of Brazilian exotic fruits exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 100, p. 650-657, 2017.

FRAGOSO, M. F.; ROMUALDO, G. R.; RIBEIRO, D. A.; BARBISAN, L. F. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) feeding attenuates dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. **Food Chemical Toxicology**, v. 58, p. 68–76, 2013.

FREITAS, R. V. S.; SOUZA, P. A.; COELHO, E. L.; SOUZA, F. X.; BESERRA, H. N. B. R. Storage of mombin fruits coated with cassava starch and pvc film. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 1, p. 244-249, 2017.

GARZÓN, G. A.; NARVÁEZ, C. E.; RIEDL, K. M.; SCHWARTZ, S. J. Chemical composition, anthocyanins, non-anthocyanin phenolics and antioxidante activity of wild bilberry (*Vaccinium meridionale* Swartz) from Colombia. **Food Chemistry**, v. 122, p. 980-986, 2010.

GEORGE, V.; KUMAR, D. R. N.; SURESH, P. K.; KUMAR, R. A. Antioxidant, DNA protective efficacy and HPLC analysis of *Annona muricata* (soursop) extracts. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 4, p. 2328-2335, 2015.

GORDON, A.; CRUZ, A. P. G.; CABRAL, M. C.; FREITAS, S. C. de; TAXI, C. M. A. D.; DONANGELO, C. M.; MATTIETTO, R. de A.; FRIEDRICH, M.; MATTA, V. M. de; MARX, F. Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of Açaí fruits (*Euterpe oleraceae* Mart.) during ripening. **Food Chemistry**, v. 133, p. 256-263, 2012.

HITHAMANI, G., SRINIVASAN, K. Effect of domestic processing on the polyphenol content and bioaccessibility in finger millet (*Eleusine corocana*) and pearl millet (*Pennisetum glaucum*). **Food Chemistry**, v. 164, p. 55–62, 2014a.

HITHAMANI, G., SRINIVASAN, K.. Bioaccessibility of polyphenols from wheat (*Triticum aestivum*), sorghum (*Sorghum bicolor*), green gram (*Vigna radiate*), and chickpea (*Cicer arietinum*) as influenced by domestic food processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 11170–11179, 2014b.

IBGE. Área Territorial Brasileira: IBGE, 2017.

IBGE. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Brasília: IBGE, 2016.

IBGE. Mapa de Biomas e de Vegetação. Brasília: IBGE, 2004.

JEONG, J. H.; JUNG, H.; LEE, S. R.; LEE, H. J.; HWANG, K. T.; KIM, T. Y. Anti-oxidant, antiproliferative and anti-inflammatory activities of the extracts from black raspberry fruits and wine. **Food Chemistry**, v. 123, n.2, p. 338–344, 2010.

JESUS, A., L. T.; LEITE, T. S.; CRISTIANINI, M. High isostatic pressure and thermal processing of açaí fruit (*Euterpe oleracea* Martius): Effect on pulp color and inactivation of peroxidase and polyphenol oxidase. **Food Research International**, v. 105, p. 853-862, 2018.

JIMÉNEZ, V. M.; GRUSCHWITZ, M.; SCHWEIGGERT, R. M.; CARLE, R.; ESQUIVEL, P. Identification of phenolic compounds in soursop (*Annona muricata*) pulp by high-performance liquid chromatography with diode array and electrospray ionization mass spectrometric detection. **Food research International**, v. 65, p. 42-46, 2014.

KAMILOGLU, S.; CAPANOGLU, E. Investigating the in vitro bioaccessibility of polyphenols in fresh and sun-dried figs (*Ficus carica* L.). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 2621-2629, 2013.

KANG, J.; THAKALI, K. M.; XIE, C.; KONDO, M.; TONG, Y.; OU, B.; JESEN, G.; MEDINA, M. B.; SCHAUSS, A. G.; WU, X. Bioactivities of açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. **Food Chemistry**, v. 133, p. 671–677, 2012.

KAUME, L.; HOWARD, L. R.; DEVAREDDY, L. The blackberry fruit: a review on its composition and chemistry, metabolism and bioavailability, and health benefits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 5716-5727, 2011.

KOSINSKA-CAGNAZZO, A.; DIERING, S.; PRIM, D.; ANDLAUER, W. Identification of bioaccessible and uptaken phenolic compounds from strawberry fruits in in vitro digestion/Caco-2 absorption model. **Food Chemistry**, v. 170, p. 288-294, 2015.

KULA, M.; KRAUZE-BARANOWSKA, M. *Rubus occidentalis*: the black raspberry—its potential in the prevention of cancer. **Nutrition and Cancer**, v. 68, n.1, p. 18–28, 2016b.

KULA, M.; MAJDAN, M.; GLÓD, D.; KRAUZE-BARANOWSKA, M. Phenolic composition of fruits from different cultivars of red and black raspberries grown in Poland. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 52, p. 74-82, 2016a.

LEITE, A. V.; MALTA, L. G.; RICCIO, M. F.; EBERLIN, M. N.; PASTORE, G. M.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. Antioxidant potential of rat plasma by administration of freeze-dried jabuticaba peel (*Myrciaria jabuticaba* Vell Berg). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 2277-2283, 2011.

LIANG, L.; WU, X.; ZHAO, T.; ZHAO, J.; LI, F.; ZOU, Y.; MAO, G.; YANG, L. In vitro bioaccessibility and antioxidant activity of anthocyanins from mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) following simulated gastro-intestinal digestion. **Food Research International**, v. 46, p. 76-82, 2012.

LÓPEZ-VIDAÑA, E. C.; ROJANO, B. A.; FIGUEROA, I. P.; ZAPATA, K.; CORTÉS, F. B. Evaluation of the sorption equilibrium and effect of drying temperature on the antioxidant capacity of the jaboticaba (*Myrciaria couliflora*). **Chemical Engineering Communications**, v. 203, p. 809-821, 2016.

LOURENÇO NETO, M.; AGRA, K. L.; SUASSUNA FILHO, J.; JORGE, F. E. TDDFT calculations and photoacoustic spectroscopy experiments used to identify phenolic acid functional biomolecules in Brazilian tropical fruits *in natura*. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 193, p. 249-257, 2018.

MALTA, L.G.; TESSARO, E. P.; EBERLI, M.; PASTOE, G. M.; LI, R. H. Assessment of antioxidant and antiproliferative activities and the identification of phenolic compounds of exotic Brazilian fruits. **Food Research International**, v. 53, p. 417-425, 2013.

MCDUGALL, G. J.; ROSS, H. A.; IKEJI, M.; STEWART, D. Berry extracts exert different antiproliferative effects against cervical and colon cancer cells grown in vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 9, p. 3016-3023, 2008.

MELO, E. A., MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; ARAÚJO, C. R. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante de polpas congeladas de frutas. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 19, n. 1, p. 67-72, 2008.

MIKULIC-PETKOVSEK, M.; SLANTAR, A.; STAMPAR, F.; VEBERIC, R. HPLC–MSn identification and quantification of flavonol glycosides in 28 wild and cultivated berry species. **Food Chemistry**, v. 135, p. 2138-2146, 2012.

MONTEIRO, E. R.; MANGOLIN, C. A.; NEVES, A. F.; ORASMO, G.R.; SILVA, J.G.M.; MACHADO, M. P. S. Genetic diversity and structure of populations in *Pilosocereus gounellei* (F.A.C.Weber ex K.Schum.) (Cactaceae) in the Caatinga biome as revealed by heterologous microsatellite primers. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 58, p. 7-12, 2015.

MOSELE, J. I.; MACIÀ, A.; ROMERO, M.; MOTILVA, M.; RUBIÓ, L. Application of in vitro gastrointestinal digestion and colonic fermentation models to pomegranate products (juice, pulp and peel extract) to study the stability and catabolism of phenolic compounds. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 529-540, 2015.

MOZE, S.; POLAK, T.; GASPERLIN, L.; KORON, D.; VANZO, A.; ULRICH, N. P.; ABRAM, V. Phenolics in Slovenian Bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.) and Blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). **Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 6998-7004, 2011.

NASCIMENTO, T. P.; BETTIOL NETO, J. E.; PEREIRA, R. A.; CASTRO, I. A.; CHAGAS, E. A.; LAJOLO; F. M.; CORDENUNSI, B. R. Effect of thinning on flower and fruit and of edible coatings on postharvest quality of jabuticaba fruit stored at low temperature. **Food Science and Technology**, v. 3, n. 3, p. 424-433, 2013.

NERII-NUMA, I. A.; SANCHO, R. A. S.; PEREIRA, A. P. A; PASTORE, G. M. Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. **Food Research International**, v. 103, p. 345-360, 2018.

NEVES, L. C.; TOSIN, J. M.; BENEDETTE, R. M.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Post-harvest nutraceutical behaviour during ripening and senescence of 8 highly perishable fruit species from the Northern Brazilian Amazon region. **Food Chemistry**, v. 174, p. 188-196, 2015.

NORATTO, G. D.; ANGEL-MORALES, G.; TALCOTT, S. T.; MERTENS-TALCOTT, S. U.. Polyphenolics from açai (*Euterpe oleracea* Mart.) and red muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) protect human umbilical vascular endothelial cells (HUVEC) from glucose- and lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation and target microRNA-126. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 7999–8012, 2011.

NUNES, C. R.; BERNARDES, N. R.; GLÓRIA, L. L.; BARBOSA, J. B.; PEREIRA, S. M. F.; OLIVEIRA, D. B. Atividade antioxidante e o teor de taninos e fenóis totais dos frutos de *Annona muricata* L. **Vértices**, v. 15, p. 93-110, 2013.

OGAH, O.; WATKINS, C. S.; UBI, B. E.; ORANGUZIE, N. C.; Phenolic Compounds in Rosaceae Fruit and Nut Crops. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 9369-9386, 2014.

OLIVEIRA, T. B.; ROGERO, M. M.; GENOVESE, M. I. Polyphenolic-rich extracts from cocoa (*Theobroma cacao* L.) and cupuassu (*Theobroma grandiflorum* Willd. Ex Spreng. K. Shum) liquors: A comparison of metabolic effects in high-fat fed rats. **Pharma Nutrition**, v. 3, p. 20-28, 2015.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; TALCOTT, S. T.; SAFE, S.; TALCOTT, S. M. Absorption and biological activity of phytochemical-rich extracts from açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and oil *in vitro*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 3593–3600, 2008.

PADILHA, C.V.S., MISKINIS, G.A., SOUZA, M.E.A.O., PEREIRA, G.E., OLIVEIRA, D. BORDIGNON-LUIZ, M.T.; LIMA, M.D.S. Rapid determination of flavonoids and phenolic acids in grape juices and wines by RP-HPLC/DAD: Method validation and characterization of commercial products of the new Brazilian varieties of grape. **Food Chemistry**, v. 228, p. 106-115, 2017.

PALACIOS, I.; LOZANO, M.; MORO, C.; D'ARRIGO, M.; ROSTAGNO, M. A.; MARTÍNEZ, J. A.; GARCÍA-LAFUENTE, A.; GUILLAMÓN, E.; VILLARES, A. Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. **Food Chemistry**, v. 128, p. 674-678, 2011.

PANDEY, R.; MAHAR, R.; HASANAIN, M.; SHUKLA, S. K.; SARKAR, J.; RAMESHKUMAR, K. B.; KUMAR, B. Rapid screening and quantitative determination of bioactive compounds from fruit extracts of *Myristica* species and their in vitro antiproliferative activity. **Food Chemistry**, v. 211, p. 483-493, 2016.

PAVAN, V.; SANCHO, R. A. S.; PASTORE, G.M. The effect of in vitro digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (*Carica papaya*, *Artocarpus heterophyllus* and *Annona marcgravii*). **LWT-Food Science and Technology**, v. 59, p.1247-1251, 2014.

PAZ, M.; GÚLLON, P.; BARROSO, M. F.; CARVALHO, A. P., DOMINGUES, V. F.; GOMES, A. M.; LONGHINOTTI, E.; DELERUE-MATOS, C. Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: evaluation of bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 172, p. 462-488, 2015.

PEIXOTO, F. M.; FERNANDES, I.; GOUVÊA, A. C. M. S.; SANTIAGO, M. C. P. A.; BORGUINI, R. G.; MATEUS, N.; FREITAS, V.; GODOY, R. L. O.; FERREIRA, I. M. L. V. O. Simulation of *in vitro* digestion coupled to gastric and intestinal transport models to estimate absorption of anthocyanins from peel powder of jabuticaba, jamelão and jambo fruits. **Journal of Functional Foods**, v. 24, p. 373-381, 2016.

PEREIRA, M. C.; STEFFENS, R. S.; JABLONSKI, A.; HERTZ, P. F.; RIOS, A. O.; VIZZOTTO, M.; FLÔRES, S. H. Characterization and antioxidant potential of brazilian fruits from the myrtaceae family. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 3061-3067, 2012.

PINACHO, R.; CAVERO, R. Y.; ASTIASARÁN, I.; ANSORENA, D.; CALVO, M. I. Phenolic compounds of blackthorn (*Prunus spinosa* L.) and influence of *in vitro* digestion on their antioxidant capacity. **Journal of Functional Foods**, v. 19, p. 49-62, 2015.

POPOVIĆ, D.; DUKIĆ, D.; KATIĆ, V.; JOVIĆ, Z.; JOVIĆ, M.; LALIĆ, J.; GOLUBOVI, I.; STOJANOVIĆ, S.; ULRIH, N. P.; STANKOVIĆ, M.; SOKOLOVIĆ, D. Antioxidant and proapoptotic effects of anthocyanins from bilberry extract in rats exposed to hepatotoxic effects of carbon tetrachloride. **Life Sciences**, v. 157, p. 168-177, 2016.

