

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

RODRIGO LUIZ TARGINO DUTRA

AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE *IN VITRO* DE COMPOSTOS FENÓLICOS
EM MANGABA (*Hancornia speciosa*), SERIGUELA (*Spondias purpurea*) E UMBU-
CAJÁ (*Spondias spp.*)

JOÃO PESSOA – PB

2017

RODRIGO LUIZ TARGINO DUTRA

**AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE *IN VITRO* DE COMPOSTOS FENÓLICOS
EM MANGABA (*Hancornia speciosa*), SERIGUELA (*Spondias purpurea*) E UMBU-
CAJÁ (*Spondias spp.*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, 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

2017

D978a Dutra, Rodrigo Luiz Targino.
 Avaliação da bioacessibilidade *in vitro* de compostos
fenólicos em mangaba (*Hancornia speciosa*), Seriguela
(*Spondias purpúrea*) e Umbu-cajá (*Spondias spp.*) / Rodrigo
Luiz Targino Dutra. - João Pessoa, 2017.
67 f.: il. -

Orientadora: Graciele da Silva Campelo Borges.
Coorientadora: Marciane Magnani.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/ CT

1. Tecnologia dos alimentos. 2. Frutas – Perfil fenólico.
3. Frutas da Caatinga – Análises. 4. Digestão *in vitro*. I. Título.

UFPB/BC

CDU: 664(043)

RODRIGO LUIZ TARGINO DUTRA

**AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE *IN VITRO* DE COMPOSTOS FENÓLICOS
EM MANGABA (*Hancornia speciosa*), SERIGUELA (*Spondias purpurea*) E UMBU-
CAJÁ (*Spondias spp.*)**

Dissertação APROVADA em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a. Dr.^a. Graciele da Silva Campelo Borges –PPGCTA/CTDR/UFPB
Orientadora

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

Prof. Dr.^a. Jailane de Souza Aquino –PPGCN/CCS/UFPB
Examinador externo

Prof.^a. Dr.^a. Marta Suely Madruga – PPGCTA/CT/UFPB
Examinador interno

*À Deus, por todas as conquistas e
superações, e por tudo que faz em minha
vida. Aos meus amados pais, e aos meus
avós maternos.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, que sempre me deu força e acima de tudo coragem para enfrentar todos meus medos, onde nesses 2 anos graças a sua infinita bondade pude desfrutar de momentos maravilhosos e outros não tão bons, mas que me fizeram crescer, meu eterno obrigado.

À minha orientadora, professora Graciele da Silva Campelo Borges, por toda paciência e carinho com que conduziu minha orientação, prezando sempre pelo meu aprendizado e crescimento acadêmico, mesmo que de longe sempre se preocupando com meu bem-estar, obrigado pelo incentivo e cobranças, foi ótimo ter sido seu primeiro filho acadêmico.

À minha co-orientadora, professora Marciane Magnani, por ter aberto as portas do laboratório de Processos Microbianos em Alimentos e por suas orientações que me fizeram criar uma nova perspectiva sobre minha pesquisa, meu sincero obrigado.

À minha banca examinadora, professora Marta Madruga e professora Jailane Aquino, pelo tempo empregado e contribuições, obrigado.

À Universidade Federal da Paraíba (UFPB), principalmente ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA), pela oportunidade e estrutura fornecida.

Ao corpo docente do PPGCTA, pelos ensinamentos essenciais e a seus funcionários pela disponibilidade e gentileza, em especial, a secretária Lindalva.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa a qual fui agraciado.

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

À meus pais, Ronaldo Dutra e Angela Targino, por todo apoio e amor que me lembram sempre o porquê de todo esforço, meus exemplos de vida e de ser humano, nenhum obrigado é capaz de expressar o amor que sinto por vocês.

À meus avós maternos, Luiz e Marli, por todo carinho e por sempre acreditarem em mim, meus segundos pais.

À minha irmã, Maria Rafaella, por toda cumplicidade que cultivamos e pelos segredos guardados, além da ajuda na criação de nossos filhos (Duque, Preta e Fubá).

À minhas fieis companheiras de mestrado Carine Maciel e Fabiola Diniz, pela amizade, sinceridade, puxões de orelha, confidências e por toda cumplicidade que conseguimos juntos,

vocês se tornaram os melhores presentes que esse mestrado me concedeu, independente dos caminhos que tomaremos a partir de agora, eu levarei cada uma de vocês nas minhas memórias.

Às minhas companheiras de laboratório que se tornaram companhias especiais e boas amigas, Geany Targino, Rayssa Carvalho e Idalainy Carvalho, obrigado pela amizade e pelos momentos primorosos.

À minha irmã acadêmica Aline Dantas por toda ajuda e companheirismo não só no meio acadêmico, mas também fora dele.

Aos meus colegas e amigos da turma de mestrado 2015 do PPGCTA, em especial a Leanderson, que além de colega, tornou-se um amigo de vida.

Às técnicas do laboratório de físico-química do CTDR, Aline Gouveia e Claudia Gouveia, por toda ajuda e colaboração durante boa parte da minha pesquisa, além da amizade construída e conversas trocadas, Obrigado por fazerem a parte experimental do meu projeto mais especial e animada com a presença de vocês.

Aos meus amigos pessoais que me apoiaram e me motivaram durante toda a caminhada, Josildo, Karla, Flaviany, Jessica, Aniele, Iolly, Brunna e Alziane, obrigado por todos os risos.

Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos, e não tivesse
amor, seria como o metal que soa ou como o sino que
tine...

O amor é sofredor, é benigno; o amor não é invejoso; o
amor não trata com leviandade, não se ensoberbece.
Não se porta com indecência, não busca os seus interesses,
não se irrita, não suspeita mal;
Não folga com a injustiça, mas folga com a verdade;
Tudo sofre, tudo crê, tudo espera, tudo suporta.
O amor nunca falha; mas havendo profecias, serão
aniquiladas; havendo línguas, cessarão; havendo ciência,
desaparecerá;

...

Agora, pois, permanecem a fé, a esperança e o amor, estes
três, mas o maior destes é o amor.

1 Coríntios 13:1-13

RESUMO

As frutas da caatinga tem despertado crescente interesse por parte da indústria de alimentos devido aos seus potenciais benefícios à saúde. Frutas exóticas como a seriguela (*Spondias purpurea*), umbu-cajá (*Spondias spp.*) e mangaba (*Hancornia speciosa*) são importantes fontes de compostos bioativos, como os fenólicos. Entretanto, a alta perecibilidade dessas frutas é um fator que dificulta sua oferta *in natura*, o que leva ao processamento das mesmas, que por vez tem impacto direto no conteúdo de bioativos presentes devido ao processo de modificação estrutural mediante reações que podem interferir na bioacessibilidade dos compostos bioativos, ocasionando perdas nutricionais. Por estas razões o presente trabalho objetivou determinar o perfil fenólico das frutas de mangaba, seriguela e umbu-cajá e de suas respectivas polpas, avaliando a capacidade antioxidante e verificando o comportamento dos compostos fenólicos quando expostos a digestão gastrointestinal simulada e sua bioacessibilidade pós-digestão. Neste estudo, os compostos fenólicos foram identificados e quantificados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) nas frutas de seriguela (*Spondias purpurea*), umbu-cajá (*Spondias spp.*) e mangaba (*Hancornia speciosa*), e nas suas respectivas polpas e nas frações oriundas da digestão gastrointestinal. A atividade antioxidante da fração bioacessível após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro* foi quantificada através dos ensaios DPPH e FRAP. A partir do perfil fenólico determinado das frutas em comparação com a suas respectivas polpas congeladas, pôde-se identificar uma redução no conteúdo de compostos fenólicos das frutas do gênero *Spondias spp.* Na fruta mangaba houve aumento de alguns teores de fenólicos livres aumentados, como ácido 3,4-dihidroxibenzoico (+50%), e ácido *p*-cumarico (+50%). Na polpa em relação a fruta a redução dos compostos fenólicos foi observada frente aos ensaios antioxidantes, em que a capacidade sequestradora de radicais livres reduziu após o processamento das frutas. A partir da digestão gastrointestinal simulada observou-se que as frutas do gênero *Spondias* possuem uma elevada fração de seus compostos fenólicos bioacessíveis após a digestão, com uma bioacessibilidade de 73,92% (ácido gálico, polpa umbu-cajá), diferentemente da mangaba 5,60% (ácido ferúlico). Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que o consumo da polpa destas frutas, especialmente seriguela e umbu-cajá podem contribuir significativamente para a ingestão de compostos antioxidantes, já que os mesmos possuem alta concentração de compostos fenólicos bioacessíveis.

Palavras-chave: Diálise. Digestão *in vitro*. Fenólicos. *Hancornia speciosa*. *Spondias*.

ABSTRACT

The fruit of the caatinga has aroused growing interest on the part of the food industry because of its potential health benefits. Exotic fruits such as seriguela (*Spondias purpurea*), umbu-cajá (*Spondias spp.*) and mangaba (*Hancornia speciosa*) are important sources of bioactive compounds, such as phenolics. However, the high perishability of these fruits is a factor that hampers their in natura supply, which leads to their processing, which in turn has a direct impact on the content of bioactive present due to the process of structural modification through reactions that may interfere in the bioaccessibility of bioactive compounds, causing nutritional losses. For these reasons, the objective of this work was to determine the phenolic profile of mango, seriguela and umbu-cajá fruits and their respective pulps, evaluating the antioxidant capacity and checking the behavior of phenolic compounds when exposed to simulated gastrointestinal digestion and post-digestion bioaccessibility. In this study, phenolic compounds were identified and quantified by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) on fruits of seriguela (*Spondias purpurea*), umbu-cajá (*Spondias spp.*) and mangaba (*Hancornia speciosa*), and their respective pulps and Fractions from gastrointestinal digestion. The antioxidant activity of the bioaccessible fraction after in vitro simulated gastrointestinal digestion was quantified by the DPPH and FRAP assays. From the determined phenolic profile of fruits compared to their respective frozen pulps, a reduction in the phenolic compounds content of fruits of the genus *Spondias spp.* In the mangaba fruit there was an increase in some increased free phenolic contents, such as 3,4-dihydroxybenzoic acid (+ 50%), and p-coumaric acid (+ 50%). In the fruit pulp the reduction of the phenolic compounds was observed in front of the antioxidant tests, in which the free radical scavenging capacity reduced after the fruit processing. From the simulated gastrointestinal digestion it was observed that fruits of the genus *Spondias* have a high fraction of their bioaccessible phenolic compounds after digestion, with a bioaccessibility of 73.92% (gallic acid, umbu-cajá pulp), unlike mangaba 5, 60% (ferulic acid). The results obtained in this work demonstrate that the pulp consumption of these fruits, especially seriguela and umbu-cajá can contribute significantly to the ingestion of antioxidant compounds, since they have high concentration of bioaccessible phenolic compounds.