POULOSE, S.M.; FISHER, D. R.; BIELINSKI, D. F.; GOMES, S.M.; RIMANDO, A. M.; SCHAUSS, A. G. Restoration of stressor-induced calcium dysregulation and autophagy

inhibition by polyphenolics-rich acai (*Euterpe* spp.) fruit pulp extracts in rodent brain cells *in vitro*. **Nutrition**, v. 30, p. 853–862, 2014.

PUGLIESE, A. G.; TOMAS-BARBERAN, F. A.; TRUCHADO, P.; GENOVESE, M. I.; Flavonoids, proanthocyanidins, vitamin C, and antioxidant activity of *Theobroma grandiflorum* (Cupuassu) pulp and seeds. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 2720-2728, 2013.

RAMOS, A.S.; SOUZA, R. O. S.; BOLETI, A. P. de A.; BRUGINSKI, E. R. D.; LIMA, E. S.; CAMPOS, F. R.; MACHADO, M. B. Chemical characterization and antioxidant capacity of the araçá-pera (*Psidium acutangulum*): An exotic Amazon fruit. **Food Research International**, v. 75, p. 315-327, 2015.

RAO, A. V.; SNYDER, D. M. Raspberries and Human Health: A Review. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 3871-3883, 2010.

RAUDONE, L.; BOBINAITE, R.; JANULIS, V.; VISKELIS, P.; TRUMBECKAITE, S. Effects of raspberry fruit extracts and ellagic acid on respiratory burst in murine macrophages. **Food and Function**, v. 5, n. 6 p. 1167–1174, 2014.

REIN, M. J.; RENOUF, M.; CRUZ-HERNANDEZ, C.; ACTIS-GORETTA, L.; THAKKAR, S. K.; DA SILVA PINTO, M. Bioavailability of bioactive food compounds: A challenging journey to bioefficacy. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 75, p. 588–602, 2013. REYNERTSON, K. A.; WALLASE, A. M.; ADACHI, S.; GIL, R. R.; YANG, H.; BASILE, M. J.; D'ARMIENTO, J.; WEINSTEIN, I. B.; KENNELLY, E. J. Bioactive Depsides and Anthocyanins from Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 8, p. 128-130, 2006.

RODRÍGUES-ROQUE, M. J.; ROJAS-GRAÜ, M. A.; ELEZ-MARTINES, P.; MARTÍNBELLOSO, O. Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by in vitro gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 136, p. 206-212, 2013.

ROJANO, B. A.; VAHOS, I. C. Z.; ARBELÁEZ, A. F. A.; MARTÍNEZ, A. J. M.; CORREA, F. B. C.; CARVAJAL, L. G. Polifenoles y actividad antioxidante del fruto liofilizado de palma naidi (Açaí Colombiano) (*Euterpe oleracea* Mart.). **Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín**, v. 64, p. 6213–6220, 2011.

RUFINO M. S.M.; ALVES R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNES, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996-1002, 2010.

RUFINO M. S.M.; ALVES R. E; FERNANDES, F. A. N.; ALVES; BRITO, E. S. Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruits extracts. **Food Research International**, v. 44, p. 2072-2075. 2011.

RUFINO, M. D. S. M., ALVES, R. E., BRITO, E. S. DE, MORAIS, S. M. DE, SAMPAIO, C. D. G., PÉREZ-JIMÉNEZ, J., SAURA-COLIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). **Comunicado Técnico Embrapa**, v. 125, p. 1–4, 2006.

SAHAN, Y.; GURBUZ, O.; GULBAS, M.; DEGIRMENCIOGLU, N.; BEGENIRBAS, A. Phenolics, antioxidant capacity and bioaccessibility of chicory varieties (*Cichorium* spp.) grown in Turkey. **Food Chemistry**, v. 2017, p. 483-489, 2017.

SANTOS, G. M.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; FIGUEIREDO, R. W.; COSTA, J. M. C.; FOSECA, A. V. V. Antioxidant activity and correlations with bioactive components from commercial products of cupuaçu. **Ciência Rural**, In press, 2010.

SCHIASSI, M. C. E. V.; SOUZA, V. R., LAGO; A. M. T.; CAMPOS, L. G.; QUEIROZ, F. Fruits from the Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. **Food Chemistry**, v. 245, p. 305-314, 2018.

SEERAM, N. P.; ADAMS, L. S.; ZHANG, Y.; LEE, R.; SAND, D.; SCHEULLER, H. S.; HEBER, D. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 25, p. 9329-9339, 2006.

SENGUL, H.; SUREK, E.; NILUFER-ERDIL, D. Investigating the effects of food matrix and food components on bioaccessibility of pomegranate (*Punica granatum*) phenolics and anthocyanins using an in-vitro gastrointestinal digestion model. **Food Research International**, v. 62, p. 1069-1079, 2014.

SILVA, S. I.; OLIVEIRA, A. F. M.; NEGRI, G.; SALATINO, A. Seed oils of Euphorbiaceae from the Caatinga, a Brazilian tropical dry forest. **Biomass and Bioenergy**, v. 69, p. 124-134, 2014.

SOUZA, F. X. S., BLEINCHER, E. Comportamento da cajazeira enxertada sobre umbuzeiro em Pacajus-CE. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 790-792, 2002.

SOUZA, V. R. S.; PEREIRA, P. A. P.; PINHEIRO, A. C. M.; LIMA, L. C. O.; PIO, R.; QUEIROZ, F. Analysis of the subtropical blackberry cultivar potential in jelly processing. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 9, p. 1776-1781, 2014a.

SOUZA, V. R.; PEREIRA, P. A. P.; SILVA, T. L. T.; LIMA, L. C. O.; PIO, R.; QUEIROZ, F. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. **Food Chemistry**, v. 154, p. 362-368, 2014b.

SUN, S.; LIU, J.; ZHOU, N.; ZHU, W.; DOU, Q. P.; ZHOU, K. Isolation of three new annonaceous acetogenins from Graviola fruit (*Annona muricata*) and their anti-proliferation on human prostate cancer cell PC-3. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, p. 4382-4385, 2016.

TADAPANENI, R. K.; DARYEL, H.; KRISHNAMURTHY, K.; EDIRISINGHE, I.; BURTON-FREEMAN. High-Pressure Processing of Berry and Other Fruit Products: Implications for Bioactive Compounds and Food Safety. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 3877-3885, 2014.

TAGLIAZUCCHI, D., VERZELLONI, E.; BERTOLINI, D.; CONTE, A. In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. **Food Chemistry**, v. 120, p.599 – 606, 2010.

TEXEIRA, M. F. S.; ANDRADE, J. S.; FERNANDES, O. C. C.; DURÁN, N.; LIMA FILHO, J. L. Quality attributes of Cupuaçu Juice in response to treatment with Crude Enzyme extract produced by *Aspergillus japonicus* 586. **Enzyme Research**, v. 2011, p. 1-6, 2011.

TIBURSKI, J. H.; ROSENTHAL, A.; DELIZA, R.; GODOY, R. L. O.; PACHECO, S. Nutritional properties of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) pulp. **Food Research International**, v. 44, p. 2326-2331, 2011.

TRENTIN, D. S.; GIORDANI, R. B.; ZIMMER, K. R.; SILVA, A. G.; SILVA, M. V.; CORREIA, M. T. S.; BAUMVOUL, I. J. R.; MACEDO, A. J. Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, p.317-335, 2011.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, p. 816-823, 2008.

WESTON, R. J. Bioactive products from fruit of the feijoa (*Feijoa sellowiana*, *Myrtaceae*): A review. **Food Chemistry**, v. 121, p. 923-926, 2010.

WOOTTON-BEARD, P.C.; RYAN, L. A beetroot juice shot is a significant and convenient source of bioaccessible antioxidants. **Journal of Functional Food**, v. 3, p. 329-334, 2011.

YAMAGUCHI, K. K. L.; PEREIRA, L. F. R.; LAMARÃO C. V.; LIMA, E.S.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Amazon acai: Chemistry and biological activities: A review. **Food Chemistry**, v. 179, p. 137-151, 2015.

YOU, L.; ZHAO, M.; REGENSTEIN, J., M.; REN, J. Changes in the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates during a simulated gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 120, p. 810-816, 2010.

ZIBERNA, L.; LUNDER, M.; MOZE, S.; VANZO, A.; TRAMER, F.; PASSAMONTI, S.; DREVENSEK, G. Acute cardioprotective and cardiotoxic effects of bilberry anthocyanins in ischemia-reperfusion injury: beyond concentration-dependent antioxidant activity. **Cardiovascular Toxicology**, v. 10, p. 283-294, 2010.

ZIELINSKI, A. A. F.; ÁVILA, S.; ITO, V.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G.; HAMINIUL, C. W. I. The association between chromaticity, phenolics, carotenoids, an *in vitro* antioxidant activity of frozen fruit in Brazil : An application of chemometrics. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 4, p. C510-C516, 2014.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com a realização desta dissertação permitiram a elaboração de um artigo científico.

ARTIGO: Bioaccessibility of phenolics compounds in native and exotic frozen pulps explored in Brazil using a digestion model coupled with a simulated intestinal barrier

Food Chemistry 274 (2019) 202–214



Bioaccessibility of phenolic compounds in native and exotic frozen pulps explored in Brazil using a digestion model coupled with a simulated intestinal barrier



Aline Macedo Dantas^a, Isis Meireles Mafaldo^a, Priscila Mayara de Lima Oliveira^a, Marcos dos Santos Lima^b, Marciane Magnani^c, Graciele da Silva Campelo Borges^{a,*}

^a Department of Food Technology, Center of Technology and Regional Development, Federal University of Paraíba, Campus I, 58051-900 João Pessoa, Paraíba, Brazil

^b Institute Federal of Sertão Pernambucano, Department of Food Technology, Campus Petrolina, Rod. BR 407 km 08, S/N, Jardim São Paulo, CEP 56314-520 Petrolina, PE, Brazil

^c Laboratory of Microbial Processes in Foods, Department of Food Engineering, Center of Technology, Federal University of Paraíba, Campus I, 58051-900 João Pessoa, Paraíba, Brazil

Bioaccessibility of phenolic compounds in native and exotic frozen pulps explored in Brazil using a digestion model coupled with a simulated intestinal barrier

Running Title: Bioaccessibility of fruit-phenolic in frozen pulps

Aline Macedo Dantas¹, Isis Meireles Mafaldo¹, Priscila Mayara de Lima Oliveira¹, Marcos dos Santos Lima², Marciane Magnani³, Graciele da Silva Campelo Borgess^{1 *}

¹*Department of Food Technology, Center of Technology and Regional Development, Federal University of Paraíba, Campus I, 58051-900, João Pessoa, Paraíba, Brazil.*

²*Institute Federal of Sertão Pernambucano, Department of Food Technology, Campus Petrolina, Rod. BR 407 km 08, S/N, Jardim São Paulo, CEP 56314-520 Petrolina, PE, Brazil*

³*Laboratory of Microbial Processes in Foods, Department of Food Engineering, Center of Technology, Federal University of Paraíba, Campus I, 58051-900, João Pessoa, Paraíba, Brazil*

* Corresponding author: Department of Food Technology, Federal University of Paraíba, Campus IV, 58051-900, João Pessoa, Brazil e-mail: gracieleborges@gmail.com, phone number: + 55 83 3216 7576.

Abstract

The bioaccessibility of phenolics and antioxidant activity were determined in açai, cupuaçu, blackberry, blueberry, jabuticaba, raspberry, cajá and soursop frozen pulps (FPs) using a digestion model coupled with a simulated intestinal barrier. Cyanidin 3-glucoside (6.56%) and pelargonidin 3-glucoside (28.33%) were bioaccessible in blueberry and raspberry. Catechin had the highest bioaccessibility in blueberry (270.71%), blackberry (137.51%), and jabuticaba (99.52%), while the highest bioaccessibility of epicatechin (153.59%) and syringic acid (147.14%) was observed in blueberry. Procyanidin B1 presented the highest bioaccessibility in cajá (102.79%) and blackberry (87.62%) and contributed to the high DPPH[•] scavenging activity observed in these FPs. The bioaccessible fraction in soursop consisted of caffeic (8.18%), p-coumaric (7.36%), caftaric (7.96%) and chlorogenic acids (11.08%), and these acids were correlated with the iron reduction capacity of this FP. Our study assessed the bioaccessible phenolics in several FPs and showed that those found in cajá and blackberry FPs possess the highest antioxidant activity.

Keywords: antioxidant, dialysis, exotic fruit, in vitro digestion

1 Introduction

Several studies have shown the benefits of fruit consumption for a healthy diet; fruits are valuable sources of bioactive compounds, especially phenolic compounds (Káras, Jakubzyk, Szymanowska, Zlotek, & Zielinska, 2017). The beneficial effects of phenolic compounds are mainly related to their antioxidant activity; antioxidants have a positive impact on several chronic conditions, such as obesity, diabetes, cancer, and cardiovascular and neurodegenerative diseases (Costa, Garcia-Diaz, Jimenez, & Silva, 2013).

Brazil is a large tropical country with high biodiversity in its different biomes. Native or exotic fruits grown in Brazil have gained popularity in the market partly due to their pleasant flavors and color, but mostly because they are considered rich sources of bioactive compounds (Paz et al., 2015; Carvalho, Silveira, Mattietto, Oliveira, & Godoy, 2017).

The majority of the production of these fruit species of interest to the food industry occur in the Amazon Forest, Cerrado, Atlantic Forest and Caatinga Brazilian biomes (Costa et al., 2013; Paz et al., 2015), which correspond to 49.29%, 23.92%, 13.04%, and 9.92% of the country's territory, respectively (IBGE, 2016).

In recent years, fruits produced or explored in Brazil have been extensively studied because of their remarkable antioxidant activity, which is primarily associated to high concentrations of phenolic compounds (Clerici & Carvalho-Silva, 2011; Dutra et al., 2017; Neri-Numa Sancho, Pereira, & Pastore, 2018). Studies have reported great contents of phenolics and antioxidant activity in Brazilian red-purple fruits such as açaí, jabuticaba and jambolão fruit (Costa et al., 2013; Jesus, Leite, & Cristianini, 2018), as well as in yellow fruits from Caatinga biome such as mangaba, seriguela, umbu-cajá fruit and their frozen pulps (FP) (Dutra et al., 2017). Other fruits, typical from Amazon biome such as cupuaçu (Barros, García-Villalba, Tomás-Barberán,

& Genovese, 2016), achachairu, araçá-boi and bacaba fruit (Neri-Numa et al., 2018) have also received attention because the high content of bioactive compounds.

Fruits are highly perishable due the action of enzymes and spoiling microorganisms; thus, pulp processing has been the primary means to allow the worldwide exportation of Brazilian fruits (Clerici et al., 2011; Jesus et al., 2018; Neri-Numa et al., 2018). Frozen pulps (FPs) are a practical alternative to include in bakery and dairy products and are widely used in the preparation of beverages (Costa, & Mercadante, 2018). An earlier study reported that pulp processing may increase the bioaccessibility of free phenolic compounds in the mangaba and umbu-cajá fruit, but decrease the free phenolic compounds in siriguela fruit (Dutra et al., 2017). To provide health benefits, the compounds of interest must be released from the food matrix post-ingestion and become bioaccessible in the gastrointestinal tract; then, the compounds must undergo metabolism and reach the target tissue of action (Rein, Renouf, Cruz-Hernandez, Actis-Goretta, Thakkar, & Pinto, 2013). The frequently used *in vitro* gastrointestinal digestion models use enzymes, bile salts, and sometimes mucin or other biological molecules to assess the compound bioaccessible (Tagliazucchi, Verzelloni, Bertolini, & Conte, 2010; Schulz, et al., 2017). However, these models do not simulate the mobility of compounds through the intestinal barrier.

Results from *in vitro* digestion models using dialysis membranes to simulate the intestinal barrier in order to determine bioaccessibility correlate well with the results from *in vivo* approaches. Thus, compounds able to cross the simulated intestinal barrier can be considered bioaccessible (Rodríguez-Roque, Rojas-Graü, Elez-Martines, & Martín-Belloso, 2013). Based on this premise, compared to that of other models, the application of *in vitro* digestion models using dialysis membranes can provide more reliable information about the potential benefits of bioactive compounds (e.g., fruit phenolic compounds) that are present in food matrices (Bouayed, Hoffmann, & Bohn, 2011; Mosele, Macià, Romero, Motilva, & Rubió, 2015;

Peixoto et al., 2016; Rodríguez-Roque et al., 2013). However, few studies have focused on bioaccessibility of frozen pulps of fruits produced on Brazilian biomes using the in vitro digestion coupled with a simulated intestinal barrier (Dutra et al., 2017).

Considering these aspects, the present study evaluated the bioaccessibility of phenolic compounds in eight FPs explored in four distinct Brazilian biomes. The antioxidant activity of the bioaccessible fraction of each frozen pulp was also determined.

2. Material and Methods

2.1. Chemicals and reagents

Methanol and hydrochloric acid (HCl; 37% w/w) were obtained from J.T. Baker (Phillipsburg, USA) and 2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) was supplied by Sigma-Aldrich Chemical, S. A. (Milano, Italy). The 2,2'-diphenyl-2-picrylhydrazyl hydrate (DPPH') and hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxyl acid (Trolox) reagents and pepsin, α -amylase, pancreatin, glycodeoxycholate, taurodeoxycholate, and taurocholate were purchased from Sigma-Aldrich Chemical, S. A. (Hamburg, Germany).

Standards of phenolic compounds for HPLC were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) and included those of catechin, epicatechin, epicatechin gallate, epigallocatechin gallate, procyanidin B1, procyanidin B2, procyanidin A2, quercetin 3-glucoside, rutin, kaempferol glucoside, malvidin 3-glucoside, malvidin 3,5-diglucoside, cyanidin 3-glucoside, cyanidin 3,5-diglucoside, pelargonidin 3-glucoside, delphinidin 3-glucoside, peonidin 3-glucoside, petunidin 3-glucoside, gallic acid, caffeic acid, p-coumaric acid, syringic acid, caftaric acid, chlorogenic acid, trans-resveratrol, cis-resveratrol, naringenin and hesperidin. Other chemicals used in the experiments were of analytical reagent grade.

2.2. Frozen pulp samples

This study evaluated FP from fruits cultivated or explored in Brazilian biomes as follows: açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) from the Amazon Forest; blackberry (*Rubus spp.*), blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.), jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O. Berg) and raspberry (*Rubus idaeus*) from the Atlantic Forest; cajá (*Spondias mombin* L.) from the Caatinga; and soursop (*Annona muricata*) from the Cerrado. FP of açaí, cupuaçu, jaboticaba, cajá and soursop were donated by an agroindustrial company located in Northeast Brazil (João Pessoa, Paraíba, Brazil). FPs of blackberry, blueberry and raspberry were acquired from an agroindustrial company located in South Brazil (Caxias do Sul city, Rio Grande do Sul, Brazil). All FPs were in accordance with the parameters of identification and quality required by Brazilian Legislation (Brasil, 2000; Brasil, 2016) and were stored at -18°C until the time of the analysis.

2.3. *In vitro* gastrointestinal digestion model coupled with a simulated intestinal barrier

The *in vitro* digestion procedure (mimicking physiological gastrointestinal conditions) that was used in the present study followed the procedures previously described by Dutra et al. (2017). The system included three sequential phases (oral, gastric and small intestine, which included dialysis). In the oral phase, 5 mL of saline solution (2.38 g of Na₂HPO₄, 0.19 g of KH₂PO₄, 8 g of NaCl and 200 U/L α -amylase) was mixed with 50 mL of each fruit pulp. The mixture was shaken for 10 min at 37 $\pm$ 2 °C at 90 turns. Then, to simulate the gastric digestion, 13 mg of pepsin was added to the mixture, and the pH was adjusted to pH 2 with 0.1 mol L⁻¹ HCl. After incubation of this mixture at 37 $\pm$ 2 °C in the shaker at 90 turns for 2 h, the mixture was cooled

in an ice bath. Finally, the mixture was subjected to simulated small intestinal digestion using a cellulose dialysis membrane (molecular weight cutoff of 12,000 Da) filled with NaHCO_3 (0.5 mol L^{-1}). The membrane was placed in the gastric-digested samples until the pH reached 5.0. Next, a solution containing pancreatin and bile salts were added, and the mixture was incubated at $37 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ and 90 turns for 2 h. The dialysis membrane was removed after completion of the intestinal phase and was rinsed with distilled water. The fraction able to cross the dialysis membrane (simulated intestinal barrier) was considered the bioaccessible fraction and therefore supposedly available for absorption (Dutra et al., 2017). The results, expressed as percentages, were determined as follows (Eq. 1):

$$\text{Bioaccessibility (\%)} = (BC \text{ dialyzed} / BC \text{ non-dialyzed}) \times 100$$

(1)

where *BC dialyzed* corresponds to the phenolic compound concentration in the dialyzed fractions (bioaccessible fraction) and *BC non-dialyzed* is the phenolic compound concentration in FP.

2.4. Extraction of phenolic compounds

Samples (5 g) of pulp, dialyzed fraction (IN) and non-dialyzed fraction (OUT) were added to 10 mL of methanol, and the pH was reduced to 2 by the addition of 0.1 mol L^{-1} HCl. Samples were submitted to extraction under ultrasonication at 40 kHz for 30 min at $25 \text{ }^\circ\text{C}$ (UNIQUE, model USC-1800, Brazil). Afterwards, the extract was centrifuged at $6000 \times g$ for 15 min (SL-701 centrifuge; Solab, São Paulo, Brazil) and the supernatant (phenolic extract) was collected. Then, the phenolic extract solvent was concentrated using a rotary evaporator at $35 \text{ }^\circ\text{C}$ (Fisatom

802, São Paulo, Brazil). A 1 mL aliquot of extract was filtered through a 0.45 μm syringe filter (PTFE) and used for quantification of phenolic compounds using high-performance liquid chromatography (HPLC). The same extract were used in assays of antioxidant activity.

2.5 Antioxidant activity assays

Different methods were used to evaluate the antioxidant activity of the FP and dialyzed fraction. The ability of the antioxidants to scavenge DPPH $^{\bullet}$ free radicals was analyzed using the method described by Brand-Williams, Cuvelier, and Berset (1995), with some modifications. A solution of 0.06 mmol/L DPPH $^{\bullet}$ was prepared by diluting the compound in methanol. Subsequently, a 2.9 mL aliquot of the DPPH $^{\bullet}$ solution was added to 100 μL of pulp extract at varying concentrations and after 30 min, the absorption was measured at 515 nm using a Cary 60 spectrophotometer (Agilent Technologies, Malaysia). The standard curve was created with Trolox, and the results were expressed in μM Trolox 100 g^{-1} dry weight (DW). The antioxidant capacity was also evaluated for the concentration of the antioxidant required to reduce the initial amount of free radicals by 50% (EC_{50}), and the results were expressed in g frozen fruit pulp g^{-1} DPPH $^{\bullet}$. The ability of the antioxidants to reduce iron was determined using the FRAP (ferric reducing antioxidant power) method, according to the protocol described by Rufino et al., 2006, with modifications. The FRAP reagent was initially prepared with 0.3 mol L^{-1} acetate buffer (pH 3.6), 10 mmol L^{-1} TPTZ (2,4,6-tris (2-pyridyl) -s-triazine) in a 40 mmol L^{-1} HCl solution with 20 mM FeCl_3 . An aliquot of 90 μL of the extract was added to 270 μL of distilled water and 2.7 mL of the FRAP reagent. The mixture was stirred and placed in a water bath for 30 min at 37 $^{\circ}\text{C}$. The absorbance was measured at 595 nm using a Cary 60 spectrophotometer (Agilent Technologies, Malaysia). The standard curve was created with Trolox, and the results were expressed in μM TEAC 100 g^{-1} dry weight (DW).

2.6 Determination of phenolic compounds by RP-HPLC/DAD

The phenolic compounds in frozen pulps and the dialyzed fraction (IN) and non-dialyzed fraction (OUT) were identified and quantified on a high-performance liquid chromatograph (HPLC; Agilent 1260 Infinity LC, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). The chromatograph was equipped with a solvent quaternary pump (model G1311C), degasser, autosampler (model G1329B), thermostatted column compartment (model G1316A) and diode array detector (DAD; model G1315D). Chromatographic separation of phenolic compounds was performed in a Zorbax Eclipse Plus RP-C18 column (100 × 4.6 mm, 3.5 µm) and the Zorbax C18 pre-column (12.6 x 4.6 mm, 5 µm). The column temperature was set at 35°C. Data acquisition was performed using OpenLAB CDS ChemStation Edition™ software (Agilent Technologies).

The extracts obtained as previously described (item 2.4) were injected 20 µL. The mobile phases were composed of water acidified with 0.1 M phosphoric acid (pH = 2.0, phase A) and acidified methanol with 0.5% phosphoric acid (phase B); a flow rate of 0.8 mL.min⁻¹ was used. Elution was completed in 33 min using a gradient: 0-5 min: 5% B; 5-14 min: 23% B; 14-30 min: 50% B; 30-33 min: 80% B (return to the initial conditions). The compounds catechin, epicatechin, epigallocatechin gallate, epicatechin gallate, procyanidin B1, procyanidin B2, and procyanidin A2 were detected at 220 nm. Gallic and syringic acids, hesperidin, *cis*-resveratrol and naringenin were detected at 280 nm. Caftaric acid, caffeic acid, chlorogenic acid, *p*-coumaric acid and *trans*-resveratrol were detected at 320 nm. Quercetin 3-glucoside, rutin and kaempferol were detected at 360 nm. Malvidin 3,5-diglucoside, malvidin 3-glucoside, cyanidin 3,5-diglucoside, cyanidin 3-glucoside, pelargonidin 3-glucoside, peonidin 3-glucoside, petunidin 3-glucoside and delphinidin 3-glucoside were detected at 520 nm. The determination

and quantification of the phenolic compounds were performed using a modified version of the method described by Dutra et al. (2018) adapted from Padilha et al. (2017). The results were expressed in mg 100 g⁻¹ DW.

2.7 Statistical analysis

All experiments were performed in triplicate with independent replicates. The data are reported as the mean $\pm$ standard deviation (SD) of three replicates. The differences between phenolic compound content and antioxidant activity in frozen pulps were evaluated using one-way analysis of variance (ANOVA) to identify the significant differences among the means of phenolic compounds and antioxidant activity using Turkey's test and $\leq$ e Student's t test. A probability level of $p \leq 0.05$ (confidence level of 95%) was identified as significant difference. Correlations were calculated using Pearson's correlation coefficient (r). The multivariate statistical technique, principal component analysis (PCA) was applied to show the correlation matrix between phenolic compounds and antioxidant activity in FP and their respective dialyzed fractions. All statistical analyses were performed using Statistic Software 5.1.

3. Results and discussion

3.1 Phenolic composition of tropical frozen pulps

Twenty-eight phenolic compounds were investigated in eight frozen pulps (FP) of different fruits produced in Brazilian biomes (Table 1). Four major groups were identified and quantified by HPLC: anthocyanins, flavanols, flavonols and phenolic acids. Stilbenes were also quantified, but in minor amounts. The phenolic profile varied among the different FPs ($p < 0.05$). However, no previous studies have assessed the phenolic profile in FPs commercially

available. Only an earlier study reported the phenolic profile of fruits and their derived FP, but in distinct fruits (Dutra et al., 2017). The knowledge of the phenolic profile in FP is important because allow to know if after the pulp processing these products are valuable sources of fruit bioactive.