Keywords: Dialysis. *In vitro* digestion. Phenolics. *Hancornia speciose*. *Spondias*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação gráfica das principais classes de compostos fenólicos.....	19
Figura 2	Fluxograma de processamento de fruta para obtenção de polpa congelada...	28

ARTIGO

Figura 1	Activities antioxidante by both FRAP and DPPH test, of extracts obtained from phase IN that representes fraction following dialysis through a cellose membrane.....	59
Figura 2	Representative chromatograms of simulated gastrointestinal digestion of mangaba frozen pulp, phase gastric (A), phase OUT (non-dialyzed fraction after intestinal digestion) (B) and phase IN (dialyzed fraction after intestinal digestion) (C). All samples recorded at 280 nm.....	60
Figura 3	Representative chromatograms of simulated gastrointestinal digestion of seriguela frozen pulp, phase gastric (A), phase OUT (non-dialyzed fraction after intestinal digestion) (B) and phase IN (dialyzed fraction after intestinal digestion) (C). All samples recorded at 280 nm.....	61
Figura 4	Representative chromatograms of simulated gastrointestinal digestion of umbu-cajá frozen pulp, phase gastric (A), phase OUT (non-dialyzed fraction after intestinal digestion) (B) and phase IN (dialyzed fraction after intestinal digestion) (C). All samples recorded at 280 nm.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Identificação taxonômica do gênero <i>Spondias</i>	16
Tabela 2	Compostos fenólicos identificados em frutas do gênero <i>Spondias</i> e <i>Harcornia speciosa</i>	21

ARTIGO

Tabela 1	Effects of pulp processing on content phenolic of mangaba, seriguela and umbu-cajá.....	54
Tabela 2	The phenolic profile in mangaba, seriguela, and umbu-cajá frozen pulps after the gastric and duodenal steps of the <i>in vitro</i> gastrointestinal digestion.....	57

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 EXPLORAÇÃO COMERCIAL DE FRUTAS EXÓTICAS DA CAATINGA.....	15
2.1.1 Características e exploração extrativista da seriguela (<i>Spondias purpurea</i>) e umbu- cajá (<i>Spondias spp.</i>).....	16
2.1.2 Características e exploração extrativista da mangaba (<i>Hancornia speciosa</i>).....	18
2.2 COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM FRUTAS DA CAATINGA	18
2.3 BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM FRUTAS	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1. SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS E REAGENTES	27
3.2. PREPARAÇÃO DA AMOSTRA	27
3.3. EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE FRUTAS E POLPA DE FRUTAS.....	28
3.3.1 Extração de compostos fenólicos livres.....	28
3.3.2 Extração de compostos fenólicos conjugados.....	29
3.4. QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	29
3.5. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	30
3.6. DIGESTÃO GASTROINTESTINAL IN VITRO	30
3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	31
REFERÊNCIAS	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1 ARTIGO	39
5 CONCLUSÃO.....	67

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui um grande número de espécies frutíferas exóticas ainda pouco exploradas, distribuídas em seus diversos biomas, como a Floresta Amazônica, a Caatinga, o Cerrado e a Mata Atlântica. A fruticultura no nordeste brasileiro constitui-se em uma atividade econômica bastante promissora, devido ao sabor e aroma exótico de suas frutas e à sua enorme diversificação (SILVA et al., 2014a). Essas espécies são de grande interesse para as agroindústrias e representam uma possível fonte de renda para a população local. Além disso, a presença de compostos bioativos em produtos alimentícios com potenciais benefícios é de interesse dos consumidores (RUFINO et al., 2010).

A Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura e o Guia Alimentar para a População Brasileira recomendam o consumo de alimentos regionais para haver o incentivo socioeconômico e dos interesses ambientais, visando o desenvolvimento sustentável de comunidades agrícolas em áreas de alta diversidade biológica (BRASIL, 2015). A Zona da Mata Paraibana correspondente ao bioma da Mata Atlântica concentra uma alta biodiversidade de frutíferas, entre elas frutas do gênero *Spondias* e *Hancornia*.

Dentro do gênero *Spondias* estão algumas frutas como: cajá (*Spondias mombin* L.) a seriguela (*Spondias purpurea*), e a umbu-cajazeira (*Spondias* sp.) que é um híbrido natural entre o umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda), e a cajazeira (*Spondias mombin* L.) (SANTOS et al., 2013). Todas estas espécies têm frutas em forma de drupa e possuem uma alta aceitabilidade sensorial (EMBRAPA, 1999).

A mangaba (*Hancornia speciosa*), é uma fruta que ainda permanece subexplorada apesar de seu grande potencial e interesse para a agroindústria, com versatilidade na produção de produtos tais como sorvete, biscoitos, xarope, suco, vinho, licor, geleia, compotas de frutas, álcool e vinagre (CLERICI, CARVALHO-SILVA, 2011).

Todavia, estas frutas possuem uma alta perecibilidade devido ao seu acelerado ciclo respiratório, o que dificulta a exploração comercial para outras regiões brasileiras e também para a exportação, sendo assim o processamento para obtenção da polpa de fruta vêm sendo uma alternativa para a agroindústria para exploração e comercialização dessas frutas.

Atualmente, a polpa de fruta é um produto da agroindústria que possibilita a oferta de diferentes sabores de uma forma prática e cada vez mais vem sendo utilizada tanto a nível comercial quanto a nível domiciliar, em que a polpa de fruta surge como uma forma prática e saudável na preparação de sucos, sorvetes, reduções e mousses.

Entretanto, o processamento pode alterar e muitas vezes degradar os compostos bioativos presentes em frutas e vegetais. A maceração, homogeneização e vários outros passos de separação podem resultar na oxidação, degradação, lixiviação e outros eventos que podem levar a redução dos níveis de

bioativos em alimentos processados, quando comparado com os frescos (KALT, 2005). No entanto, há também estudos recentes que demonstraram os níveis de bioativos de produtos alimentares transformados, como derivados de tomate (*Solanum lycopersicum*) (CAPANOGLU; BEEKWILDER; BOYACIOGLU; HALL E DE VOS, 2008), e ginja (*Prunus cerasus*) (TOYDEMIR; CAPANOGLU; GOMEZ ROLDAN, et al., 2013) mantiveram seus compostos durante o processamento ou aumentaram seu conteúdo devido a modificação na matriz alimentar.

Neste contexto, o processamento de frutas empregado para obtenção de polpa desencadeia uma série de mudanças na matriz alimentar, a exemplo das alterações na composição de compostos bioativos, através do conhecimento do impacto do processamento na produção de polpa de frutas se torna possível entender os mecanismos que podem interferir nas características nutricionais das mesmas.

Entretanto as mudanças ocasionadas na matriz alimentar podem resultar em mudanças durante o processo de digestão, absorção e assimilação de nutrientes, entre eles os compostos fenólicos que desempenham importante função antioxidante no organismo. A fração de compostos bioativos libertados a partir da matriz alimentar que após digestão é solubilizada no intestino para absorção intestinal é geralmente conhecida como a fração bioacessível (CARBONELL-CAPELLA et al., 2014). Compostos bioativos devem ser bioacessíveis (ou seja, eficazmente absorvido a partir do intestino e através da circulação serem entregues no local apropriado dentro do corpo) para atingir os efeitos benéficos à saúde (LIANG et al., 2012). Estudos anteriores confirmaram que um sistema modelo de digestão *in vitro*, simulando a digestão humana poderia indiciar uma previsão confiável da bioacessibilidade de compostos bioativos e da capacidade antioxidante total em produtos vegetais (RODRÍGUEZ-ROQUE^a, ROJAS-GRAÜ, ELEZ-MARTÍNEZ, MARTÍN-BELLOSO, 2013)

Considerando esses aspectos, o presente estudo teve como principal objetivo determinar o perfil fenólico das frutas mangaba (*Hancornia speciosa*), seriguela (*Spondias purpurea*) e umbu-cajá (*Spondias spp.*) e de suas respectivas polpas; assim demonstrando o efeito do processamento da polpa de fruta sobre o perfil de compostos fenólicos e na atividade antioxidante. Ademais, determinou-se o perfil de compostos fenólicos bioacessíveis e não bioacessíveis nas polpas de fruta submetidas à digestão gastrointestinal simulada.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EXPLORAÇÃO COMERCIAL DE FRUTAS EXÓTICAS DA CAATINGA

Nos últimos anos ocorreu um aumento na disponibilidade de produtos de frutas exóticas no mercado nacional e internacional com alegação de saúde como parâmetro de diferenciação, e também os novos sabores exóticos (SABBE et al., 2009; VIDIGAL et al., 2011). Frutas exóticas, consumidos regionalmente estão ganhando popularidade no mercado devido não só os seus sabores agradáveis, mas também os seus valores nutritivos e bioativos (COSTA, GARCIA-DIAZ, JIMENEZ, SILVA, 2013).

O Nordeste no Brasil, é caracterizado pela ocorrência de diferentes biomas como a Mata Atlântica e o bioma da Caatinga semi-árida. Na Mata Atlântica de ocorrência na região litorânea, encontra-se a Zona da Mata que abrange diversos estados do Nordeste, entre eles a Paraíba. A Zona da Mata Paraibana é considerada uma faixa de transição, pois se encontra na parte litoral do estado da Paraíba, abrangendo cerca de 30 municípios, e nessa região há uma maior disponibilidade de água do que nas outras áreas do estado, contendo uma grande biodiversidade de frutíferas (LEITE, MACHADO, 2010).

Na Zona da Mata Paraibana são encontradas naturalmente as frutíferas exóticas subutilizadas e ainda em domesticação, entre elas o gênero *Spondias* e *Hancornia* todas com enorme potencial para exploração comercial (GONDIM et al., 2013).

Todavia, na maioria das vezes a exploração extrativista dessas frutíferas constituem-se como a única fonte alternativa de renda para famílias e pequenos produtores rurais, sendo assim sua fonte de renda sazonal. Estas frutas são muito consumidas *in natura*, entretanto, por serem altamente perecíveis, grande parte tem vida curta pós-colheita sofrendo deterioração em poucos dias, tendo sua comercialização dificultada principalmente pelo transporte de longas distâncias, necessitando de técnicas de conservação, que propiciem manter as características naturais da fruta, viabilizando um produto com maior vida de prateleira (SANTOS et al., 2013). Estas frutas são amplamente transformadas em sucos, smoothies, purês, néctar, polpas, etc; além de desidratados (RAWSON et al., 2011).

Apesar de muitas frutíferas nativas apresentarem amplas perspectivas de aproveitamento econômico, poucas, como mangabeira (*Hancornia speciosa*), cajazeira (*Spondias mombim*), umbuzeiro (*Spondias tuberosa*) e umbu-cajazeira (*Spondias spp.*), têm sido exploradas, na maioria das vezes de forma extrativista, dada a falta de informações que possibilitam sua exploração comercial (SANTOS, 2011).

Um dos principais responsáveis pela exploração dessas frutas exóticas são as indústrias de polpas de frutas congeladas que tem se expandido nos últimos anos, notadamente no nordeste brasileiro. As unidades fabris se compõem, em sua maioria, de pequenos produtores, onde grande parte deles utiliza

processos artesanais, sem a devida observância das técnicas adequadas de processamento (SILVA; SILVA, 2012).

A obtenção de produtos como a polpa de fruta vem sendo explorado pelas agroindústrias uma vez que estas frutas apresentam rendimento média de 55 a 65% em polpa, com potencial para utilização na forma processada como polpa, suco, néctar e sorvetes (SANTOS et al., 2013; SILVA; SILVA, 2012) podendo minimizar perdas, desperdícios e agregar valor ao produto, contornar problemas de sazonalidade e possibilitar sua distribuição por maiores períodos do ano. Além da oferta dessas frutas ao mercado como produtos práticos e visando a promoção do consumo dessas frutas em diferentes regiões do país, como também a comercialização para o mercado externo (BATISTA et al., 2013; PAGLARINI et al., 2011; SANTOS et al. 2013).

O consumo de polpa de fruta congelada vem crescendo a cada ano, uma vez, que esse produto se destaca por sua praticidade, a substituição ao consumo de bebidas carbonatadas, e suas características sensoriais e nutricionais uma vez que o consumidor exige cada vez mais produtos de elevada qualidade, fáceis de preparar e consumir, não só o consumo doméstico, mas também em restaurantes, hotéis, lanchonetes e hospitais (CALDAS et al., 2010; PAGLARINI et al., 2011).

No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) regulamenta a qualidade das polpas através da resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001 que aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, e também através da Instrução Normativa nº1, de 7 de janeiro de 2000, que regulamenta os padrões de identidade qualidade para polpa de frutas tropicais.

De acordo com o MAPA polpa de fruta é definido como produto não fermentado, não concentrado e não diluído, obtido pelo esmagamento de frutos polposos, por meio de um processo tecnológico adequado com um teor mínimo de sólidos totais provenientes da parte comestível do fruto, específico para cada polpa de fruta (BRASIL, 2000). As polpas devem ser obtidas de frutas frescas, sãs e maduras mantendo as características físicas, químicas e organolépticas do fruto. Este produto não poderá conter fragmentos das partes não comestíveis, nem substâncias estranhas a sua composição normal. Os parâmetros físico-químicos que indicam a qualidade das polpas são: pH, sólidos solúveis totais, acidez total titulável, açúcares totais e ácido ascórbico (BRASIL, 2000).

2.1.1 Características e exploração extrativista da seriguela (*Spondias purpurea*) e umbu-cajá (*Spondias spp.*)

O gênero *Spondias*, pertencente à família *Anacardiaceae*, possui 18 espécies distribuídas mundialmente, onde cinco dessas tem ocorrência no Brasil e são árvores frutíferas tropicais exploradas por seu valor comercial conforme Tabela 1.

Tabela 1 - Identificação taxonômica do gênero *Spondias*

Fruta	Espécie
Cajá	<i>Spondias monbin</i> L.
Cajarana	<i>Spondias dulcis</i> P.
Seriguela	<i>Spondias purpurea</i>
Umbu	<i>Spondias tuberosa</i> A.d
Umbu-cajá	<i>Spondias spp</i>

Fonte: Próprio autor.