The blueberry FP contained the highest amount of phenolic compounds [1018.37 mg 100 g⁻¹ dry weight (DW)]. Approximately 90% of the phenolic compounds identified in the blueberry FP were anthocyanins (920.52 mg 100 g⁻¹ DW). Malvidin 3,5-diglucoside (664.94 mg 100 g⁻¹ DW) and malvidin 3-glucoside (115.12 100 g⁻¹ DW) were the major anthocyanins detected in this FP. These results reinforce the similarity of the phenolic profile of fruits with their derived FP, since malvidin derivatives have been described as the major anthocyanins in blueberry fruit (Yousef et al., 2013).

The açai FP contained the second largest amount of anthocyanins (198.98 mg 100 g⁻¹ DW), which represented 70% the total phenolic compounds quantified. Pelargonidin 3-glucoside (111.92 mg 100 g⁻¹ DW) was the major anthocyanin detected in açai FP ($p < 0.05$). The predominance of anthocyanins (up to 90%) among phenolic compounds in açai pulp has been previously reported (Carvalho et al., 2017).

Interestingly, in the present study similar amounts of cyanidin 3-glucoside (67.33 mg 100 g⁻¹ DW) were found in açai FP and raspberry FP (65.73 mg 100 g⁻¹ DW; $p > 0.05$). The high content of this anthocyanin in açai and raspberry fruit is well-documented (Gordon et al., 2012; Ludwig et al., 2015), however this is the first time that similar quantities of cyanidin 3-glucoside are detected in açai and raspberry derived products.

The PCA (Fig. 1A) demonstrated the similarities between the different FP in regards to anthocyanins and antioxidant activity. The data variance was explained by 46.51% for PC1 and 25.61% for PC2. The strongest negative correlation with PC1 was observed for malvidin 3-glucoside, malvidin 3,5-diglucoside and DPPH•. Furthermore, cyanidin 3-glucoside, cyanidin

3,5-diglucoside and delphinidin 3-glucoside were negatively correlated with PC2. Notably, the blueberry FP presented the strongest correlation with PC1 (Fig. 1B) because of the highest content of malvidin 3,5-diglucoside, that contribute for scavenging the DPPH radical. The açaí FP was correlated with PC1 due to the higher pelargonidin 3-glucoside content than that of the other purple FPs. Otherwise, the raspberry FP displayed the highest content of cyanidin 3,5-diglucoside and delphinidin 3-glucoside, as demonstrated by the strong correlation with PC2. These findings show that anthocyanin greatly contributed for the antioxidant activity in DPPH assays of the red FP (raspberry and jabuticaba) and mostly of the purple FP (blackberry, blueberry, açaí) suggesting a relationship between the FP color intensity and antioxidant potential of anthocyanins. It should also be considered that, because the distinct microstructure of the fruits they were differently affected when subjected to the same processing and consequently the intensity degradation of anthocyanin is not the same (Alejandro, Dubé, Desjardins, Lajolo, & Genovese, 2013; Peixoto et al., 2016; Barba, Mariutti, Bragagnolo, Mercadante, Barbosa-Cánovas, & Orlén, 2017; Jesus et al., 2018).

The soursop FP contained the second greatest amount of total phenolic compounds. Of the total phenolic compounds, 52.51 % were flavanols. These compounds observed in the greatest amounts were as follows: procyanidin B1 (14.62 mg 100 g⁻¹ DW), procyanidin B2 (124.29 mg 100 g⁻¹ DW), catechin (37.65 mg 100 g⁻¹ DW) and epicatechin (22.28 mg 100 g⁻¹ DW; $p \leq 0.05$). Similar values of these flavanols have been previously described in studies assessing phenolic compounds in soursop fruit (Obboh, Ademosun, Akinleye, Omojokun, Boligon, & Athayde, 2015), suggesting that the processing applied to obtain the FP did not compromise these compounds.

Cupuaçu FP differed from the other fruits by the amounts of procyanidin A2 content ($p \leq 0.05$). These data are in agreement with previous literature that reported high procyanidin levels in cupuaçu fruit (Barros et al., 2016).

In relation to the flavonols content, the blackberry FP presented major content (44.57 mg 100g⁻¹), follow by raspberry FP (31.93 mg 100g⁻¹) and soursop FP (29.13 mg 100g⁻¹). Both, raspberry and soursop FPs presented similar contents of hesperidin (22.93-27.32 mg 100g⁻¹). The blackberry FP differed from other FPs regarding the naringenin and kaempferol glucoside contents ($p \leq 0.05$), and the blueberry FP differed from other FPs regarding the quercetin 3-glucoside content ($p \leq 0.05$).

PCA (Fig. 1C) explained 65.85% of the data variance for flavonoids non-anthocyanics and antioxidant activity in these FPs. PC1 retained approximately 42.70% of the data variation and separated FPs according to the amounts of catechin, procyanidin B1 and B2, epigallocatechin gallate, rutin, and antioxidant activity by FRAP. The amounts of these compounds separated the soursop FP from the other FPs as observed by the strong correlation with PC1 (Fig. 1D). PC2 explained the other 23.15% of data variability and separated the cupuaçu FP based on the high procyanidin A2 content (45.41 mg 100 g⁻¹ DW). This flavonoid represented 88% of the total phenolic compounds in cupuaçu FP, separating it from the other FPs ($p < 0.05$). Moreover, the blackberry FP was separated from the other FPs because of the high naringenin and quercetin 3-glucoside content ($p < 0.05$).

The açaí FP had a strong positive correlation with PC1 because of the high content of epicatechin gallate (25.00 mg 100 g⁻¹ DW; $p < 0.05$). Earlier studies reported that this flavonoid is predominant in açaí (Carvalho et al., 2017; Neri-Numa et al., 2018).

Both açaí and cajá FPs were close to the PC1 because of the strong correlation with rutin. Previous studies reported the presence rutin in açaí (Gordon et al., 2012). However, because cajá is an yellow fruit, it has been mainly studied regarding its high carotenoids content (Carvalho, Maia, Fonseca, Sousa, & Rodrigues, 2015). To the best of our knowledge, here we report for the first time the identification of rutin, a compound with high antioxidant potential, in cajá FP.

The highest content of phenolic acids was observed in soursop FP (170.08 mg 100 g⁻¹ DW). In this FP, the major phenolic acids were gallic acid (49.79 mg 100 g⁻¹ DW), chlorogenic acid (44.23 mg 100 g⁻¹ DW) and *p*-coumaric acid (49.79 mg 100 g⁻¹ DW), which were present in higher amounts than those of other FPs ($p \leq 0.05$). Probably, this higher content of phenolic acids in soursop FP compared with others FP is because in the vegetable tissues, phenolic acids may be linked to fibers, which are abundant in soursop (up to 50% w/w dry basis) (Jiménez, Gruschwitz, Schweiggert, Carle, Esquivel, 2014).

The PCA (Fig. 1E) explained 87.97% of the data variance for phenolic acids and antioxidant activity. The PC1 demonstrated that 67.44% of the data variance was represented by the gallic, caffeic, *p*-coumaric, syringic, caftaric and chlorogenic acids, which were strongly correlated with FRAP. The plot (Fig. 1F) demonstrated that phenolic acids detected in soursop FP were strongly correlated with antioxidant activity determined by FRAP, as well as the difference in relation to the other FPs present. The PC2 explained 20.53% of data variance in antioxidant activity in the DPPH• and EC50 assays.

The stilbenes *trans*-resveratrol and *cis*-resveratrol were observed at low levels in blackberry, blueberry, raspberry, cajá and soursop FPs.

The strong activity of phenolic acids in FRAP assay may be due their action in synergism with the flavanols present in soursop FP. Phenolics from distinct class (e.g. anthocyanins, flavanols and flavonols) can interact and show enhanced antioxidant activity against DPPH and FRAP assays (Hidalgo, Sánchez-Moreno & Pascual-Teresa, 2010).

Together, these results show that the blueberry FP presents the highest antioxidant potential against the DPPH• due to the higher contents of anthocyanins and quercetin 3-glucosideo compared to the other FPs. On the other hand, the blackberry FP demonstrated the highest iron reduction power, mostly because its higher contents of flavonols and phenolics acids compared to the other FPs.

3.2 Bioaccessibility of phenolic compounds in tropical frozen fruit

Tables 2 and 3 present the content of phenolic compounds from the FPs that were able to pass through the simulated intestinal barrier (cellulose dialysis membrane), i.e., the dialyzed fraction (IN), which corresponds to the bioaccessible fraction and non-dialyzed fraction (OUT).

The exposure to conditions simulating gastrointestinal digestion caused a significant reduction in the anthocyanin content in red-purple FPs (açai, blackberry, blueberry, jabuticaba and raspberry). Only blueberry and raspberry FPs exhibited bioaccessible anthocyanins. The highest bioaccessibility was observed for cyanidin 3-glucoside (6.56%) and pelargonidin 3-glucoside (28.33%) in raspberry FP. Earlier studies have reported that anthocyanins are unstable under gastric and alkaline intestinal conditions and present reduced bioaccessibility in grape fruit (Tagliazucchi et al., 2010), jabuticaba, jamelão and jambo fruit (Peixoto et al, 2016). Studies investigating the bioaccessibility of anthocyanin using in vitro gastrointestinal models employing a semipermeable cellulose membrane have also observed low bioaccessibility of anthocyanin in apple (Bouayed et al., 2011), in the juice, pulp and peel extract of pomegranate (Mosele et al., 2015), in *Arbutus unedo* fruit (Mosele, Macià, Romero, & Motilva, 2016) and in maqui berry (Lucas-Gonzalez, Navarro-Coves, Pérez-Alvarez, Fernández-Lópes, Muñoz, & Viuda-Martos, 2016). Overall, the different levels of bioaccessibility of anthocyanins observed among the red-purple FPs in the present study could be related to a protective effect of specific food matrix components present in each FP (such as soluble or insoluble fibers) that interact with anthocyanins, increasing their stability during the digestion process (Peixoto et al., 2016). The present study demonstrated that the bioaccessibility of flavanols such as catechin (19.53 to 270.71%), epicatechin (2.79 to 153.59%), procyanidin B1 (4.71 to 102.79%) and procyanidin B2 (1.63 to 56.13%), procyanidin A2 (11.35 to 72.30%), and flavonols such as quercetin 3-glucoside (13.94 to 122.01%) and rutin (7.06 to 41.34%) varied among the FPs. Flavanols and

flavonols might bind to proteins or fiber in the matrix, through hydrogen bonding, covalent bonding or hydrophobic interactions. The changes that occur during the exposure to gastric and intestinal conditions (pH and enzymes) can increase or decrease their solubility, thus impact their bioaccessibility (Gullon, Pintado, Fernández-López, Pérez-Álvarez, & Viuda-Martos, 2015; Lucas-Gonzalez et al., 2016).

The highest bioaccessibility of procyanidin B1 (102.79%) was observed in the cajá FP. The highest bioaccessibility of catechin (137.51%) and quercetin 3-glucoside (122%) was seen in the blackberry FP, and the highest bioaccessibility of catechin (270.71%) and epicatechin (153.59%) was observed in the blueberry FP. The highest bioaccessibility of catechin (99.52%) was observed in the jabuticaba FP. These results could be explained by the effect of gastric enzymes, pH conditions and intestinal digestive enzymes on the complex food matrix facilitating the release of bound phenolic compounds. Studies assessing the bioaccessibility of phenolic compounds in apple (Bouayed et al., 2011) and pomegranate peel extract (Gullon et al., 2015) reported that flavonoids linked to high molecular weight compounds (e.g., proteins and carbohydrates) may be released by digestive enzyme action.

The bioaccessibility of flavonoids varied in the red-purple FPs. Açaí, raspberry, jabuticaba and blackberry presented 30.33%, 63.03%, 99.52%, 137.51% and 270.71% of bioaccessible catechin, respectively. The procyanidin B1 was 87.62%, 43.30% and 38.89% bioaccessible in blackberry, jabuticaba and blueberry FPs, respectively. In cupuaçu, the bioaccessibility of procyanidin B1 was 62.55%, procyanidin B2 was 56.13% and procyanidin A2 was 72.30%. Notably, the raspberry, blackberry, blueberry and cupuaçu FP were sources of bioaccessible ellagitannins and proanthocyanidins, similar to observed in these fresh fruits (Alminger et al., 2014). These results suggest that exposure to the acidic and alkaline conditions during simulated gastrointestinal conditions can hydrolyze the ester bonds of ellagitannins and proanthocyanidins, thus increasing the content of these compounds in the intestinal fraction.

Previous studies reported that the high bioaccessibility of catechin in pomegranate fruit resulted from the hydrolysis of proanthocyanidins (Mosele et al., 2016).

Curiously, procyanidin B1 and procyanidin B2, which were present at high levels in soursop FP, showed the lowest bioaccessibility (procyanidin B1 4.71% and procyanidin B2 1.63%). Quercetin 3-glucoside and rutin, which were present in small quantities in blackberry, blueberry and raspberry FPs ($< 10 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), were highly bioaccessible only in blackberry FP (quercetin 3-glucoside 122% and rutin 41.34%). *Trans*-resveratrol was detected in açai, raspberry, blueberry, blackberry and cajá FPs, but it was only bioaccessible in the blackberry FP (24.41%). The low bioaccessibility of procyanidin B1 and B2 and *trans*-resveratrol may be explained by their structure, since esters, glucosides or polymers cannot be absorbed in their native form. It is known that only aglycones and some glucosides can be absorbed in the small intestine (Manach, Williamson, Morand, Scalbert, & Rémésy, 2005).