Estas espécies produzem frutas do tipo drupa, de boa aparência, qualidade nutritiva, aroma e sabor agradáveis, os quais são muito apreciados para o consumo como fruta *in natura* ou processados como polpa, sucos, doces, néctares, picolés e sorvetes, sendo evidente a crescente comercialização nos mercados, supermercados e restaurantes do país (EMBRAPA, 1999).

Em relação às propriedades nutricionais, as *Spondias* são ricas em vitaminas (B1, B2, B3, A, e C), minerais (cálcio, potássio, ferro e fósforo) e ainda tem uma alta concentração de carotenoides e taninos, os quais estão relacionados à sua capacidade antioxidante (VIDIGAL et al., 2011).

Dentre a espécie que se destaca ao gênero está a seriguela (*Spondias purpurea* L.), planta nativa da América Central, popularmente conhecida como: ciriguela, ameixa espanhola, cajá vermelho, jacote, ciruela mexicana (BRITO, 2010; SILVA, 2011). Essa fruta desponta no nordeste brasileiro como uma excelente opção econômica para inúmeros produtores, devido sua qualidade as frutas são consumidas *in natura*, ou utilizadas no preparo de polpa concentrada, de bebidas fermentadas, vinho, sucos e sorvetes (FREIRE, 2001).

Nas seriguelas provenientes do nordeste brasileiro, a polpa representa 70,22%, a casca representa 13,80% e a semente outros 15,61% do peso da fruta no estágio maduro (EMBRAPA, 2001).

O umbu-cajá (*Spondias spp.*) é um híbrido natural entre a cajazeira e o umbuzeiro (GIACOMETTI, 1993), tem origem desconhecida, características de planta xerófita e está disseminado em alguns estados do Nordeste como Rio Grande do Norte, Ceará, Piauí, Pernambuco, Paraíba e Bahia (SOUZA, 1988).

2.1.2 Características e exploração extrativista da mangaba (*Hancornia speciosa*)

A mangabeira, (*Hancornia speciosa*), frutífera da família das *Apocynaceae*, é uma planta arbórea de porte médio, que atinge de 5 a 10 metros de altura. Nativa do Brasil, é encontrada vegetando espontaneamente em várias regiões do país, desde o Nordeste, onde é mais abundante, até as áreas sob Cerrado da Região Centro-Oeste; e verifica-se ainda sua ocorrência nas Regiões Norte e Sudeste (VIEIRA NETO, 2002). Possui grande ocorrência na zona da mata paraibana, devido as condições climáticas e sua fácil adaptação ao bioma da caatinga.

Embora também seja produtora de látex, a fruta, denominada “mangaba” é o seu principal produto; este nome tem origem na língua tupi-guarani e significa “coisa boa de comer” (VIEIRA NETO, 2002). A fruta do tipo baga é elipsóide ou arredondado, com 2,0 a 6,0 cm, exocarpo amarelo, com manchas avermelhadas, polpa bastante doce, carnosos-viscosa, ácida, contendo geralmente 2 a 15 sementes discóides, com 7 a 8 mm de diâmetro, castanho claras, delgadas e rugosas (SOARES, 2012).

A mangabeira apresenta frutas aromáticas, saborosas e nutritivas, com ampla aceitação de mercado, tanto para o consumo *in natura*, quanto para a indústria. Apesar disso, pelo fato da cultura ainda continuar sendo mantida no habitat natural (SOARES, 2012). O extrativismo ainda é a sua principal forma de exploração; durante parte do ano, inúmeras famílias têm na colheita e comercialização da mangaba uma importante ocupação e fonte de renda. De acordo com dados oficiais, com exceção de Minas Gerais e Mato Grosso, só há registro de colheita desta fruta na região Nordeste, sendo Sergipe, Minas Gerais e Bahia os maiores produtores (VIEIRA NETO, 2002).

A mangaba apresenta aroma e sabor agradáveis ao consumidor, o que impulsiona sua utilização como ingrediente na produção ou enriquecimento de produtos, além de seu alto rendimento favorecer sua utilização, a mangaba atualmente é utilizada em sorvetes, geleias, doces, xaropes, vinhos, sucos e etc. No entanto, nas regiões de produção, estas frutas são muito procuradas no mercado, fazendo com que seus preços sejam mais altos do que a de uvas e outras frutas nobres (LEDERMAN, SILVA JÚNIOR, BEZERRA, ESPÍNDOLA, 2000).

2.2 COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM FRUTAS DA CAATINGA

O ato ou efeito de nutrir-se compreende um conjunto de processos que envolvem desde a ingestão do alimento até a sua assimilação pelas células. Os efeitos benéficos deste ato que é imprescindível à vida, dependem do suprimento qualitativo e quantitativo de nutrientes contidos nos alimentos (GONÇALVES, 2012).

Nas frutas, os compostos fenólicos se encontram em toda a matriz, entretanto se diferenciam em quantidades nas diferentes estruturas da mesma como; casca, polpa e sementes, esses compostos na planta mãe, tem inúmeras funções, podendo também ser chamado de metabólitos secundários, participam do metabolismo, assim como da defesa das plantas as injurias sofridas como ação da luz e etc. (COSTA, 2013).

As frutas são consideradas as principais fontes dietéticas de substâncias, tais como vitaminas, compostos fenólicos e carotenoides, que reduzem o risco de doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, assim como alguns tipos de cancro (ABOUL-ENEIN; BERCZYNSKI; KRUK, 2013).

Os compostos fenólicos têm sido associados com a capacidade antioxidante em alimentos ricos nestes compostos, e relacionados com a ingestão de frutas e vegetais e a redução do risco de certas doenças, tornando cada vez maior o interesse por estas substâncias (HAMINIUK et al., 2012). As propriedades biológicas dos compostos fenólicos estão relacionadas com a sua estrutura química estando os seus possíveis benefícios para à saúde igualmente relacionados com a sua absorção e metabolismo (BERGAMASCHI, 2010).

Os compostos fenólicos podem ser definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilo como grupos funcionais. Estes são facilmente oxidáveis, tanto por meio de enzimas vegetais específicas, quanto por influência de metais, luz, calor ou em meio alcalino, ocasionando o escurecimento de soluções ou compostos isolados. Alguns compostos são solúveis apenas em solventes orgânicos, outros, como é o caso das formas glicosiladas são solúveis em água, e existem ainda os grandes polímeros, que são totalmente insolúveis (TIVERON, 2010). A classe de compostos fenólicos engloba mais de 8 000 compostos, desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização, podendo dividir-se em diferentes classes (Figura 1) (FERREIRA; ABREU, 2007).

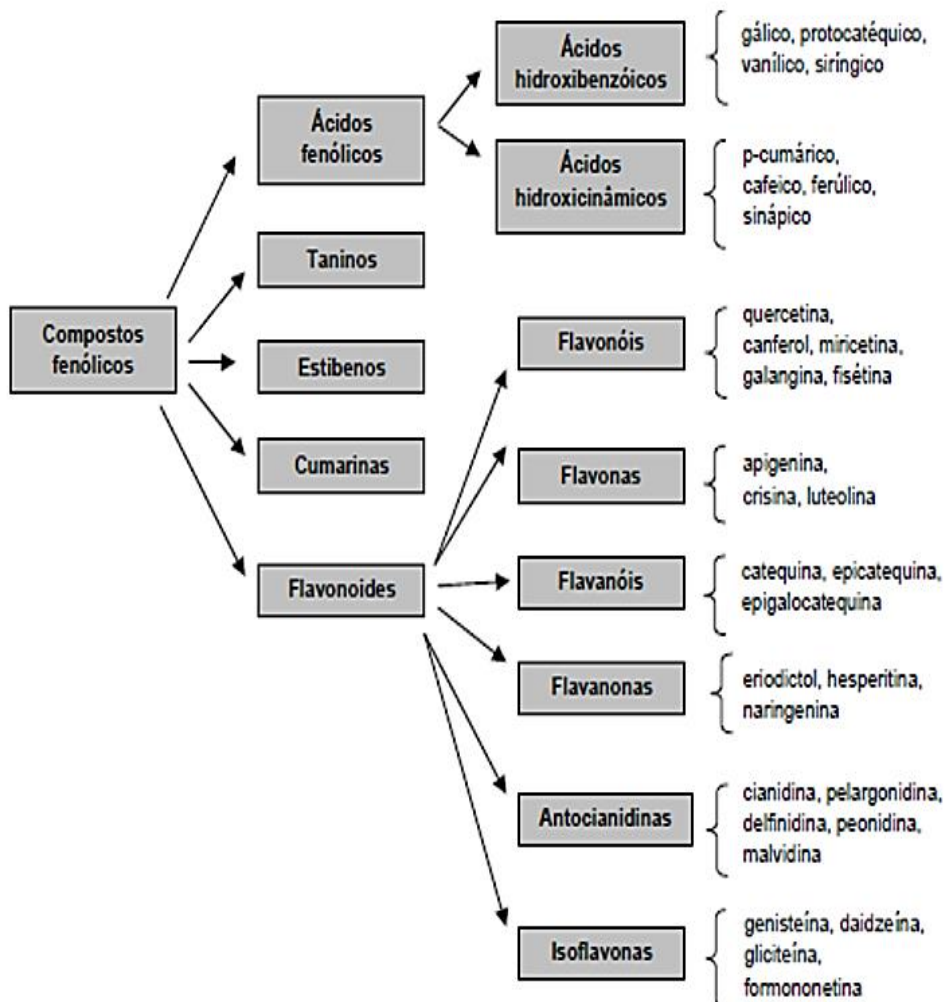
Rufino et al. (2010) relatou uma correlação significativa entre o conteúdo de ácido ascórbico e de fenólicos totais e a capacidade antioxidante de dezoito frutas tropicais brasileiras.

Inumeros compostos bioativos têm sua biossíntese e bioatividade afetadas por fatores abióticos como radiação UV, disponibilidade de água, temperatura e composição do solo. Portanto, condições ambientais adversas, como as encontradas na caatinga brasileira, podem induzir mudanças metabólicas que resultariam em maior produção e acúmulo fitoquímico em vegetais estressados (PAVARINI et al., 2012).

A maioria das frutas exóticas permanece completamente inexploradas em relação às suas características tecnológicas, bioativas e funcionais, apesar do seu potencial valor econômico. Devido à cor e doçura atraentes, essas frutas do semi-árido podem ser consumidas frescas (CEFOLA et al., 2014).

As frutas tropicais e exóticas contêm uma ampla gama de compostos bioativos com atividades relevantes para a saúde (DEMBITSKY et al., 2011).

Figura 1 - Representação gráfica das principais classes de compostos fenólicos



Fonte: Ferreira e Abreu, 2007.

Frutas do gênero *Spondias*, como a seriguela (*Spondias purpurea*), umbu-cajá (*Spondias spp.*), cajá (*Spondias mombin*) e do gênero *Harcornia*, como a mangaba (*Harcornia speciosa*), ainda são pouco exploradas cientificamente quanto aos seus compostos bioativos.

Estudos de algumas espécies de *Spondias*, seriguela e umbu foram descritos por Silva et al. (2014b), demonstram a presença de taninos, flavonoides, triterpenos e alcaloides. Omena et al. (2012) estudando frutas cultivados na Zona da Mata na região de Alagoas nade seriguela (*Spondias purpúrea*) identificaram alguns compostos em sua casca e sementes, como; leucoantocianidinas, catequinas, antraquinonas, cumarinas e saponinas tanto na casca quanto nas sementes. No umbu (*Spondias tuberosa*)

foram identificados a presença de polifenóis, taninos, antraquinonas e cumarinas na casca, e nas sementes os mesmos compostos além da presença de leucoantocianidinas.

Apesar das *Spondias spp.* serem um gênero bastante difundido no nordeste brasileiro, a caracterização dos seus compostos e atividade biológica associada ainda são pouco conhecidas, conforme demonstra a Tabela 2. Segundo Engels et al. (2012) em estudo realizado com seriguela, foi evidenciado a potente atividade antioxidante desta fruta, entretanto, existem poucos estudos sobre o perfil de compostos fenólicos existentes na mesma.

Em estudo realizado por Rufino (2010) verificou-se que a mangaba tem alto conteúdo fenólico, 169 mg GAE 100g⁻¹ em peso fresco. Entretanto o perfil de fenólicos existentes na fruta ainda é pouco conhecido, o que muitas vezes dificulta sua utilização em outros segmentos como a indústria farmacêutica e cosmética.

Tabela 2 - Compostos fenólicos identificados em frutas do gênero *Spondias* e *Harcornia*

Fruta	Compostos Identificados	Atividade Antioxidante	Fonte
Cajá (<i>S. mombin</i>)	- Ácido elágico - Quercetina	0,417 ± 0,01 (EC₅₀ - DPPH) 0,451 ± 0,029 (EC₅₀- ABTS)	Silva, et al. (2011)
Cajá (<i>S. mombin</i>)	- Luteína - Zeinoxanthin - β-criptoxantina - α-caroteno - β-caroteno	17,47±3,27 (mmol TEAC/g)	Tibursk, Rosenthal, Deliza, Godoy e Pacheco, (2011)

Seriguela (<i>S. purpurea</i>)	▪ Ácido gálico ▪ Ácido clorogênico ▪ Quercetina ▪ Rutina ▪ Kampferol		Engels, et al. (2012)
Umbu (<i>S. tuberosa</i>)	▪ Rutina ▪ Ácido Elágico ▪ Quercetina	▪ 0,558±0,008 (EC₅₀ DPPH) ▪ 0,465±0,029 (EC₅₀ ABTS)	Silva, et al. (2011)
Polpa de Mangaba (<i>H. speciosa</i>)	▪ Ácido gálico ▪ Catequina ▪ Ácido clorogênico ▪ Ácido vanílico ▪ Ácido cumarico ▪ Rutina ▪ Ácido Rosmarinico		Lima, (2015)
Mangaba (<i>H. speciosa</i>)	▪ Rutina ▪ Ácido clorogênico	-	Rego, (2015)
Seriguela (<i>S. purpurea</i>)	▪ Ácido caféico ▪ Ácido elágico ▪ Rutina ▪ Quercetina	▪ 27,11µg/mL (EC₅₀)	Silva, (2015)

O processamento tem como principal finalidade a de preservação dos alimentos por vários métodos, tais como a adição de açúcar, fermentação, congelamento e secagem. Sendo assim métodos que possibilitam a preservação das matrizes (KANSCI, 2003). Os alimentos têm sido tradicionalmente preservados por meio de tratamento térmico, para evitar a deterioração e contaminação por microrganismos como; agentes patogênicos. No entanto, este tratamento ocasiona perda de compostos bioativos e propriedades sensoriais nos alimentos (ODRIOZOLA-SERRANO, AGUILÓ-AGUAYO, SOLIVA-FORTUNY, MARTÍN-BELLOSO, 2013).

As frutas são caracterizadas como fontes alimentares ricas em compostos que trazem benefícios a saúde do consumidor (EBERHARDT, et al, 2000). A maior atividade antioxidante nas frutas é devida à presença de polifenóis e compostos flavonoides.

Wang, He e Chen (2014) relataram que a alta pressão e a alta temperatura aumentam o teor de compostos fenólicos devido a desagregação da estrutura da parede celular e hidrólise dos polissacáridos. Além disso, é possível que esses tratamentos com principal finalidade de inativação enzimática relacionadas a perdas de substâncias fenólicas (tal como a polifenol oxidase) ou aumento da atividade de enzimas que participem na biossíntese de fenóis, gerando assim esse aumento no conteúdo de fenóis (MORALES-DE LA PEÑA et al., 2011).

Renard, et al. (2011), observou elevadas perdas (mais de 50% de perda) em teor fenólico de uvas-do-monte após o passo de trituração. Estas perdas poderiam estar todas ligadas à libertação de enzimas nativas (polifenol oxidase, peroxidase, etc.) a partir de células durante o processo de moagem, como resultado da ruptura da parede celular ou membrana, agindo na oxidação e degradação de compostos.

2.3 BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM FRUTAS

Conhecer o comportamento dos compostos bioativos em situações similares às que ocorrem *in vivo* permite avaliar as diferentes matrizes alimentares e suas composições com as suas reais contribuições em relação à atividade antioxidante no organismo (RYAN; PRESCOTT, 2010; TAGLIAZUCCHI et al., 2010; WOOTTON-BEARD; MORAN; RYAN, 2011; WOOTTON-BEARD; RYAN, 2011). Embora estudos definitivos sobre a bioacessibilidade dos polifenóis requerem experiências *in vivo* (VAN BUGGENHOUT et al., 2010), modelos *in vitro* são significativos uma vez que são simples, baratos e reprodutíveis, além de poderem ser utilizados para pesquisar grandes números de amostras ou para estudar uma vasta gama de condições experimentais (MCDUGALL; FYFFE; DOBSON; STEWART, 2005).

Entretanto estudos *in vivo* demandam grande investimento, mão de obra qualificada, além de por muitas vezes longos períodos de tempo. Apesar das limitações e por se constituir normalmente apenas um modelo hipotético de digestão, modelos de digestão gastrointestinal *in vitro* têm sido desenvolvidos para a avaliação de bioacessibilidade, permitindo o estudo de alterações nos componentes da dieta durante as fases gástrica e a fase intestinal, devido a fatores que tem impacto na sua bioacessibilidade (BIEHLER; BOHN, 2010; CILLA; GONZÁLEZ-SARRIAS; TOMÁS-BARBERÁN; ESPÍN; BARBERÁ, 2009;). Além disso, demonstrou-se que a avaliação da bioacessibilidade por modelos *in vitro* podem ser bem correlacionados com os resultados de estudos em seres humanos e em modelos animais (BIEHLER; BOHN, 2010).

O trato gastrointestinal pode ser considerado como um dispositivo de extração eficiente, onde parte dos compostos contidos em matrizes alimentares são extraídos e disponibilizados para absorção no intestino (SAURA-CALIXTO et al., 2007; TAGLIAZUCCHI et al., 2010). É importante considerar a absorção e a atividade dos diversos compostos oriundos de alimentos, em relação as 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 (KOSÍNSKA-CAGNAZZO, 2015).

A natureza dos compostos extraíveis, a sua estabilidade e a sua atividade antioxidante dependem de muitos fatores, tais como a matriz alimentar, o pH, a temperatura, a presença de inibidores ou potenciadores de absorção, a presença de enzimas, o hospedeiro, e outros fatores relacionados (MCDOUGALL; DOBSON; SMITH; BLAKE; STEWART, 2005; SAURA-CALIXTO; SERRANO; GONI, 2007; TAGLIAZUCCHI; VERZELLONI; BERTOLINI; CONTE, 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 absorvidos são os compostos fenólicos e se a atividade antioxidante é alterada durante a digestão (TAGLIAZUCCHI et al., 2010). Esse método é empregado devido a segurança, rapidez e não possuir restrições éticas quando comparado com o método *in vivo* (YOU et al., 2010).

A digestão *in vitro* fornece uma maneira de se avaliar a bioacessibilidade de antioxidantes provindos de fontes alimentares em um sistema biológico e vem sendo muito aplicada em estudos com sucos de frutas e vegetais além de outras matrizes alimentares (WOOTTON-BEARD, RYAN, 2011).

A bioacessibilidade é definida como a quantidade de compostos com atividade biológica constituintes da matriz alimentar após digestão gastrointestinal, e, portanto, presente nas paredes intestinais a fim de serem transportados através destas. Nesta etapa, os compostos bioativos, entre eles os antioxidantes, podem sofrer alterações gerando por consequência a formação de novos compostos com bioacessibilidade e ação biológica diferenciadas dos compostos originais (RYAN, PRESCOTT,

2010; SAURA-CALIXTO, SERRANO, GOÑI, 2007; TAGLIAZUCCHI et al., 2010; WOOTTON-BEARD, MORAN, RYAN, 2011; WOOTTON-BEARD, RYAN, 2011).

Com base em um estudo *in vitro*, foi demonstrado que o processo de digestão diminuiu o conteúdo fenólico por, pelo menos em 47% para as bebidas de frutas digeridas em comparação com as que não sofreram processo de digestão (ANÓNIMO et al., 2009).

Em outro estudo, após digestão gástrica e intestinal, verificou-se que apenas 62% dos fenólicos originalmente presentes em uvas eram bioacessíveis (TAGLIAZUCCHI et al., 2010). A transição a partir do ácido gástrico para o ambiente intestinal alcalino moderado causou uma diminuição da bioacessibilidade na quantidade total de fenólicos, flavonóides e especialmente antocianinas. As antocianinas, um dos cinco grupos principais de compostos fenólicos em maçã (WOJDYLO et al., 2008), são altamente instáveis a um pH intestinal (TAGLIAZUCCHI et al., 2010).

Em estudo realizado por Bouayed, Hoffmann e Bohn (2011), foi estudado o conteúdo de fenólicos livres de quatro variedades de maçãs em um modelo *in vitro* de digestão gastrointestinal, incluindo a diálise, e observou-se que ocorreu maior liberação de compostos fenólicos na matriz durante a fase gástrica, cerca de 65% de fenóis e flavonóides, ocorrendo uma liberação adicional menor que 10% durante a digestão intestinal, não tendo efeito significativo para todos os tipos de maçã.

Porém a bioacessibilidade dos nutrientes e/ou compostos presentes numa matriz alimentar podem variar, se a mesma tiver sofrido algum processamento, pois ocorre uma transformação estrutural na matriz. A modificação da matriz alimentar no processamento é esperada. Estas mudanças poderiam exercer uma influência significativa sobre a libertação desses compostos na célula, transformação e absorção de alguns nutrientes durante a digestão (PARADA; AGUILERA, 2007).

O processamento influi na bioacessibilidade, devido a mudança na matriz, em estudo realizado por Aschoff, et al. (2015) observou-se que a bioacessibilidade dos compostos bioativos de *Citrus* depende se eles forem digeridos como fruta inteira ou em forma de sucos. Além disso, as espécies de citros (laranja-doce e mandarina) e o armazenamento pós-colheita poderiam modular a bioacessibilidade dos carotenoides durante a digestão gastrointestinal *in vitro* (RODRIGO; CILLA; BARBERÁ; ZACARIAS, 2015). Observou-se também em citrinos que a bioacessibilidade dos constituintes hidrofílicos dos *Citrus*, tais como flavonóides (~19-43%) e vitamina C (~21-31%), variou com a matriz alimentar, como suco de laranja ou bebidas com adição de suco de laranja, e também com a tecnologia de processamento empregada (CILLA et al., 2009; CILLA et al., 2011, CILLA et al., 2012; GIL-IZQUIERDO et al., 2001; RODRÍGUEZ-ROQUE et al., 2013; RODRÍGUEZ-ROQUE et al. 2015).

Peixoto, et al. (2016) estudando a bioacessibilidade de antocianinas em jabuticaba, jamelão e jambo obteve os seguintes resultados; 10%, 45% e 15%; respectivamente, justificando os resultados

como a não liberação completa dos componentes da matriz, além das interações com fibras, o que dificultaria a absorção destes componentes.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS E REAGENTES

Pepsina, α -amilase, pancreatina, glicodesoxicolato, taurodesoxicolato, taurocolato foram obtidos da empresa Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). Foram adquiridos ácido clorídrico (HCl) (37% m / m) e metanol da empresa Neon (São Paulo, Brasil). Os reagentes de ácido 2, 2'-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), reagente de ácido hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (Trolox) foram obtidos da Sigma-Aldrich Chemical, SA (Hamburgo, Alemanha) e 2,4,6-tris (2-piridil)-s-triazina (TPTZ) obtida de Sigma-Aldrich Chemical, SA (Milano, Itália). Padrões de compostos fenólicos como: ácido benzóico, ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido elágico, ácido ferúlico, ácido gálico, ácido gentísico, ácido salicílico, ácido sinápico, ácido siríngico, ácido trans-cinâmico, ácido p-cumárico, ácido protocatecuico, ácido vanílico, miricetina, quercetina, narigenina, catequina, kampferol, hespertina e rutina foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Todos os reagentes químicos utilizados nas experiências foram de grau analítico.