The low bioaccessibility of flavonoids in acai and cajá FPs can be explained by the incomplete release of these phenolic compounds from other components (e.g., fiber and lipids) in the matrix; this effect decreases the ability of these compounds to pass through the simulated membrane (Barba et al., 2017; Mosele et al., 2015). In fact, açai and cajá FP could be considered complex matrices because they contained non-extractable phenolic compounds linked to cell wall constituents (polysaccharides and protein) (Carvalho et al., 2017; Dutra et al., 2017).

Studies reported that the bioaccessibility of flavonoids is also affected by processing, due to changes in the environment and microstructure of the food matrix (Barba et al., 2017; Dutra et al., 2017). After pulp processing, these compounds are not protected by the cell wall components (as they are in fresh fruit), which could contribute to enhanced bioaccessibility in the FP (Rein et al., 2013).

The blueberry and açaí FPs had the highest bioaccessibility for syringic acid (147.14%) and caftaric acid (147.18%), respectively, compared with that of other FPs that presented bioaccessibility varying from 7.36 to 59.45% for these same compounds. Other researchers have reported similar bioaccessibility values for these phenolic acids (Rein et al., 2013).

The PCA (Fig. 2) was used to explore similarities among the quantities of phenolic compounds and the antioxidant activity in the bioaccessible fraction of FPs, as well as to assess the association between each phenolic compound and the antioxidant activity. Using a factor loading analysis, PC1 corresponded to 28.79% of data variation and differentiated the FPs according the amounts of catechin, procyanidin B1, procyanidin B2, procyanidin A2, rutin, cyanidin 3-glucoside, pelargonidin 3-glucoside, delphinidin 3-glucoside, *cis*-resveratrol, and kaempferol 3-glucoside. PC2 explained 25.73% of the data variance due the amounts of epicatechin, quercetin 3-glucoside, caffeic, syringic, caftaric, and chlorogenic acid and antioxidant activity by FRAP, EC₅₀ and DPPH[•].

Notably, the blueberry FP was different from the other FPs; it had the highest bioaccessibility of epicatechin, syringic and caffeic acid. The cajá FP had the highest bioaccessibility of procyanidin B1 (102.79%) followed by blackberry FP (87.62%). The raspberry FP differed from other FPs because the greater bioaccessibility of procyanidin A2, pelargonidin 3-glucoside, and delphinidin 3-glucoside. The açaí FP was distinguished by higher bioaccessibility of caftaric acid, while cupuaçu and raspberry FPs were distinguished by high bioaccessibility of procyanidin A2 (cupuaçu 72.30% and raspberry 66.00%).

Overall, the results presented here showed that flavonoids and phenolic acids present higher bioaccessibility than anthocyanins in FPs.

3.3 Antioxidant activity after in vitro digestion

The antioxidant activity of each FP and its dialyzable fraction (IN) are shown in Table 4. For the antioxidant activity determined with the DPPH[•] assay, the blueberry FP was significantly ($p < 0.05$) higher than that of the other FPs. Regarding the ability to scavenge the radical DPPH[•], the levels were as follows: blackberry FP > açai FP > cajá FP > soursop FP > cupuaçu FP > raspberry FP ($p < 0.05$). The antioxidant activity results were explained by PCA according to groups of phenolic compounds and antioxidant activity (Fig. 1). The PCA (Fig. 1A) demonstrated that the total amount of anthocyanins was correlated with DPPH[•] ($r = 0.78$). The blueberry FP had the highest content of anthocyanins. In the blueberry FP, malvidin 3-glucoside and malvidin 3,5-diglucoside were the main contributors to the high antioxidant activity against DPPH[•]. Malvidin 3-glucoside ($r = 0.78$), malvidin 3,5-diglucoside ($r = 0.77$), peonidin 3-glucoside ($r = 0.77$), and petunidin 3-glucoside ($r = 0.76$), followed by pelargonidin 3-glucoside were correlated with DPPH[•].

In all studied FPs, the antioxidant activity was reduced after the in vitro digestion simulation in both evaluated methods ($p < 0.05$). The dialyzable fraction of blackberry FP had the highest activity (1092.61 $\mu\text{M TEAC } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DW}$) in the FRAP assay, which was different from the dialyzable fractions of other FPs, which varied from 604.58 to 16.04 $\mu\text{M TEAC } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DW}$ ($p < 0.05$). The dialyzable fraction of blackberry FP (634.54 $\mu\text{M TEAC } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DW}$) and cajá FP (314.08 $\mu\text{M TEAC } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DW}$) had the highest antioxidant activity in the DPPH[•] assay.

The PCA (Fig. 2) showed that the blackberry FP dialyzable fraction was different from that of the other fractions in terms of the phenolic content and antioxidant activity. The difference observed for the blueberry dialyzable fraction was related to the high bioaccessibility of quercetin 3-glucoside ($r = 0.87$), rutin ($r = 0.78$) and procyanidin B1 ($r = 0.70$), as observed by the important correlation of these compounds with antioxidant activity measured by the DPPH[•] assay.

Regarding the reductive capacity to against iron ions (evaluated by FRAP), the classification of FPs was as follows: blackberry > açai > jabuticaba > cupuaçu > soursop > cajá > blueberry > raspberry ($p < 0.05$). The dialyzable fraction of soursop FP had the highest content of procyanidin. Among the phenolic compounds identified in this fraction, there was a significant positive correlation with FRAP ($r = 0.89$; Fig. 2A); these compounds included procyanidin B1 ($r = 0.97$), procyanidin B2 ($r = 0.91$), catechin ($r = 0.85$) and epicatechin ($r = 0.91$).

These results are related to the changes in the phenolic profile of each FP during *in vitro* digestion, as well as the low bioaccessibility of some phenolic compounds, especially anthocyanins. The decrease in the radical scavenging activity may arise from the lower concentration of phenolic compounds in digested FPs compared to that of non-digested FPs. During the gastric and intestinal steps of simulated digestion, FPs were exposed to acidic and alkaline pH conditions, and pH variations may alter antioxidant activity. Previous studies showed that the transition from an acidic to alkaline environment caused deprotonation of the hydroxyl moieties present on the aromatic rings (Bouayed et al., 2011; Dutra et al., 2017).

4. Conclusions

The results of this study show that anthocyanins present low bioaccessibility in the red-purple FPs studied, only cyanidin 3-glucoside (6.56%) and pelargonidin 3-glucoside (28.33%) were bioaccessible in blueberry and raspberry FPs. Regarding the non-anthocyanin flavonoids, the bioaccessibility varied in the tested FPs, the compounds with highest bioaccessibility were quercetin 3-glucoside, kampferol glucosideo, procyanidin B1 and *cis*-resveratrol in the blackberry FP and procyanidin B1, catechin and *cis*-resveratrol, in the cajá FP; these compounds were strongly correlated with the antioxidant activity observed in DPPH and FRAP assays. Results show the bioaccessible anthocyanins, flavanols, flavonols or phenolic acids in distinct FPs. Our findings indicate blackberry and cajá FPs as good alternatives for consumption

of fruit derived products considered sources of bioaccessible phenolic compounds with high antioxidant activity.

Acknowledgments

The authors thank CNPq-Brazil for their financial support (Project number 447232/2014-2) and CAPES-Brazil for providing a scholarship to the first author.

References

- Alezandro, M. R., Dubé, P., Desjardins, Y., Lajolo, F. M., & Genovese, M. I. (2013). Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jabuticaba: *Myrciaria jabuticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. *Food Research International*, 54, 468-477.
- Alminger, M., Aura, M.; Bohn, T., Dufour, C., El, S. N., Gomes, A., & McDougall, G. J. (2014). In vitro models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. *Comprehensive Reviews in Food and Food Safety*, 13, 413-436.
- Barba, F. J., Mariutti, L. R. B., Bragagnolo, N., Mercadante, A. Z., Barbosa-Cánovas, G. V., & Orlíen, V. (2017). Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing. *Trends in Food Science & Technology*, 67, 195-206.
- Barros, H. R. M., García-Villalba, R., Tomás-Barberán, F. A., & Genovese, M. I. (2016). Evaluation of the distribution and metabolism of polyphenols derived from cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) in mice gastrointestinal tract by UPLC-ESI-QTOF. *Journal of Functional Foods*, 22, 477-489.
- Bouayed, J., Hoffmann, L., & Bohn, T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: bioaccessibility and potential uptake. *Food Chemistry*, 128, 14-21.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 1, de 07 de janeiro de 2000. (2000) *Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpas e sucos de frutas*. MAPA, Brasília.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 58, de 30 de agosto de 2016. (2016). *Projeto de instrução normativa*. MAPA, Brasília.

- Carvalho, A. V., Silveira, T. F. F. da; Mattietto, R. de A., Oliveira, M. do S., P. de, & Godoy, H. T. (2017). Chemical composition and antioxidant capacity of açai (*Euterpe oleracea*) genotypes and commercial pulps. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97, 1467-1474.
- Carvalho, J. M., Maia, G. A., Fonseca, A. V. V., Sousa, P. H. M., & Rodrigues, S. (2015). Effect of processing on physicochemical composition, bioactive compounds and enzymatic activity of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) tropical juice. *Journal of Food Science and Technology*, 52 (2), 1182-1187.
- Clerici, M. T. P. S., & Carvalho-Silva, L. B. (2011) Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. *Food Research International*, 44, 1658-1670.
- Costa, A. G. V., Garcia-Diaz, D. F., Jimenez, P., & Silva, P. I. (2013) Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries. *Journal of Functional Foods*, 5, 539-549.
- Costa, G. A., & Mercadante, A. Z. (2018) In vitro bioaccessibility of free and esterified carotenoids in cajá frozen pulp-based beverages. *Journal of Food Composition and Analysis*, 68, 53-59.
- Dutra, M. C. P.; Rodrigues, L. L., Oliveira, D., Pereira, G. E., & Lima, M. S. (2018). Integrated analyses of phenolic compounds and minerals of Brazilian organic and conventional grape juices and wines: Validation of a method for determination of Cu, Fe and Mn. *Food Chemistry*, 269, 157-165.
- Dutra, R. L., Dantas, A.M.; Marques, D. de A., Batista, J. D. F., Meireles, R. L. A., Cordeiro, A. M. T. M.; Magnani, M., & Borges, G. da S. C. (2017). Bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic compounds in frozen pulps of Brazilian exotic fruits exposed to simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 100, 650-657.
- Gordon, A., Cruz, A.P. G. C., Cabral, L. M. C., de Freitas, S. C., Taxi, C. M. A. D., Donangelo, C. M., Mattietto, R. A., Friedrich, M., Matta, V., & Marx. F. (2012). Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of Açai fruits (*Euterpe oleraceae* Mart.) during ripening. *Food Chemistry*, 133, 256-263.
- Gullon, B., Pintado, M. E., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A., & Viuda-Martos, M. (2015). In vitro gastrointestinal digestion of pomegranate peel (*Punica granatum*) flour obtained from co-products: Changes in the antioxidant potential and bioactive compounds stability. *Journal of Functional Foods*, 19, 617-628.
- Hidalgo, M., Sánchez-Moreno, C., & Pascual-Tereza, S. (2010). Flavonoid-flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 121, 691-696.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Brasília: IBGE (2016).

Jesus, A., L. T., Leite, T. S., & Cristianini, M. (2018). High isostatic pressure and thermal processing of açaí fruit (*Euterpe oleracea* Martius): Effect on pulp color and inactivation of peroxidase and polyphenol oxidase. *Food Research International*, 105, 853-862.

Jiménez, V. M., Gruschwitz, M., Schweiggert, R. M., Carle, R., & Esquivel, P. (2014). Identification of phenolic compounds in soursop (*Annona muricata*) pulp by high-performance liquid chromatography with diode array and electrospray ionization mass spectrometric detection. *Food Research International*, 65, 42-46.

Káras, M., Jakubzyk, A., Szymanowska, U., Zlotek, U., & Zielinska, E.. (2017). Digestion and bioavailability of bioactive phytochemicals. *International Journal of Food Science and Technology*, 52, 291-305.

Lucas-Gonzales, R., Navarro-Coves, S., Pérez-Álvarez, J. A., Fernández-López, Muños, L. A., Viuda-Martos, M. (2016). Assessment of polyphenolic profile stability and changes in the antioxidant potential of maqui berry (*Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz) during in vitro gastrointestinal digestion. *Industrial Crops and Products*, 94, 774-782.

Ludwig, I. A., Mena, P., Calani, L., Borges, G., Pereira-Caro, G., Bresciani, L., Del Rio D., Lean, M. E. J., & Crozier, A. (2015) New insights into the bioavailability of red raspberry anthocyanin and ellagitannins. *Free Radical Biological and Medicine*, 89, 758-769.

Manach, C., Williason, G., Morand, C. Scalbert, A., & Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *American Society for Clinical Nutrition*, 81, 230S-42S.

Mosele, J. I., Macià, A., Romero, M., & Moltiva, M. (2016). Stability and metabolismo of *Arbutus unedo* bioactive compounds (phenolics and antioxidants) under *in vitro* digestion and colonic fermentation. *Food Chemistry*, 201, 120-130.

Mosele, J. I., Macià, A., Romero, M., Motilva, M., & Rubió, L. (2015). Application of in vitro gastrointestinal digestion and colonic fermentation models to pomegranate products (juice, pulp and peel extract) to study the stability and catabolism of phenolic compounds. *Journal of Functional Foods*, 14, 529 –540.

Neri-Numa, I. A., Sancho, R. A. S., Pereira, A. P. A., & Pastore, G. M. (2018). Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. *Food Research International*, 103, 345-360.

Oboh, G., Ademosun, A. O., Akinleye, M., Omojokun, O. S., Boligon, A. A., & Athayde, M. L. (2015). Starch composition, glycemic indices, phenolic constituents, and antioxidative and antidiabetic properties of some common tropical fruits. *Journal of Ethnic Foods*, 2, 64-73.