3.2. PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

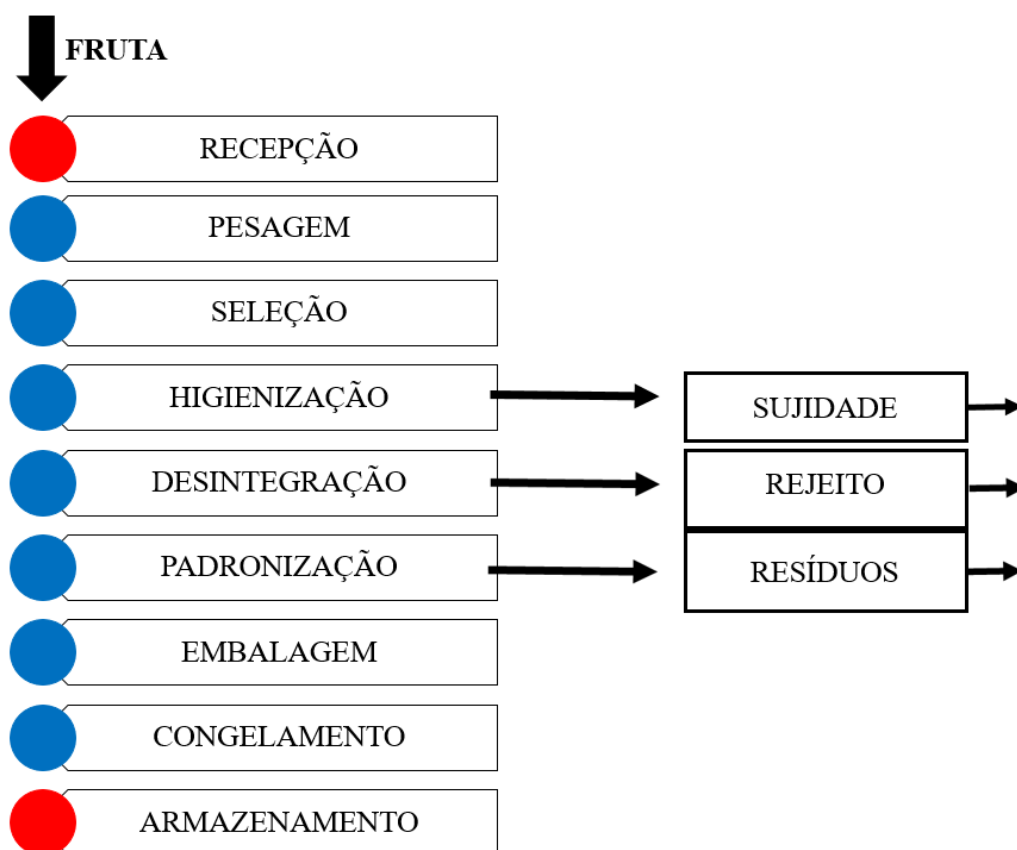
As frutas mangaba (*Hancornia speciosa*), seriguela (*Spondias purpurea* L.) e umbu-cajá (*Spondias spp.*) utilizadas no estudo foram coletadas na Zona da Mata Paraibana, no município de Pitimbu, Estado da Paraíba, nos meses de janeiro e fevereiro de 2016. As frutas foram colhidas aleatoriamente avaliando a sua maturação, sendo utilizadas apenas as que estavam em estágio ótimo de maturação, considerando o teor sólidos solúveis totais de 12 °Brix para esta classificação. Após a coleta foi realizado seu transporte refrigerado 5 ± 1 °C até a indústria de polpa de frutas localizada na cidade de João Pessoa/PB.

O processamento das frutas ocorreu no mesmo dia da colheita, sendo reservada parte das frutas frescas do mesmo lote que foi processado em polpa, para posteriormente ser utilizado nas análises, garantindo assim a homogeneidade das amostras e fidedignidade dos resultados obtidos.

Após o processamento que incluiu diversas etapas como: recepção, pesagem e seleção, para a escolha das melhores matérias-primas a serem utilizadas no estudo; higienização, para retirada de possíveis sujidades encontradas nas frutas; desintegração e padronização, para a despolpa e homogeneização da polpa produzida a fim da obtenção de um produto com boa qualidade; embalagem e congelamento, conforme observado no fluxograma apresentado na Figura 2.

As polpas de fruta foram embaladas em sacos de polipropileno de 1 kg, e posteriormente congeladas e acondicionadas em recipiente térmico adequado e transportadas para o Laboratório de Processamento de Alimentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos (UFPB), João Pessoa (Brasil). Uma parte do lote de polpa de frutas frescas (500 g) e polpas congeladas (500 g) foram liofilizadas á - 45 °C em liofilizador (modelo LS 3000, Terroni Equipamentos, Brasil) com intenção de reduzir a umidade, preservando as amostras.

Figura 2 - Fluxograma de processamento da fruta para obtenção de polpa de fruta congelada



Fonte: Próprio autor

3.3. EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE FRUTAS E POLPA DE FRUTAS

3.3.1 Extração de compostos fenólicos livres

Adicionou-se uma amostra (0,5 g) de polpa de fruta ou de fruta liofilizada em 20 mL de metanol/água (50:50, v/v) que foi submetido a uma extração em banho de ultrassom (UNIQUE, modelo USC-1800, Brasil) a 40 KHz durante 30 min a 25 °C. A amostra foi centrifugada a 6000 g por 15 min

usando centrifuga, modelo SL-701 (Solab, São Paulo, Brasil). O resíduo remanescente foi extraído com 20 mL de acetona/água (70:30, v/v) e a extração em ultrassom e procedimento de centrifugação foram repetidos. Os extratos acetônicos e metanólicos foram combinados num balão volumétrico de 25 mL e o volume foi completado com água deionizada (Rufino et al., 2010). O extrato foi concentrado utilizando um evaporador rotativo (Fisatom 802, São Paulo, Brasil) até o volume final de 5 mL. Filtrou-se uma alíquota de 1 mL do extrato através de um filtro de seringa de 0,45 µm (PTFE) e analisou-se os compostos fenólicos livres por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Estes extratos foram utilizados para a quantificação da atividade antioxidante.

3.3.2 Extração de compostos fenólicos conjugados

O resíduo restante da extração dos compostos fenólicos livres foi utilizado para hidrólise ácida com 10 mL de metanol/HCl 6 Mol L⁻¹, em que o pH foi reduzido para pH 2. A mistura foi incubada no agitador modelo Luca-223 (Lucadema, Brasil) a 120 rpm e 85 °C durante 30 min. Em seguida, a solução (pH 2) foi submetida a extração por partição com éter etílico e as camadas foram separadas por centrifugação a 6000 g durante 15 min. A extração foi repetida três vezes e os sobrenadantes foram combinados. O solvente orgânico foi vaporizado utilizando um evaporador rotativo (Fisatom 802, São Paulo, Brasil). O extrato seco foi reconstituído em 1 mL de metanol e filtrado através de um filtro de seringa de 0,45 µm (PTFE) e foi analisado quanto a compostos fenólicos conjugados com CLAE (KRYGIER, SOSULSKI, HOGGE, 1982, ROSS, BETA, ARNTFIELD, 2009).

3.4. QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Os extratos fenólicos foram analisados por um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência CL-20 AT (Shimadzu Corporation, Japão). A separação foi realizada com uma coluna C18 (SUPELCOSIL[™] LC-PAH, 250 mm x 4,6 mm ID, tamanho de partícula 5 µm) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA). A separação por cromatografia foi realizada utilizando uma eluição gradiente de (A) água 2% ácido acético (v / v), (B) acetonitrila/metanol, 2:1 (v/v) como se segue: 90% A em 0 min, % A em 3 min, 85% A em 6 min, 82% A em 10 min, 80% de A em 12 min, 70% de A em 15 minutos, 65% de A em 20 minutos, 60% de A em 25 minutos, A em 30 - 40 minutos, 75% de A em 42 minutos e 90% de A em 44 min. Segundo metodologia descrita por Prasad et al. (2009). A taxa de fluxo foi mantida 1,0 mL/min, temperatura da coluna a 40 °C, injeção 20 µL. A duração total por corrida de amostra foi de 50

min. Os picos de todos os componentes foram detectados a 254, 280 e 320 nm. A calibração foi realizada injetando os padrões três vezes em cinco concentrações diferentes. Os compostos fenólicos individuais foram identificados a partir da interpretação espectrofotométrica, o tempo de retenção e com a comparação com padrões autênticos. Quantificação baseada na área detectada do seu pico em relação às curvas de calibração previamente determinadas

3.5. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante total foi analisada através da captura do radical livre DPPH utilizando uma versão adaptada do método por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Uma solução de metanol preparada contendo $0,06 \text{ mmol.L}^{-1}$ de DPPH A solução de trabalho foi obtida por diluição da solução de DPPH com metanol com absorbância aproximada de $0,980 (\pm 0,02)$ a 515 nm utilizando um espectrofotômetro Cary 60 (Agilent Technologies, Malásia). Uma alíquota de 2,9 mL desta solução foi misturada com 100 μL do extrato e deixada em repouso à temperatura ambiente durante 30 min no escuro. Posteriormente verificou-se a redução na absorção do radical a 515 nm. A inibição da solução de DPPH, em termos percentuais (I%), foi calculada de acordo com a fórmula:

$$\% \text{ De inibição} = [1 - (\text{absorbância da amostra } t = 30 \text{ min} / \text{absorbância inicial } t = 0 \text{ min})] \times 100$$

A atividade antioxidante também foi analisada considerando o potencial antioxidante de redução férrica determinado de acordo com o método descrito por Benzie e Strain (1996). O extrato (200 μL) e 200 μL de FeCl_3 (3 mmol.L^{-1} em 5 mol.L^{-1} de ácido cítrico) foram misturados num tubo e incubados durante 30 min em banho maria a 37°C . Adicionou-se então uma solução de 2,4,6-tris (2-piridil)-s-triazina (TPTZ) (3,6 mL) e agitou-se a mistura em um agitador de tubos. Após exatamente 10 min, a absorbância (620 nm) foi lida utilizando o mesmo espectrofotômetro.

3.6. DIGESTÃO GASTROINTESTINAL *IN VITRO*

O procedimento de digestão *in vitro* imitando as condições gastrointestinais fisiológicas foi avaliado em duas fases sequenciais (estômago e intestino delgado incluindo diálise), conforme descrito por Rodriguez-Roque^b, Rojas-Graü, Elez-Martínez e Martín-Belloso (2013) com modificações. As alíquotas de polpas de frutas (50 mL) foram misturadas com 5 mL de solução salivar (2,38 g de Na_2HPO_4 , 0,19 g de KH_2PO_4 , 8 g de NaCl e 200_{aL} de amilase) em frascos âmbar. A mistura foi

homogeneizada durante 10 minutos num banho de água a 37 ± 2 °C a 95 g. Depois, as amostras foram acidificadas até pH 2,0 com 1 mL de uma preparação de pepsina porcina (13 mg de pepsina em 5 mL de HCl 0,1 M) para dar um volume final de 5 mL e posteriormente incubadas a 37 °C em agitação a 95 g durante 1 h, para simular a digestão gástrica. No final da digestão pós-gástrica, a mistura foi imediatamente arrefecida num banho de gelo e uma alíquota de 1 mL foi removida e armazenada a -18 °C. O restante da amostra foi submetido à digestão intestinal. Os segmentos de membrana de diálise foram cortados a 30 cm de comprimento e preenchidos com 25 mL de água/ NaHCO_3 (0,5 M). A quantidade necessária de NaHCO_3 (0,5 M) para titular a digestão gástrica a pH 7,5 foi a contida na membrana de diálise. Cada 20 mL de digestão gástrica foi colocada num tubo de polietileno, e uma membrana de diálise foi completamente imersa até um pH de 5,0 ser atingido. Depois, adicionou-se a cada tubo 5 mL de pancreatina (0,12 g) e sais biliares (40 mg de glicodesoxicolato em 1mL de solução salina), taurodesoxicolato (25 mg em 1mL de solução salina), taurocolato (40 mg em 1mL de solução salina). As amostras foram incubadas numa agitação (95 g) a 37 °C durante 2 h para completar a fase intestinal. Por último, retirou-se a membrana de diálise, enxaguou-se com água destilada. Os compostos fenólicos que poderiam estar disponíveis para absorção estavam dentro da membrana de diálise (fração bioacessível).

3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os experimentos foram realizados em triplicata, em três repetições independentes. Os dados são relatados como média $\pm$ desvio padrão (DP). Os resultados foram comparados pela análise de variância unidirecional (ANOVA) e o teste de Tukey foi realizado para identificar diferenças significativas. As diferenças consideradas significativas foram a partir de $p < 0,05$. Os dados foram analisados utilizando o software Statistica 13.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, EUA).

REFERÊNCIAS

- ABOUL-ENEIN, H. Y.; BERCZYNSKI, D. X.; KRUK, I. Phenolic compounds: The role of redox regulation in neurodegenerative disease and cancer. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 3, p. 385–398, 2013.
- ASCHOFF, J. K. S., KAUFMANN, O., KALKAN, S., NEIDHART, R., CARLE, R. SCHWEIGGERT. In vitro bioaccessibility of carotenoids, flavonoids, and vitamin C from differently processed oranges and orange juices [*Citrus sinensis* (L.)]. Osbeck. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 578–587, 2015.
- BATISTA, A. G. et al. Parâmetros de qualidade de polpas de frutas congeladas: uma abordagem para produção do agronegócio familiar no Alto Vale do Jequitinhonha. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.7, n.4, p.49-54, 2013.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**. V. 239, nº 1, p. 70–76, 1996.
- BERGAMASCHI, K.B., (2010). Capacidade antioxidante composição química de resíduos vegetais visando seu aproveitamento. Dissertação de mestrado apresentado à escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, disponível em <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-10022011-144122/pt-br.php>.
- BIEHLER, E., & BOHN, T. Methods for assessing aspects of carotenoid bioavailability. **Current Nutrition & Food Science**, v. 6, p. 44–69, 2010.
- 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. 28, nº 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. Instrução Normativa n. 1, de 12 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico para padrões microbiológicos em alimentos**. MAPA, Brasília, 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia alimentar para a população brasileira**: promovendo a alimentação saudável. Edição especial. Brasília: Ministério da Saúde, 2015.
- BRITO, H. R. Caracterização química de óleos essenciais de *Spondias mombin* L., *Spondias purpurea* L. e *Spondias* sp (cajarana do sertão). 2010, 68p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Florestais, UFSG, Patos. 2010.
- CALDAS, Z. T. C.; ARAÚJO, F. M. M. C.; MACHADO, A. V.; ALMEIDA, A. K. L.; ALVES, F. M. S. Investigação de qualidade das polpas de frutas congeladas comercializadas nos estados da Paraíba e Rio Grande do Norte. **Revista Verde**, v.5, n.4, p.156-163, 2010.

- CAPANOGLU, E; BEEKWILDER, J; BOYYACIOGLU, D; HALL, R; DE VOS, R. Changes in antioxidant and metabolite profiles during the production of tomato paste. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 964–973, 2008.
- CARBONELL-CAPELLA, J. M., BUNIOWSKA, M., BARBA, F. J., ESTEVE, M. J., & FRÍGOLA, A, Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables. **Food Science and Food Safety**, v. 13, p 155-171, 2014.
- CEFOLA M, RENNA M, PACE B. Marketability of ready-to-eat cactus pear as affected by temperature and modified atmosphere. **Journal Food**. 2014.
- CILLA, A. ALEGRÍA, B. DE ANCOS, C. SÁNCHEZ-MORENO, M.P. CANO, L. PLAZA, *et al.* Bioaccessibility of tocopherols, carotenoids and ascorbic acid from milk and soya-based fruit beverages: Influence of food matrix and processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 7282–7290, 2012.
- CILLA, A. GONZÁLEZ-SARRÍAS, F.A. TOMÁS-BARBERÁN, J.C. ESPÍN, R. BARBERÁ. Availability of polyphenols in fruit beverages subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion and their effects on proliferation, cell-cycle and apoptosis in human colon cancer Caco-2 cells. **Food Chemistry**, v. 114, p. 813–820, 2009.
- CILLA, A. S. PERALES, M.J. LAGARDA, R. BARBERÁ, G. CLEMENTE, R. FARRÉ. Influence of storage and *in vitro* gastrointestinal digestion on total antioxidant capacity of fruit beverages. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 87–94, 2011.
- CLERICI, M.; CARVALHO-SILVA, L. Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 1658-1970, 2011.
- COSTA, A. B; OLIVEIRA, A. M. C; SILVA, A. M. O; FILHO, J. M; LIMA, A. Antioxidant activity of the pulp, skin and seeds of the noni (*Morinda citrifolia* Linn), **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal** - SP, v. 35, n. 2, p. 345-354, 2013.
- 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.
- DEMBITSKYV, POOVARODOM S, LEONTOWICZ H, LEONTOWICZM, VEARASILP S, TRAKHTENBERG S, GORINSTEIN S. (2011) The multiple nutrition properties of some exotic fruits: biological activity and active metabolites. **Food Research Internatinal**, v. 44, nº 4, p.1671–1701, 2011.
- EBERHARDT M, LEE CY, LIU RH, Antioxidant activity of fresh apples. **Nature**, v. 405, p. 903–904, 2000.
- EMBRAPA AGROINDUSTRIA TROPICAL. Geração de Técnicas de Conservação Pós-colheita para Valorização do Cultivo de Cajá e Ciriguela no Estado do Ceará. Relatório Técnico Final de Projeto. Fortaleza, Ceará, 2001.
- EMBRAPA. Avaliação dos métodos de propagação de algumas *spondias* agroindustriais, N^o 31, p.1-4, 1999.

ENGELS, C. et al. Characterization of phenolic compounds in Jacote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra-high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 557-562, 2012.

FAO/WHO. Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. **Agricultural biodiversity in FAO**. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/i0112e/i0112e.pdf>. Acesso em: 22 de outubro de 2015.

FERREIRA, I. C. F. R. & ABREU, R. M. V. – Stress oxidativo, antioxidantes e fitoquímicos. **Sociedade Portuguesa de BioAnalistas da Saúde**. v. 2 p. 32-39, 2007.

FREIRE, F. C. O. Uso da manipueira no controle do oídio da cerigueleira: resultados e preliminares. **Comunicado Técnico**, v. 70, p.1-3, 2001.

GIACOMETTI, D.C. Recursos genéticos de fruteiras nativas do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1992, Cruz das Almas, BA. **Anais...** Cruz das Almas, Embrapa-CNPME, p.13-27, 1993.

GIL-IZQUIERDO, A. M. I; GIL, F; FERRERES, F.A; TOMÁS-BARBERÁ, N. *In vitro* availability of flavonoids and other phenolics in orange juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 1035–1041, 2001.

GONÇALVES, E. C. B. A. **Análise de Alimentos: Uma Visão Química da Nutrição**. São Paulo: Varela. P. 324, 2012.

GONDIM, P. J.S.; SILVA, S. M.; PEREIRA, W. E.; DANTAS, A. L.; NETO, J. R. C.; SANTOS, L. Qualidade de frutas de acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, p. 1217-1221, 2013.

HAMINIUK, C. W. I. et al. Phenolic compounds in fruits – an overview. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 2023–2044, 2012.

KALT, W. Effects of production and processing factors on the major antioxidants in fruits and vegetables. **Journal of Food Science**, v. 70, p 11-19, 2005

KANSCI G, KOUBALA B AND LAPE I, Effect of ripening on the composition and the suitability for jam processing of different varieties of mango (*Mangifera indica*). **Afric Journal of Biotechnology** , v. 2, p. 301–306, 2003.

KOSIŃSKA-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. 1, p. 288-294, 2015.

LEDERMAN, I. E.; FERREIRA JÚNIOR, J. da S.; BEZERRA, J. E. F.; ESPÍNDOLA, A. C. de M. E. Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). **Funep**, p. 35, 2000

LEITE A, MACHADO I. (2010) Reproductive biology of woody species in Caatinga, a dry forest of northeastern Brazil. **Journal of Arid Environments**, v. 74, p.1374–1380, 2010.

LIANG, L., WU, X., ZHAO, T., ZHAO, J., LI, F., ZOU, Y., *In vitro* biodisponibilidade e atividade antioxidante das antocianinas de amoreira (*Morus atropurpurea* roxb) após digestão gastrointestinal simulada. **Food Research International**, v. 15, p. 543-552, 2012.

MCDUGALL, G. J., FYFFE, S., DOBSON, P., STEWART, D. As antocianinas de vinho tinto; a sua estabilidade sob a digestão gastrointestinal simulada. **Phytochemistry**, v. 53, p. 5896–5904, 2005.

MORALES-DE LA PEÑA, M., SALVIA-TRUJILLO, L., ROJAS-GRAÜ, M. A., MARTÍN-BELLOSO, O. Impact of high intensity pulsed electric field on antioxidant properties and quality parameters of a fruit juice-soymilk beverage in chilled storage. **LWT – Food Science and Technology**, v. 43, p. 872–881, 2011.

ODRIOZOLA-SERRANO, I., AGUILÓ-AGUAYO, I., SOLIVA-FORTUNY, R., & MARTÍN-BELLOSO, O. Pulsed electric fields processing effects on quality and health-related constituents of plantbased foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 29, p. 98–107, 2013.

OMENA, C. M. B. et al. Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic of ethanol extracts of peel, pulp and seeds of exotic Brazilian fruits. **Food Research International**, v. 49, p. 334–344, 2012.

PAGLARINI, C. S.; SILVA, F. S.; PORTO, A. G.; SANTOS, P.; LEITE, A. L. M. P. Avaliação físico-química de polpas de frutas congeladas comercializadas na região do médio norte mato-grossense. **Enciclopédia biosfera**, v.7, n. 13, 2011.

PARADA, J., AGUILERA, J. M. Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. **Journal of Food Science**, 2007.

PAVARINI D, PAVARINI S, NIEHUESA M, LOPESA N. Exogenous influences on plant secondary metabolite levels. **Animal Feed Science Technology**, p. 176:5–16, 2012.

PEIXOTO, F., M.; FERNANDES, I., ANA CRISTINA M.S. GOUVÊA A, SANTIAGO, C.P.A., BORGUINI, R G., NUNO M., FREITAS, V., RONOEL L.O. GODOY, I., FERREIRA, M.P.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.

PRASAD, K. N; YANG, B; YANG, S; CHEN, Y; ZHAO; ASHRAF; JIANG. Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityrosinase activities from litchi (*Litchi sinensis* Sonn.) seed. **Food Chemistry**, v. 116, p.1–7, 2009.

RAWSON, A.; PATRAS, A.; TIWARI, B. K.; NOCI, F.; KOUTCHMA, T.; BRUNTON, N. Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: review of recent advances. **Food Research International**, v. 44, p. 1875–1887, 2011.

RÊGO, MANOELA TORRES DO. Avaliação da atividade anti-inflamatória do extrato aquoso, frações e compostos identificados nos frutos de *Hancornia Speciosa* Gomes (Apocynaceae). 149f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015

RENARD, C. M., LE QUÉRÉ, J. M., BAUDUIN, R., SYMONEAUX, R., LE BOURVELLEC, C., & BARON, A. Modulating polyphenolic composition and organoleptic properties of apple juices by manipulating the pressing conditions. **Food Chemistry**, v. 124, p. 117–125, 2011.

RODRIGO; M. J; CILLA, A; BARBERÁ, R; ZACARIAS, L. Carotenoid bioaccessibility in pulp and fresh juice from carotenoid-rich sweet oranges and mandarins. **Food & Function**, v. 6, p. 1950–1959, 2015.

- RODRÍGUEZ-ROQUE, J., DE ANCOS, B., SÁNCHEZ-MORENO, C., CANO, M.P., ELEZ-MARTÍNEZ, P., MARTÍN-BELLOSO O. Impact of food matrix and processing on the *in vitro* bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from fruit juice-based beverages. **Journal of Functional Foods**, v.14, p. 33–43, 2015.
- RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J., ROJAS-GRAÜ, M. A., ELEZ-MARTÍNEZ, P., & MARTÍN-BELLOSO, O. Changes in vitamin C, phenolic, and carotenoid profiles throughout *in vitro* gastrointestinal digestion of a blended fruit juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 1859-1867, 2013a.
- RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J., ROJAS-GRAÜ, M. A., ELEZ-MARTÍNEZ, P., & MARTÍN-BELLOSO, O. Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by *in vitro* gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 1, p. 206-212, 2013b.
- 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**, 121, 996-1002, 2010.
- RUFINO, M. S. M.; FERNANDES, F. A. N.; ALVES, R. E.; BRITO, E. Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system. **Food Chemistry**, v. 114, p. 693-695, 2009.
- RYAN, L.; PRESCOTT, S. L. Stability of the antioxidant capacity of twenty-five commercially available fruit juices subjected to a *in vitro* digestion. **Internacional Journal of Food Science and Technology**, v. 45, p. 1191-1197, 2010.
- SABBE, S.; VERBEKE, W.; DELIZA, R.; MATTA, V. M.; VAN DAMME P. Effect of a health claim and personal characteristics on consumer acceptance of fruit juices with different concentrations of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Appetite**, v.53, 84-92, 2009.
- SANTOS, L. et al. Qualidade de frutas de acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, p. 1217-1221, 2013.
- SANTOS, L. P., MORAIS, D. R., SOUZA, N. E., COTTICA, S. M., BOROSKI, M., VISENTAINER, J. V. Phenolic compounds and fatty acids in different parts of *Vitis labrusca* and *V. vinifera* grapes. **Food Research International**, v. 44, p. 1414–1418, 2011.
- SAURA-CALIXTO, F.; SERRANO, J.; GOÑI, I. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. **Food Chemistry**, v. 101, p. 492-501, 2007.
- SERRANO, J.; GOÑI, I.; SAURA-CALIXTO, F. Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. **Food Research International**, [S. I.], v. 40, p. 15-21, 2007.
- SILVA, A. V. C; SILVA, A.C.M.S. Qualidade da polpa congelada de mangaba comercializada em Aracaju SE. **EMBRAPA: Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, 2012.
- SILVA, B. M., SANTOS, R. P., MENDES, L. S., PINHO, P. G., VALENTÃO, P., ANDRADE, P. B., et al. *Dracaena draco* L. fruit: phytochemical and antioxidant activity assessment. **Food Research International**, v. 44, p. 2182–2189, 2011.