Padilha, C.V.S., Miskinis, G.A., Souza, M.E.A.O., Pereira, G.E., Oliveira, D., Bordignon-Luiz, M.T., & Lima, M.D.S. (2017). Rapid determination of flavonoids and phenolic acids in grape juices and wines by RP-HPLC/DAD: Method validation and characterization of commercial products of the new Brazilian varieties of grape. *Food Chemistry*, 228, 106-115.

- Paz, M.; Gúllon, P., Barroso, M. F., Carvalho, A. P., Domingues, V. F., Gomes, A. M.; Longhinotti, E., & Delerue-Matos, C (2015). Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: evaluation of bioactive compounds. *Food Chemistry*, 172, 462-488.
- Peixoto, F. M., Fernandes, I., Gouvêa, A. C. M. S., Santiago, M. C. P. A., Borguini, R. G., Mateus, N.; Freitas, V., Godoy, R. L. O., & Ferreira, I. M. L. V. O. (2016). Simulation of *in vitro* digestion coupled to gastric and intestinal transport models to estimate absorption of anthocyanins from peel powder of jabuticaba, jmelão and jambo fruits. *Journal of Functional Foods*, 24, 373-381.
- Rein, M. J., Renouf, M., Cruz-Hernandez, C., Actis-Goretta, L., Thakkar, S. K., & Pinto, M., S. (2013). Bioavailability of bioactive food compounds: A challenging journey to bioefficacy. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 75, 588–602.
- Rodríguez-Roque, M. J., Rojas-Graü, M. A., Elez-Martines, P., & Martín-Belloso, O. (2013). Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 136, 206-212.
- Rufino, M. D. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S. de, Moraes, S. M. de, Sampaio, C. D. G., Pérez-Jiménez, J., & Saura-colixto, F. D. (2006). *Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP)*. Comunicado Técnico Embrapa, 125, 1–4.
- Schulz, M., Biluca, F. C.; Gonzaga, L. V., Borges, G. da S. C., Vitali, L., Micke, A., Gois, J. S. De, Almeida, T. S. De, Borges, D. L. G., Miller, P. R. M., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2017). Bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant potential of juçara fruits (*Euterpe edulis* Martius) subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 228, 447-454.
- Tagliazucchi, D., Verzelloni, E.; Bertolini, D., & Conte, A. (2010). *In vitro* bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chemistry*, 120, 599-606.
- Yousef, G. G., Brown, A. F., Funakoshi, Y., Mbeunkui, F., Grace, M. H., Ballington, J. R., Loraine, A., & Lila, M. A. (2013). Efficient quantification of the health-relevant anthocyanin and phenolic acid profiles in commercial cultivars and breeding selections of blueberries (*Vaccinium* spp.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 61, 4806–4815.

Table 1

The phenolic profile in frozen pulps of the biomes Amazon Forest, Cerrado, Atlantic Florest and Caatinga

	Compound	Açaí	Cupuaçu	Soursop	Raspberry	Jaboticaba	Blackberry	Blueberry	Cajá
Anthocyanins	Malvidin 3-glucoside	6.9 ± 0.82 ^b	ND	ND	ND	ND	ND	115.12 ± 3.26 ^c	0.24 ± 0.11 ^a
	Malvidin 3.5-diglucoside	11.51 ± 1.37 ^a	ND	ND	ND	ND	ND	664.94 ± 1.67 ^b	ND
	Cyanidin 3-glucoside	67.33 ± 1.06 ^b	ND	ND	65.73 ± 3.71 ^b	2.01 ± 0.34 ^a	ND	34.86 ± 0.28 ^c	0.26 ± 0.09 ^a
	Cyanidin 3.5-diglucoside	ND	ND	ND	0.65 ± 0.01	ND	ND	ND	ND
	Pelargonidin 3-glucoside	111.92 ± 3.04 ^c	ND	ND	2.27 ± 0.67 ^a	ND	42.63 ± 1.20 ^c	32.02 ± 0.23 ^b	ND
	Delphinidin 3-glucoside	ND	ND	ND	58.28 ± 0.61 ^b	ND	ND	8.85 ± 0.27 ^a	ND
	Peonidin 3-glucoside	1.32 ± 0.29 ^a	ND	ND	ND	ND	ND	58.72 ± 0.50 ^b	ND
	Petunidin 3-glucoside	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6.01 ± 0.51	ND
	Total	198.98	ND	ND	126.93	2.01	42.63	920.52	0.50
Flavonoids	Catechin	5.07 ± 0.48 ^b	1.85 ± 0.27 ^a	37.65 ± 0.78 ^d	12.71 ± 0.77 ^c	5.85 ± 0.17 ^b	2.07 ± 0.43 ^a	1.32 ± 0.29 ^a	1.51 ± 0.31 ^a
	Epicatechin	2.03 ± 0.09 ^b	ND	22.28 ± 1.03 ^c	2.53 ± 0.36 ^b	ND	ND	0.54 ± 0.07 ^a	1.7 ± 0.26 ^b
	Epicatechin gallate	25.00 ± 0.64 ^e	ND	2.66 ± 0.32 ^b	21.69 ± 0.54 ^d	ND	ND	11.98 ± 0.53 ^c	0.65 ± 0.45 ^a
	Epigallocatechin gallate	ND	ND	13.93 ± 0.53 ^e	2.87 ± 0.34 ^c	ND	3.07 ± 0.54 ^c	2.01 ± 0.44 ^b	6.26 ± 0.34 ^d
	Procyanidin B1	1.99 ± 0.36 ^{bc}	0.74 ± 0.10 ^{ab}	14.62 ± 1.29 ^e	0.41 ± 0.22 ^a	1.53 ± 0.28 ^{abc}	2.68 ± 0.34 ^c	1.06 ± 0.24 ^{ab}	0.61 ± 0.30 ^{ab}
	Procyanidin B2	5.03 ± 0.4 ^a	3.07 ± 0.83 ^{ab}	124.29 ± 1.79 ^e	24.71 ± 0.82 ^d	4.63 ± 0.56 ^a	7.78 ± 0.42 ^c	4.45 ± 0.72 ^a	1.7 ± 0.60 ^b
	Procyanidin A2	11.53 ± 1.53 ^b	45.41 ± 0.55 ^e	14.22 ± 1.10 ^c	1.83 ± 0.38 ^a	ND	ND	14.25 ± 0.84 ^c	9.68 ± 0.35 ^b
	Quercetin 3-glucoside	1.54 ± 0.34 ^a	ND	1.81 ± 0.18 ^{ac}	1.50 ± 0.37 ^a	ND	2.67 ± 0.31 ^c	7.58 ± 0.48 ^e	4.66 ± 0.45 ^d
	Rutin	3.89 ± 0.15 ^b	ND	ND	4.17 ± 0.17 ^b	ND	0.94 ± 0.12 ^c	0.63 ± 0.10 ^{ac}	3.76 ± 0.68 ^b
	Kaempferol glucoside	1.85 ± 0.22 ^a	ND	ND	2.80 ± 0.30 ^a	2.29 ± 0.34 ^a	8.34 ± 0.70 ^b	2.79 ± 0.38 ^a	2.35 ± 0.60 ^a
	Naringenin	1.64 ± 0.48 ^{bc}	ND	ND	0.53 ± 0.28 ^{ab}	ND	6.02 ± 0.77 ^e	1.88 ± 0.69 ^d	0.88 ± 0.15 ^{abc}
	Hesperidin	1.96 ± 0.51 ^a	ND	27.32 ± 1.09 ^d	22.93 ± 1.00 ^c	13.81 ± 0.52 ^b	26.60 ± 0.87 ^d	0.71 ± 0.14 ^a	13.72 ± 1.11 ^b
	Total	61.52	51.54	258.77	98.66	28.11	60.18	49.20	47.47
	Galic acid	6.87 ± 0.28 ^c	ND	49.79 ± 0.41 ^f	4.97 ± 0.38 ^b	8.04 ± 0.56 ^d	5.82 ± 0.39 ^b	0.62 ± 0.18 ^a	26.41 ± 0.41 ^e
	Cafeic acid	0.61 ± 0.22 ^a	ND	6.03 ± 0.59 ^c	0.44 ± 0.13 ^a	ND	0.37 ± 0.11 ^a	1.92 ± 0.25 ^b	0.67 ± 0.13 ^a
Phenolic acids	p-Coumaric acid	1.74 ± 0.33 ^c	ND	34.79 ± 0.33 ^d	0.13 ± 0.05 ^{ab}	ND	ND	0.57 ± 0.11 ^b	ND
	Syringic acid	1.62 ± 0.37 ^b	ND	9.13 ± 0.70 ^d	1.05 ± 0.18 ^{bc}	ND	ND	0.58 ± 0.09 ^{ac}	1.67 ± 0.28 ^b
	Caftaric acid	0.86 ± 0.10 ^a	ND	26.12 ± 0.91 ^c	2.63 ± 0.29 ^b	ND	0.71 ± 0.17 ^a	2.93 ± 0.33 ^b	0.81 ± 0.20 ^a
	Chlorogenic acid	5.01 ± 0.78 ^{ab}	ND	44.23 ± 0.93 ^e	26.51 ± 1.38 ^c	ND	6.46 ± 0.76 ^b	39.76 ± 0.60 ^d	3.78 ± 0.33 ^a
	Total	16.72	ND	170.08	35.72	8.04	13.35	46.37	33.34
	Trans Resveratrol	0.38 ± 0.14 ^a	ND	ND	1.91 ± 0.72 ^b	ND	6.48 ± 0.6 ^c	1.58 ± 0.40 ^b	0.88 ± 0.14 ^{ab}
	Cis-Resveratrol	ND	ND	8.47 ± 0.61 ^e	1.12 ± 0.24 ^b	ND	2.91 ± 0.37 ^d	0.70 ± 0.28 ^{ab}	4.01 ± 0.68 ^d
Stilbenes	Total	0.38	ND	8.47	3.03	ND	9.40	2.29	4.89
Total content		277.60	51.54	437.32	264.34	38.17	125.55	1018.37	86.20

Values expressed in mg 100 g⁻¹ dry weight. ND – not detected. Different letters in the same line represent statistically significant differences in the content of phenolic compound between frozen pulps (p < 0.05).

Table 2The phenolic profile in frozen pulps of the biomes Amazon Florest. Cerrado and Caatinga after the *in vitro* gastrointestinal digestion

Compound	IN				OUT				Bioaccessibility (%)			
	Açaí	Cupuaçu	Soursop	Cajá	Açaí	Cupuaçu	Soursop	Cajá	Açaí	Cupuaçu	Soursop	Cajá
Malvidin 3-glucoside	ND	ND	ND	ND	30.61 ± 1.51	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Malvidin 3,5-diglucoside	ND	ND	ND	ND	49.40 ± 1.11	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cyanidin 3-glucoside	ND	ND	ND	ND	135.98 ± 2.04	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cyanidin 3,5-diglucoside	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pelargonidin 3-glucoside	ND	ND	ND	ND	414.23 ± 3.70	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Delphinidin 3-glucoside	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Peonidin 3-glucoside	ND	ND	ND	ND	4.95 ± 0.16	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Petunidin 3-glucoside	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Catechin	1.54 ± 0.35	0.36 ± 0.07	10.38 ± 0.42	1.03 ± 0.18	2.70 ± 0.33	9.61 ± 0.45	2.15 ± 0.38	1.23 ± 0.35	30.33	19.53	27.56	68.09
Epicatechin	0.67 ± 0.07	ND	0.25 ± 0.07	ND	1.07 ± 0.15	ND	0.85 ± 0.13	0.13 ± 0.05	32.99	ND	1.13	ND
Epicatechin gallate	ND	ND	ND	ND	2.86 ± 0.17	0.22 ± 0.09	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Epigallocatechin gallato	ND	ND	0.65 ± 0.46	ND	3.51 ± 0.47	1.61 ± 0.52	2.02 ± 0.45	ND	ND	ND	4.69	ND
Procyanidin B1	0.56 ± 0.19	0.46 ± 0.36	0.69 ± 0.22	0.63 ± 0.17	1.51 ± 0.45	0.53 ± 0.14	1.18 ± 0.21	0.55 ± 0.13	28.01	62.55	4.71	102.79
Procyanidin B2	1.92 ± 0.22	1.73 ± 0.63	2.03 ± 0.30	0.48 ± 0.10	7.18 ± 0.39	2.51 ± 0.54	7.75 ± 0.59	0.60 ± 0.15	38.14	56.13	1.63	28.55
Procyanidin A2	ND	32.83 ± 1.59	ND	ND	6.16 ± 0.37	51.70 ± 1.39	1.61 ± 0.44	5.27 ± 0.35	ND	72.30	ND	ND
Quercitin 3-Glucoside	ND	ND	ND	ND	11.45 ± 0.66	ND	0.54 ± 0.11	1.95 ± 0.20	ND	ND	ND	ND
Rutin	ND	ND	ND	0.30 ± 0.25	19.50 ± 0.57	0.06 ± 0.04	ND	0.88 ± 0.09	ND	ND	ND	8.10
Kaempferol glucoside	ND	ND	ND	ND	12.60 ± 0.74	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Naringenin	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Hesperidin	ND	ND	ND	1.91 ± 0.38	ND	ND	ND	7.38 ± 0.62	ND	ND	ND	13.91
Galic acid	ND	ND	ND	ND	4.90 ± 0.31	ND	ND	6.98 ± 0.16	ND	ND	ND	ND
Cafeic acid	ND	ND	0.49 ± 0.08	ND	0.21 ± 0.07	ND	0.17 ± 0.08	ND	ND	ND	8.18	ND
p-Coumaric acid	ND	ND	2.56 ± 0.56	ND	0.66 ± 0.19	ND	0.65 ± 0.13	ND	ND	ND	7.36	ND
Syringic acid	0.36 ± 0.13	ND	ND	ND	0.47 ± 0.05	ND	0.08 ± 0.05	ND	22.16	ND	ND	ND
Caftaric acid	1.27 ± 0.63	ND	2.08 ± 0.24	ND	1.84 ± 0.21	ND	0.51 ± 0.15	ND	147.18	ND	7.96	ND
Chlorogenic acid	0.92 ± 0.17	ND	4.90 ± 0.84	ND	3.76 ± 0.46	ND	0.40 ± 0.18	1.55 ± 0.35	18.28	ND	11.08	ND
trans Resveratrol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.57 ± 0.28	ND	ND	ND	ND
Cis-Resveratrol	ND	ND	0.70 ± 0.21	1.83 ± 0.39	ND	ND	0.89 ± 0.17	1.90 ± 0.25	ND	ND	8.23	45.61

Values expressed in mg 100 g⁻¹ dry weight. ND – not detected. IN - dialized fraction. OUT - non-dialized fraction.