- SILVA, L. M. R., FIGUEIREDO, E. A. T., RICARDO, N. M. P. S., VIEIRA, I. G.P., FIGUEIREDO, R. W.; BRASIL, I. M., et al. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 143, p. 398-404, 2014a
- SILVA, M. C.; SOUZA, V. B.; THOMAZINI, M.; SILVA, E. R.; SMANIOTTO, T.; CARVALHO, R. A.; GENOVESE, M.; FAVARO-TRINDADE, C. Use of the jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) depulping residue to produce a natural pigment powder with functional properties. **LWT – Food Science and Technology**, v. 55, p. 203-209, 2014b.
- SILVA, RENATA VIEIRA, Extrato dos frutos de *Spondias purpurea* L. como princípio ativo para formulação fitocósmética fotoprotetora, Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em biotecnologia, Universidade Federal de Feira de Santana, Bahia, 2015.
- SOARES, F; PAIVA, R; NOGUEIRA, R; OLIVEIRA, L; SILVA, D; PAIVA, P. Cultura da mangabeira (*Hancornia speciosa*), Boletim Agropecuário - n.º 67 - p. 1-12, 2012.
- SOUZA, F.X. de. **Spondias agroindustriais e os seus métodos de propagação**. Fortaleza: Embrapa-CNPAT / SEBRAE/CE, 1998.
- SOUZA, F.X. de; SOUSA, F.H.L.; FREITAS, J.B.S. Caracterização morfológica de endocarpos de umbu-cajá. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 48., 1997, Crato, CE. **Resumos...** Fortaleza: SBB/BNB, p.121, 1997.
- TAGLIAZUCCHI, D.; VERZELLONI, E.; BERTOLINI, D.; CONTE, A. *In vitro* bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. **Food Chemistry**, [S. I.], v. 120, p. 599-606, 2010;
- TIVERON, A. P., (2010). Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil. Dissertação de mestrado apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, disponível em <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-20102010-101541/pt-br.php>.
- TOYDEMIR, G; CAPANOGLU, E; GOMEZ ROLDAN, M. V; RC DE VOS; BOYACIOGLU, O; HALL, R.D, et al. Effects of industrial processing of phenolic compounds on cherry (*Prunus cerasus* L.). **Food Research International**, v. 53, p. 218–225, 2013.
- VAN BUGGENHOUT, S., ALMINGER, M., LEMMENS, L., COLLE, I., KNOCKAERT, G., MOELANTS, K., et al. In vitro approaches to estimate the effect of food processing on carotenoid bioavailability need thorough understanding of process induced microstructural changes. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, p. 607-618. 2010.
- VIDIGAL, M. C.T. R.; MINIM, V. P. R.; CARVALHO, N. B.; MILAGRES, M. P.; GONÇALVES, A. C. A. Effect a health claim on consumer acceptance of exotic Brazilian fruit juices: acai (*Euterpe oleracea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), cajá (*Spondias lutea* L.) and umbu (*Spondias tuberosa* A.). **Food Research International**, v. 44, n° 7, p.1988 – 1996, 2011.
- VIEIRA NETO, R.D.; CINTRA, F.L.D.; SILVA, A.L. da; SILVA JÚNIOR, J.F., COSTA, J.L. da S.; SILVA, A.A.G. da; CUENCA, M.A.G. Sistema de produção de mangaba para os tabuleiros costeiros e baixada litorânea. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002.
- WANG, T., HE, F., & CHEN, G. Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review. **Journal of Functional Foods**, v. 7, n° 1, p. 101–111, 2014.

WOJDYLO, A.; OSZMIANSKI, J.; LASKOWSKI, P. Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 6520-30, 2008

WOOTTON-BEARD, P. C.; MORAN, A.; RYAN, L. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after *in vitro* digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. **Food Research Internacional**, v. 44, p. 217-224, 2011.

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.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ARTIGO

Bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant activity of pulps from Brazilian exotic fruit following exposure to simulated gastrointestinal conditions

Artigo submetido

(Food Chemistry, fator de impacto: 4.052)

Bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic compounds in frozen pulps of Brazilian exotic fruits exposed to simulated gastrointestinal conditions

Running title: Bioaccessibility of phenolic compounds in exotic frozen pulp

Rodrigo Luiz Targino Dutra¹, Aline Macedo Dantas¹, Débora de Araújo Marques¹, Jéssica Dayanne Ferreira Batista¹, Bruno Ranieri Lins de Albuquerque Meireles², Ângela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro², Marciane Magnani³, Graciele da Silva Campelo Borges^{1*}

¹*Department of Food Technology, Federal University of Paraíba, João Pessoa, PB, Brazil*

²*Laboratory of Fuel, Federal University of Paraíba, Campus I, 58051-900, João Pessoa, Paraíba, Brazil*

³*Laboratory of Microbial Process 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

Seriguela, umbu-cajá and mangaba are Brazilian exotic fruits largely consumed as frozen pulps (FP). This study characterized the phenolic compounds in these fruits, as well in their FP. The bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant activity of the FP dialysates were determined following exposure to simulated gastrointestinal conditions. The profile of phenolic compounds identified in fruit and pulp were similar. After pulp processing, increases of 33.60% and 68.72% in free phenolics were observed for mangaba and umbu-cajá FP, respectively, while in seriguela, free phenolic reduced by 56.55%. Generally, phenolic levels decreased after exposure to simulated gastric conditions in all FP. The bioaccessibility of phenolic varied from 8.71% (gentisic acid; mangaba FP) to 73.92% (gallic acid; umbu-cajá FP). The antioxidant activity varied among the FP dialysates; seriguela and umbu-cajá FP dialysates presented the highest capacity of capture of the radical DPPH, while mangaba FP dialysate demonstrated highest iron reducing capacity.

Keywords: *in vitro* digestion, dialysis, frozen pulp, fruit processing, *Hancornia speciosa*, *Spondias*,

1. Introduction

The consumption of tropical fruits has increased in recent years because in addition to their nutritional value, fruits have been recognized source of bioactive compounds (Rufino et al., 2010; Souza et al., 2012; Silva et al., 2014). Phenolic compounds found in fruits possess strong antioxidant activity, which is positively associated with protection against oxidative stress in the body, one of the largest causes of chronic degenerative diseases (Almeida et al., 2011; Clerici & Carvalho-Silva, 2011). These compounds are present in large quantities in native and exotic fruit species largely produced in tropical countries, and food industries are potentially interested in these fruits (Souza et al., 2012). The Brazilian Northeast region possesses suitable climatic conditions for a large number of exotic fruits with great nutritional value and excellent agro-industrial potential (Clerici & Carvalho-Silva, 2011; Souza et al., 2012). However, many exotic fruit species such as *Spondias purpurea* L., *Spondia spp.* and *Hancornia speciosa* Gomes remains commercially underexploited.

The species *Spondias purpurea* L. commonly known as “seriguela” is originally from Central America and distributed from Mexico through northern Peru and Brazil, where it is abundant. Seriguela are small fruits in ovoid form, which vary widely in colour from green to yellow. The fibrous and lignified endocarp surrounding malformed seeds has an aromatic pulp with a bittersweet taste (Engels, 2012; Omena et al., 2012). The peel of seriguela fruit is rich in phenolic compounds (Silva et al., 2016); however, no previous studies have explored these compounds in seriguela pulp.

Another exotic species abundant in the Northeast of Brazil region is *Spondia spp.*, traditionally known as “umbu-cajá”. The high antioxidant potential of umbu-cajá has been associated to its high total content of tannin and phenolic compounds (Omena et al., 2012; Zeraik et al., 2015). However, the phenolic profile of umbu-cajá remains unknown. Finally, the *Hancornia speciosa* Gomes is a Brazilian native berry fruit known as “mangaba”. This fruit presents varied sizes, is usually ellipsoidal or rounded, yellowish or greenish, and has sweet yellow flesh. Mangaba fruits are rich in phenolic compounds such

as chlorogenic acid and rutin (Lima et al., 2015a), as well as ascorbic acid (Almeida et al., 2011) and carotenoids (Rufino et al., 2010).

The seasonal availability of seriguela, umbu-cajá and mangaba fruits and their short shelf life limiting their marketability in natura. Frozen pulps (FP) have emerged as an alternative for the fresh fruit consumption because of their practicality and the similarity of nutritional and sensory characteristics in comparison with the fruits (Silva et al., 2014; Paz et al., 2015). Industrial processing of fruits typically includes maceration, heating, and freezing, and various separation steps. It has been reported that these treatments can result in oxidation, degradation, leaching or other events that reduce the contents of phenolic compounds in processed fruit (Nora et al., 2014; Tomas et al., 2015; Branco et al., 2016). However, few studies have assessed the changes in phenolic compounds during processing to obtain frozen pulps.

Despite the well-known antioxidant activity of phenolic compounds, their bioaccessibility which is indicated by the quantities released after gastrointestinal digestion that become available for absorption in the colon should be considered (Buniowska et al., 2017). Phenolic compounds can be transformed during digestion into compounds with lower bioaccessibility and consequently their bioactivity could be compromised. During gastric and intestinal digestion, the food matrix determines stability and affect the proportion of phenolic compounds that reach the colon intact or that will potentially be absorbed (Mosele et al., 2015). Various *in vitro* digestion approaches have been used to assess the bioaccessibility of phenolic compounds in fruit or their derived juices (Stinco et al., 2013; Rodriguez-Roque et al., 2013; Mosele et al., 2015; Buniowska et al., 2017).

The present study was performed to i) characterize the free and conjugated phenolic fractions in seriguela, umbu-cajá and mangaba fruits and their frozen pulps (FP); ii) determine the bioaccessibility of phenolic compounds from FP of seriguela, umbu-cajá and mangaba following exposure to simulated gastrointestinal conditions and iii) assess the antioxidant activity of the bioaccessible fraction in each FP studied.

2. Materials and Methods

2.1. Chemicals and reagents

Pepsin, α -amylase, pancreatin, glycodeoxycholate, taurodeoxycholate, and taurocholate were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). Hydrochloric acid (HCl) (37% m/m) and methanol were purchased from Neon (São Paulo, Brazil).

The chemicals 2,2'-diphenyl-2-picrylhydrazyl hydrate (DPPH) and hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxyl acid (Trolox) were obtained from Sigma-Aldrich Chemical, S. A. (Hamburg, Germany), and 2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) was obtained from Sigma-Aldrich Chemical, S. A. (Milan, Italy).

Standards of phenolic compounds for HPLC (benzoic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, ellagic acid, ferulic acid, gallic acid, gentisic acid, salicylic acid, sinapic acid, syringic acid, *trans*-cinnamic acid, *p*-coumaric acid, protocatechuic acid, vanillic acid, myricetin, quercetin, naringenin, catechin, kaempferol, hesperetin and rutin) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). All chemicals used in the experiments were of analytical reagent grade.