Table 3The phenolic profile in frozen pulps of the biomes Atlantic Forest after the *in vitro* gastrointestinal digestion

Compound	IN				OUT				Bioaccessibility (%)			
	Jabuticaba	Blackberry	Blueberry	Raspberry	Jabuticaba	Blackberry	Blueberry	Raspberry	Jabuticaba	Blackberry	Blueberry	Raspberry
Malvidin 3-glucoside	ND	ND	2.32 ± 0.29	ND	ND	ND	62.61 ± 0.95	ND	ND	ND	2.01	ND
Malvidin 3,5-diglucoside	ND	ND	19.00 ± 1.63	ND	ND	ND	403.52 ± 2.00	ND	ND	ND	2.86	ND
Cyanidin 3-glucoside	ND	15.49 ± 0.87	0.89 ± 0.06	4.31 ± 0.45	ND	5.42 ± 0.51	19.83 ± 1.46	21.44 ± 1.14	ND	ND	2.56	6.56
Cyanidin 3,5-diglucoside	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pelargonidin 3-glucoside	ND	ND	0.58 ± 0.06	0.64 ± 0.10	ND	7.24 ± 0.60	15.93 ± 0.58	1.45 ± 0.27	ND	ND	1.81	28.33
Delphinidin 3-glucoside	ND	ND	ND	8.89 ± 0.40	ND	ND	2.94 ± 0.26	27.12 ± 0.41	ND	ND	ND	15.26
Peonidin 3-glucoside	ND	ND	0.28 ± 0.11	ND	ND	ND	11.61 ± 1.05	ND	ND	ND	0.48	ND
Petunidin 3-glucoside	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3.88 ± 0.20	ND	ND	ND	ND	ND
Catechin	5.82 ± 0.33	2.85 ± 0.26	3.57 ± 0.39	8.01 ± 0.23	7.54 ± 0.15	32.01 ± 0.54	1.79 ± 0.16	10.76 ± 0.39	99.52	137.51	270.71	63.03
Epicatechin	ND	ND	0.83 ± 0.12	0.07 ± 0.04	ND	ND	1.54 ± 0.24	0.05 ± 0.02	ND	ND	153.59	2.79
Epicatechin gallate	ND	2.68 ± 0.44	0.84 ± 0.05	1.57 ± 0.25	ND	18.15 ± 0.48	9.77 ± 0.64	7.30 ± 0.31	ND	ND	7.02	7.23
Epigallocatechin gallate	ND	ND	0.55 ± 0.08	ND	ND	3.59 ± 0.40	12.98 ± 0.91	ND	ND	ND	27.53	ND
Procyanidin B1	0.66 ± 0.18	2.35 ± 0.50	0.41 ± 0.22	ND	0.63 ± 0.19	2.36 ± 0.33	1.64 ± 0.47	0.75 ± 0.07	43.30	87.62	38.89	ND
Procyanidin B2	ND	2.66 ± 0.38	1.99 ± 0.38	2.36 ± 0.68	0.73 ± 0.09	2.72 ± 0.23	6.98 ± 0.99	3.10 ± 0.43	ND	34.22	44.80	9.54
Procyanidin A2	ND	ND	1.62 ± 0.39	1.21 ± 0.31	ND	ND	8.88 ± 0.82	1.17 ± 0.41	ND	ND	11.35	66.00
Quercetin 3-glucoside	ND	3.26 ± 0.28	1.06 ± 0.19	0.44 ± 0.12	ND	5.94 ± 0.81	8.86 ± 0.32	0.68 ± 0.16	ND	122.01	13.94	29.33
Rutin	ND	0.39 ± 0.17	0.12 ± 0.06	0.29 ± 0.14	ND	0.57 ± 0.12	1.21 ± 0.16	1.76 ± 0.42	ND	41.34	19.59	7.06
Kaempferol glucoside	0.16 ± 0.06	2.23 ± 0.62	0.25 ± 0.13	ND	0.66 ± 0.13	0.47 ± 0.10	2.77 ± 0.35	0.51 ± 0.17	7.01	26.78	9.05	ND
Naringenin	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.72 ± 0.41	ND	ND	ND	ND	ND
Hesperidin	ND	ND	ND	ND	4.33 ± 0.62	15.25 ± 0.91	ND	5.48 ± 1.26	ND	ND	ND	ND
Galic acid	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cafeic acid	ND	ND	0.53 ± 0.09	ND	ND	ND	14.56 ± 0.69	ND	ND	ND	27.57	ND
p-Coumaric acid	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Syringic acid	ND	ND	0.85 ± 0.12	ND	ND	ND	1.82 ± 0.42	ND	ND	ND	147.14	ND
Caftaric acid	ND	ND	1.74 ± 0.44	0.50 ± 0.17	ND	ND	4.93 ± 0.61	0.99 ± 0.13	ND	ND	59.45	19.09
Chlorogenic acid	ND	ND	6.22 ± 0.49	ND	ND	2.83 ± 0.50	53.48 ± 0.82	ND	ND	ND	15.65	ND
Trans-resveratrol	ND	1.58 ± 0.43	ND	ND	ND	3.70 ± 0.51	1.95 ± 0.57	0.54 ± 0.30	ND	24.41	ND	ND
Cis-resveratrol	ND	1.73 ± 0.46	0.52 ± 0.19	ND	ND	ND	0.57 ± 0.12	ND	ND	59.44	74.75	ND

Values expressed in mg.100 g⁻¹ dry weight. ND – not detected. IN - dialized fraction. OUT - non-dialized fraction.

Table 4

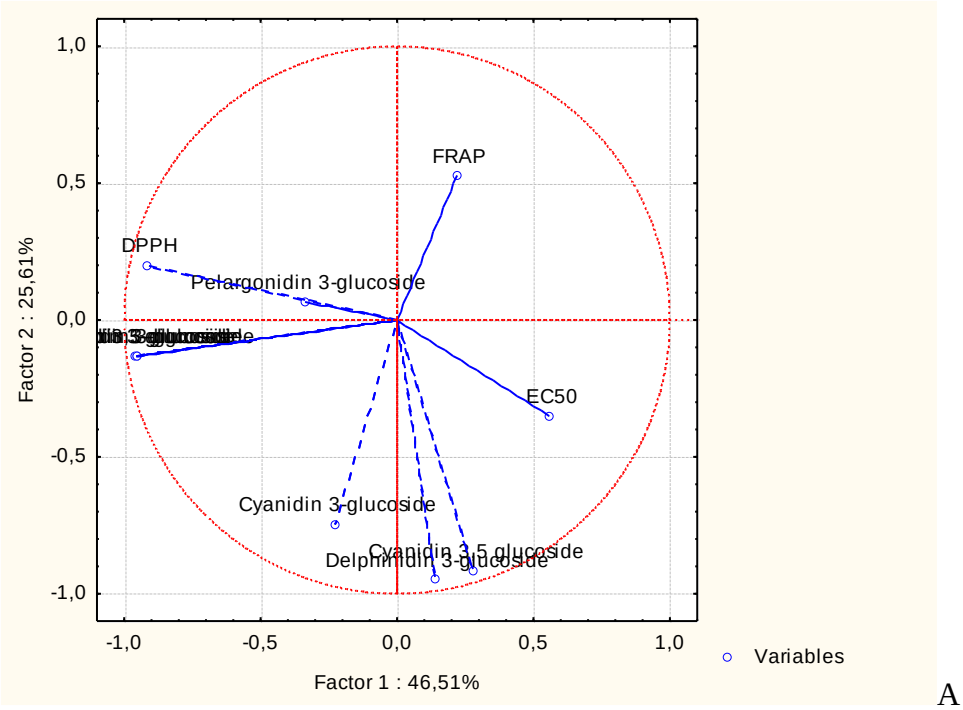
Antioxidant activity of frozen pulps and dialyzed fractions determined by both FRAP and DPPH• assays

	Antioxidant assay	Açaí	Cupuaçu	Soursop	Raspberry	Jaboticaba	Blackberry	Blueberry	Cajá
FP	FRAP*	687 ± 8 ^{bF}	464 ± 5 ^{bD}	437 ± 6 ^{bC}	111 ± 4 ^{aA}	501 ± 3 ^{aE}	1718 ± 15 ^{bG}	346 ± 2 ^{bB}	431 ± 7 ^{bC}
	DPPH•*	7017 ± 8 ^{bF}	1171 ± 9 ^{bB}	2452 ± 15 ^{bC}	1071 ± 7 ^{bA}	3409 ± 7 ^{bD}	7558 ± 7 ^{bG}	12537 ± 8 ^{bH}	5667 ± 3 ^{bE}
	EC ₅₀ **	3 ± 0 ^{aABC}	23 ± 3 ^{aE}	8 ± 1 ^{aC}	15 ± 3 ^{aD}	7 ± 1 ^{aBC}	3 ± 0 ^{aAB}	2 ± 0 ^{aA}	4 ± 0 ^{aABC}
	FRAP*	108 ± 3 ^{aB}	16 ± 2 ^{aA}	431 ± 6 ^{aH}	161 ± 3 ^{bC}	605 ± 3 ^{bF}	1093 ± 8 ^{aG}	247 ± 6 ^{aD}	284 ± 4 ^{aE}
IN	DPPH• *	131 ± 8 ^{aBC}	145 ± 5 ^{aC}	111 ± 5 ^{aA}	112 ± 2 ^{aA}	128 ± 5 ^{aB}	634 ± 6 ^{aE}	133 ± 3 ^{aBC}	314 ± 6 ^{aD}
	EC ₅₀ **	2705 ± 3 ^{bG}	188 ± 3 ^{bD}	333 ± 6 ^{bF}	131 ± 4 ^{bB}	209 ± 6 ^{bE}	163 ± 4 ^{bC}	129 ± 5 ^{bB}	75 ± 2 ^{bA}

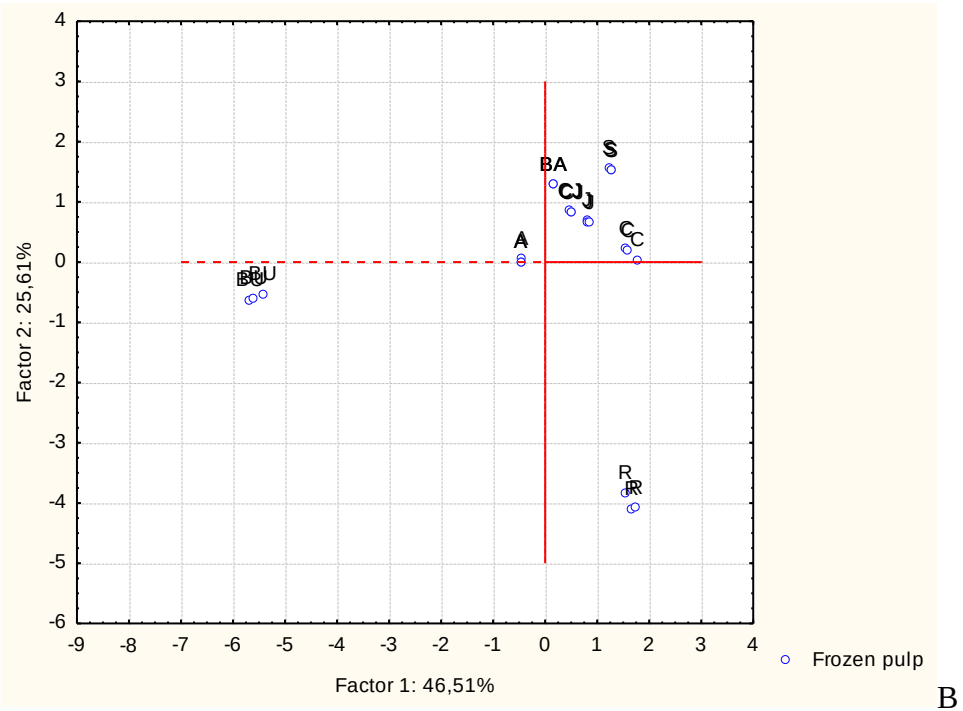
Different lowercase letters between the frozen pulp (FP) and dialyzed fraction (IN) represent statistically significant differences in the antioxidant activity ($p < 0.05$). Different uppercase letters in the same line indicate significant differences in the antioxidant activity between frozen pulps ($p < 0.05$).

*Values expressed in $\mu\text{M TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$ dry weight.

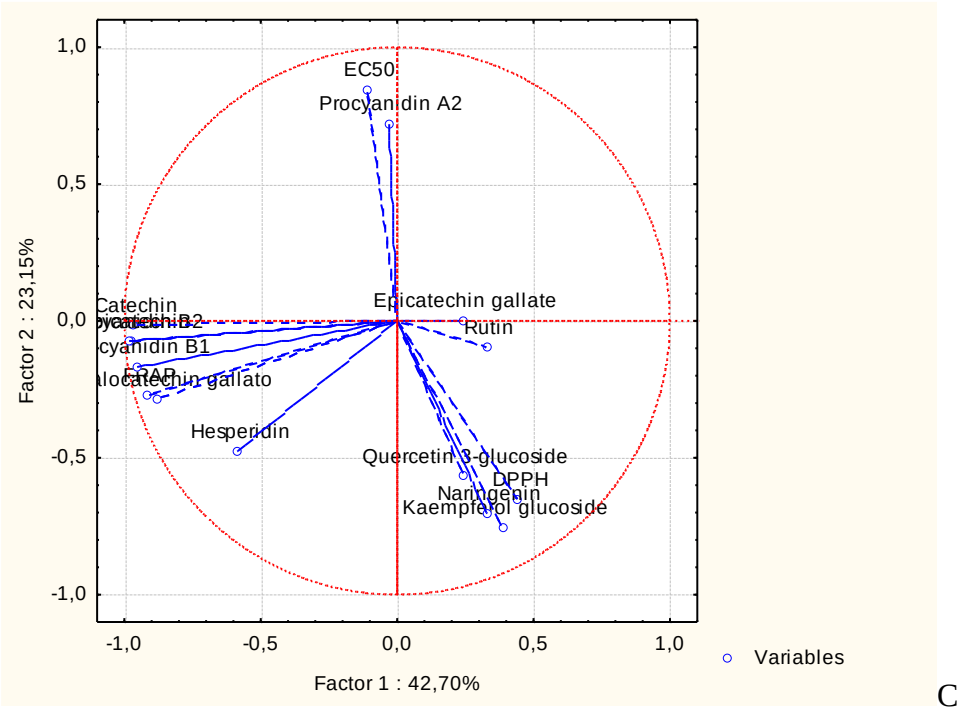
**Values expressed in $\text{g frozen pulp } \text{g}^{-1}$ DPPH•.



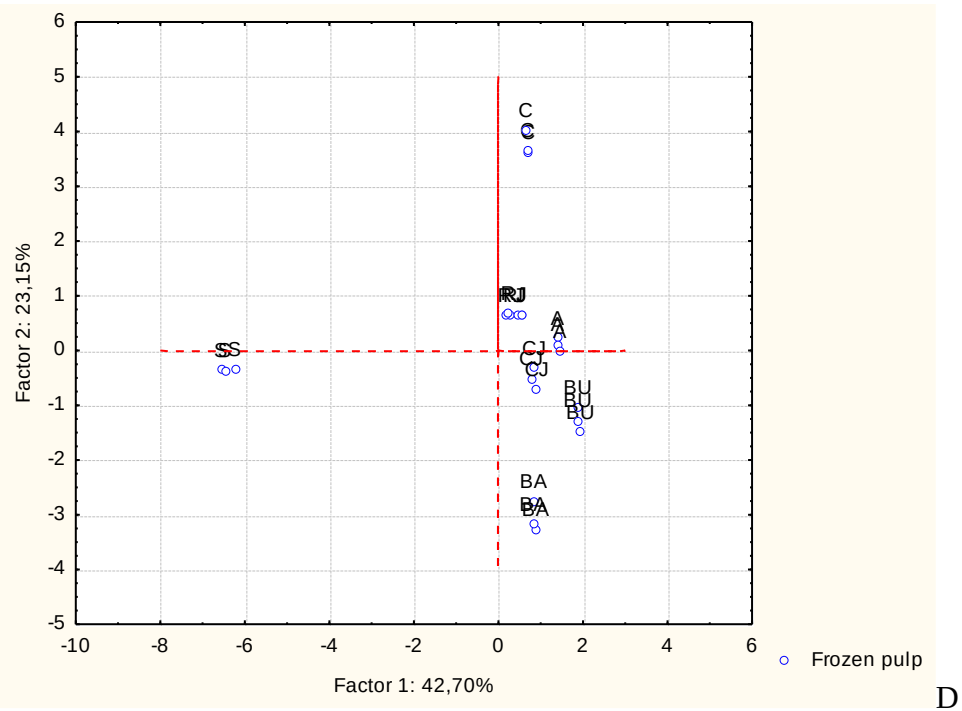
A



B



C



D

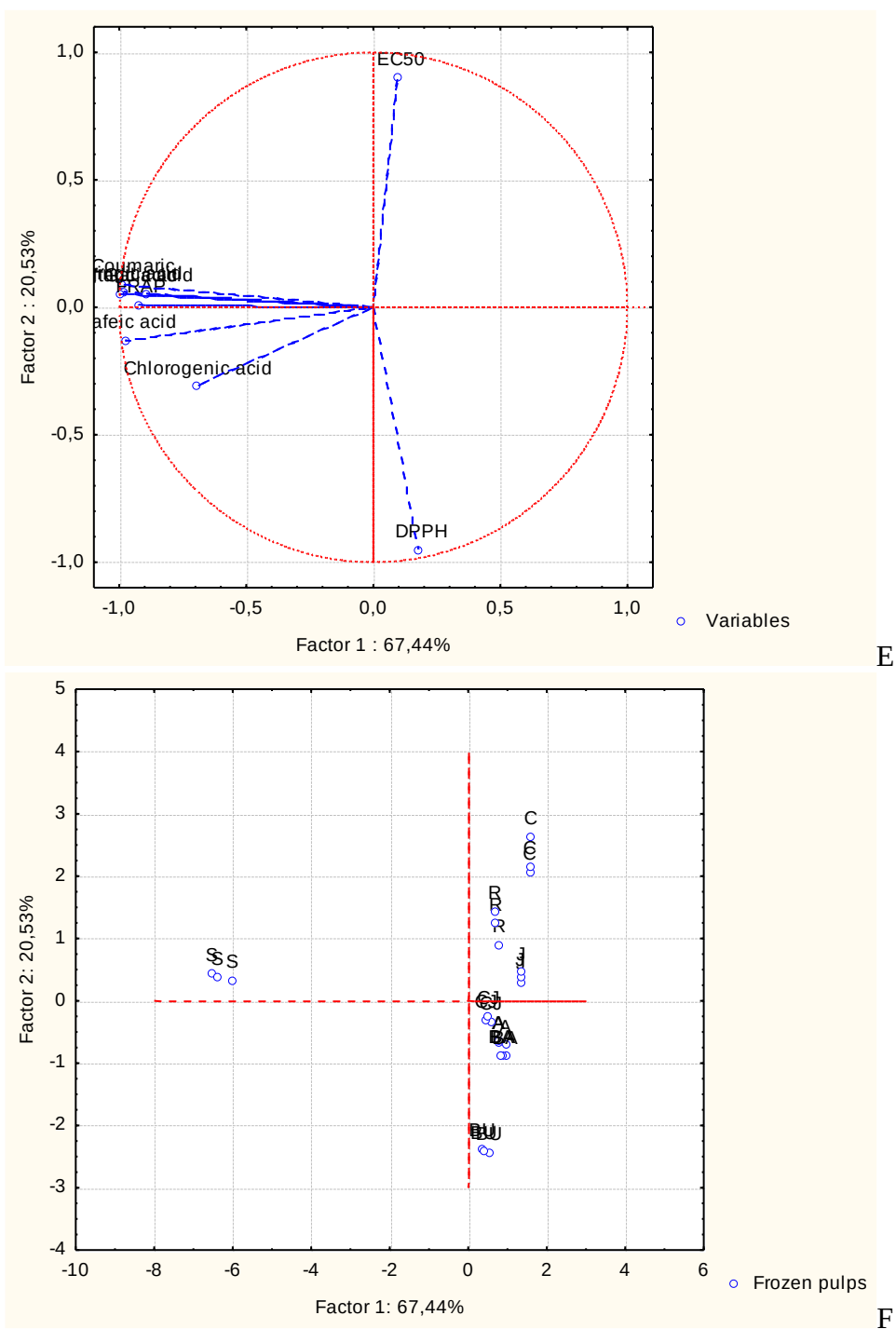


Fig. 1. Principal component analysis (PCA) of the groups of anthocyanins (A), of flavonoids (C), phenolic acids (E) and antioxidant activity of the frozen pulps. Distribution of frozen pulps from different Brazilian biomes according to PCA (B, D, F). A: açai; C: cupuaçu; BA: blackberry; BU: blueberry; CJ: cajá; J: jabuticaba; R: raspberry; S: soursop.

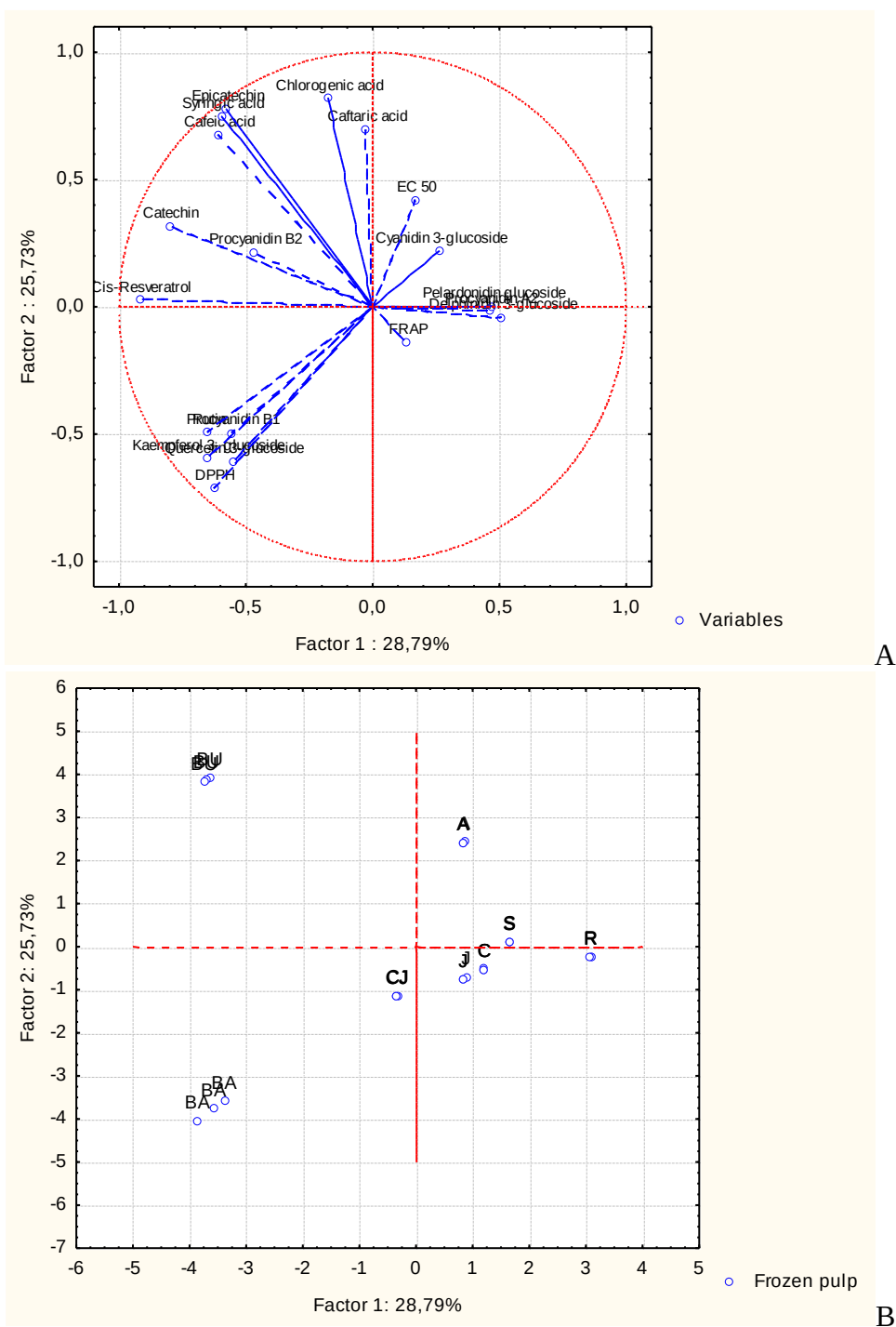


Fig. 2. (A) Principal Component Analysis (PCA) for bioaccessible phenolic compounds and findings from the antioxidant activity assay of the frozen pulps. (B) Distribution of the dialyzed fraction from frozen pulps after gastrointestinal digestion according to PCA. A: açai; C: cupuaçu; BA: blackberry; BU: blueberry; CJ: cajá; J: jabuticaba; R: raspberry; S: soursop.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As polpas de frutas dos diversos biomas brasileiros estudadas apresentaram conteúdos distintos de antocianinas, flavonoides, ácidos fenólicos e estilbenos. A identificação desses compostos contribui para o maior conhecimento do perfil de compostos fenólicos das polpas estudadas.

A simulação da digestão gastrointestinal *in vitro*, demonstrou que o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante de polpas de frutas nativas e exóticas de diferentes biomas podem ser influenciadas pelas condições ambientais durante a digestão, afetando assim a bioacessibilidade e a atividade antioxidante desses compostos. O trabalho apresenta resultados inéditos sobre os efeitos da digestão gastrointestinal *in vitro* nos compostos fenólicos e atividade antioxidante das polpas de frutas estudadas

Os maiores valores de bioacessibilidade e atividade antioxidante *in vitro* foi encontrado nas polpas de amora-preta do bioma Mata Atlântica e cajá do bioma Caatinga. Esses resultados sugerem que o consumo dessas polpas de frutas são boas alternativas ao consumo da fruta *in natura*, pois além das similaridades sensoriais com a fruta fresca e a elevada vida útil, podem contribuir para o aumento da atividade antioxidante endógena.

Os resultados apresentados contribuem para o avanço do conhecimento acerca das polpas de frutas estudadas, podendo contribuir para o aumento do seu consumo e consequentemente da produção dos frutos aos quais são provenientes, e assim, favorecer o desenvolvimento da agroindústria inserida no bioma de cada fruto.