2.2. Sample preparation

The seriguela (*Spondias purpurea* L.), mangaba (*Hancornia speciosa*), umbu-cajá (*Spondias* spp.) fruits used in this study were cultivated in the Zona da Mata Paraibana, Pitimbu, Paraíba State, Brazil in January and February 2016. The fruits were picked randomly from the same farm and selected for similar shape and uniform color. Before the tests, the total soluble solids (TSS) was determined and 12°Brix was considered the optimal stage of maturity. Fruits were transported to the pulp agroindustry facility in João Pessoa under cold storage ($5.0 \pm 1^\circ\text{C}$). All pulps were obtained on the same day as the

fruit harvest, and each fruit lot was divided for the analysis of fresh fruit and frozen fruit pulp. The processing steps included washing, deseeding and mechanical pulp extraction. The pulp was conditioned in 1 kg polypropylene bags, sealed, and stored at -18°C. The fruit and FP were transported to the Laboratory of Food Processing of the Department of Food Technology (UFPB), João Pessoa (Brazil) on dry ice in an adequate portable thermal food container. Representative samples of fruit and fruit pulp were then lyophilized (model LS 3000, Terroni Equipaments, Brazil) and freeze-milled (Model BF2 MMH 27000, Brazil). The powders obtained were stored in a desiccator prior to extraction of phenolic compounds.

2.3. Extraction of phenolic compounds from fruit and frozen pulp

2.3.1 Free Phenolic Compounds

A sample (0.5 g) of fruit or fruit pulp powder was added to 20 mL of methanol/water (50:50, v/v) and submitted to 40 kHz for 30 min in an ultrasonic bath (UNIQUE, model USC – 1800, Brazil) at 25°C. The sample was centrifuged at 6000 *g* for 15 min (model SL-701, Solab, São Paulo, Brazil). The remaining residue was extracted with 20 mL of acetone/water (70:30, v/v), and the ultrasound extraction and centrifugation procedures were repeated. The acetonic and methanolic extracts were combined in a 25 mL volumetric flask, and the volume was completed with deionized water (Rufino et al., 2010). The extraction solvent was removed using a rotary evaporator (Fisatom 802, São Paulo, Brazil) to a final volume of 5 mL. A 1 mL aliquot of extract was filtered through a 0.45 µm syringe filter (PTFE) and was analysed for free phenolic compounds with HPLC. These extracts were used for the quantification of the antioxidant activity.

2.3.2 Conjugated Phenolic Compounds

The remaining residue of extracted free phenolic compounds was used for acid hydrolysis with 10 mL of methanol/6 mol L⁻¹ HCl, in which the pH was reduced to pH 2. The mixture was incubated in

a model Luca-223 shaker (Lucadema, Brazil) at 120 rpm and 85°C for 30 min. Next, the solution (pH 2) was subjected to partition extraction with ethyl ether, and the layers were separated by centrifugation at 6000 *g* for 15 min. The extraction was repeated three times, and the supernatants were combined. The organic solvent was removed using a rotary evaporator (Fisatom 802, São Paulo, Brazil). The dried extract was reconstituted in 1 mL of methanol, filtered through a 0.45 µm syringe filter (PTFE) and analysed for conjugated phenolic compounds by HPLC (Krygier, Sosulski & Hogge, 1982; Ross, Beta & Arntfield, 2009).

2.4. Phenolic composition analysis by HPLC

The phenolic compounds were analysed by a high-performance liquid chromatography system LC-20 AT (Shimadzu Corporation, Japan). The separation was carried out on a C18 column (SUPELCOSIL™ LC-PAH, 250 mm x 4.6 mm ID, 5 µm particle size) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Chromatographic separation was carried out using a gradient elution of (A) water/2% acetic acid (v/v), (B) acetonitrile:methanol, 2:1 (v/v) as follows: 90% A in 0 min, 88% A in 3 min, 85% A in 6 min, 82% A in 10 min, 80% A in 12 min, 70% A in 15 min, 65% A in 20 min, 60% A in 25 min, 50% A in 30-40 min, 75% A in 42 min and 90% A in 44 min, as described by Prasad et al. (2009). The flow rate was maintained at 1.0 mLmin⁻¹ and the column temperature at 40°C, with an injection volume of 20 µL. The total runtime was 50 min. The peaks of all components were detected at 254, 280 and 320 nm. Calibration was performed by injecting the standards three times at five different concentrations. The individual phenolic compounds were identified by spectroscopic interpretation, retention time and comparison with authentic standards. Their quantification was based upon their peak detected areas versus previously determined calibration curves.

2.5. Antioxidant capacity

The total antioxidant activity was analysed by investigating the ability to scavenge DPPH free radicals using a modified version of the method by Brand-Williams, Cuvelier, and Berset (1995). A methanol solution containing 0.06 mmol L^{-1} DPPH was prepared and then stored at 20°C until use. The working solution was obtained by diluting the DPPH solution with methanol to obtain an absorbance of approximately $0.980 (\pm 0.02)$ at 515 nm using a Cary 60 spectrophotometer (Agilent Technologies, Malaysia). A 2.9 mL aliquot of this solution was mixed with $100 \mu\text{L}$ of the extract and left to stand at room temperature for 30 min in the dark. The absorbance was then measured at 515 nm . Inhibition of the DPPH free radicals, in percent terms (I %), was calculated according to the following formula:

$$\% \text{ inhibition} = [1 - (\text{absorbance sample}_{t=30 \text{ min}} / \text{absorbance control}_{t=0 \text{ min}})] \times 100$$

The antioxidant activity was also analysed using the ferric reducing antioxidant potential determined by the method described by Benzie and Strain (1996). The extract ($200 \mu\text{L}$) and $200 \mu\text{L}$ of FeCl_3 (3 mmol L^{-1} in 5 mol L^{-1} citric acid) were mixed in a tube and incubated for 30 min in a water bath at 37°C . A TPTZ solution (3.6 mL) was then added, and the mixture was vortexed. After exactly 10 min , the absorbance (620 nm) was read using the same spectrophotometer.

2.6. *In vitro* gastrointestinal digestion

The *in vitro* digestion procedure mimicking physiological gastrointestinal conditions was assessed in two sequential phases (stomach and small intestine including dialysis) as described by Rodriguez-Roque, Rojas-Graü, Elez-Martínez & Martín-Belloso (2013) with modifications. Only FP were submitted to *in vitro* digestion, considering that the fruit tested are largely consumed as FP. Aliquots FP (50 mL) were mixed with 5 mL saline solutions ($2.38 \text{ g Na}_2\text{HPO}_4$, $0.19 \text{ g KH}_2\text{PO}_4$, 8 g NaCl and $200 \text{ UL}^{-1} \alpha\text{-amylase}$) in amber bottles. The mixture was shaken for 10 min in a water bath at $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ at 95 rpm . Next, samples were acidified to $\text{pH } 2.0$ with 1 mL of a porcine pepsin preparation (13 mg of pepsin in 5 mL of $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$) to a final volume of 5 mL and incubated at 37°C with shaking at 95 rpm for 1 h , to simulate gastric digestion. At the end of the post-gastric digestion, the mixture was immediately

cooled in an ice bath, and a 1 mL aliquot was removed and stored at -18°C . The remainder of the sample was submitted to small intestinal digestion. Segments of cellulose dialysis membrane (molecular weight cutoff of 12000 Da) were cut to 30 cm lengths and filled with 25 mL of NaHCO_3 (0.5 mol L^{-1}). The appropriate amount of NaHCO_3 (0.5 mol L^{-1}) to titrate the gastric digestion to pH 7.5 was contained in the dialysis membrane. The gastric digestion was portioned into 20 mL fractions. These were placed into polyethylene tubes, into which dialysis membranes were completely immersed until a pH of 5.0 was reached. Next, 5 mL of pancreatin (0.12 g) and bile salts (40 mg glycodeoxycholate in 1 mL of saline), taurodeoxycholate (25 mg in 1 mL of saline), and taurocholate (40 mg in 1 mL of saline) was added to each tube. Samples were incubated in a shaker (95 rpm) at 37°C for 2 h to complete the intestinal phase. In the final step, the dialysis membrane was removed and rinsed with distilled water.

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 the three replicates. The results were compared by one-way analysis of variance (ANOVA), and Tukey's test was used to identify significant differences. Differences of $p < 0.05$ were considered significant. Data were analysed using the Statistica 13.0 software (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA).

3. Results and Discussion

3.1 Phenolic compounds in fresh and pulp fruit

The phenolic acids and flavonoids identified in the fruit and FP of mangaba, seriguela and umbu-cajá are shown in Table 1. Despite the differences in the quantities of each phenolic compound identified, similar phenolic profile was observed in fruits of seriguela, umbu-cajá and mangaba and the respective FP. The total free phenolics was predominant in both fruits and FP of umbu-cajá and mangaba, compared to the total conjugated phenolics. Otherwise, total conjugated phenolics were predominant in seriguela

fruit. Gentisic acid was the major phenolic acid detected in the free and conjugated phenolics of all fruits and FP tested and the phenolic acid detected in highest concentration in mangaba and seriguela fruits. In contrast, in the free phenolics of umbu-cajá, protocatechuic acid was the major phenolic acid, while gentisic acid was not detected. Regarding flavonoids, catechin and myricetin were the major compounds found, respectively, in the free and conjugated phenolics of mangaba and mangaba FP. Rutin was the predominant flavonoid in the free and conjugated phenolics of seriguela and umbu-cajá and their FP.

The phenolic profile found in our study for mangaba is in agreement with that described in a previous study (Lima et al., 2015), while some phenolic compounds detected in seriguela (e. g. gallic acid, quercetin, rutin and kaempferol) were previously reported in seriguela peels (Engels et al., 2012; Silva et al., 2016). To the best of our knowledge, this is the first report of the phenolic profile in umbu-cajá fruit.

3.2 Effects of frozen pulp processing on fruit phenolic compounds

Table 1 presents the phenolic compounds detected in fruit and their respective FP. In seriguela FP the conjugated phenolics represent 48.82% the total phenolics, while in umbu-cajá FP 33% and mangaba FP, the content of conjugated phenolics represented 33% and were 23% of the phenolics, respectively.

After the pulp processing of mangaba, the free phenolics increased ($p \leq 0.05$) by 33.60%. Gentisic acid, the major phenolic acid detected in mangaba, increased by 32%, while reductions of 76.32% and 48.04% were observed for syringic and trans-cinnamic acids, respectively. The greatest increases after pulp processing was observed in protocatechuic, *p*-coumaric and gallic acid contents in the free phenolics .

In the conjugated phenolics of mangaba FP, a reduction of 17.22% was observed in the total phenolic compounds. The greatest reductions were observed in gallic acid (28.46%), gentisic acid (20.73%) and hesperetin (53.95%) contents. In contrast, the processing of umbu-cajá increased the free phenolic by 68.72%, while conjugated phenolics increased by 5.3%.

Interestingly, in seriguela FP reductions of 56.55% and 61.39% were observed in the free and conjugated phenolics, respectively. In the free phenolics of seriguela FP, protocatechuic acid, *trans*-cinnamic acid and gallic acid increased ($p < 0.05$) by 31.43%, 65%, 17.22%, respectively. In the conjugated phenolic of seriguela FP, protocatechuic acid increased by 44.90%, *trans* cinnamic acid was not detected, and gallic acid did not vary ($p > 0.05$). The reduction ($p < 0.05$) after processing varied among flavonoids, in the free phenolic of seriguela FP, rutin, the major flavonoid in seriguela, decreased by 28.61%.

The free phenolics of umbu-cajá FP showed an increase of 68.72% compared to umbu-cajá, while the conjugated phenolics increased by 5.3%. In the free phenolics of umbu-cajá FP, protocatechuic and gallic acids increased by 30.89% and 53.61%, respectively, when compared to umbu-cajá. Similarly, increases of approximately 20% were observed in protocatechuic, gentisic and gallic acids in the conjugated phenolics after processing of umbu-cajá. Interestingly, in the conjugated phenolic of umbu-cajá, all assessed compounds presented a reduction ($p < 0.05$) ranging from 10 to 20% in their contents.

In the present study, reductions or increases in phenolic acids and flavonoids due to pulp processing varied among the studied fruits. It has been reported that the increased concentrations of some phenolic acids in FP may be due to the high amount of non-extractable ellagitannins bound to cell wall polysaccharides and proteins (Koli et al., 2010, Silva et al., 2014). However, it is also known that the maceration and/or trituration processes applied during pulp processing can make conjugated phenolic acids more accessible to the extraction process because of the breakdown of cellular constituents (Tomas et al., 2015). Additionally, previous studies have reported the oxidation and/or degradation of antioxidant compounds (e.g., phenolic and flavonoids) when fruits were submitted to industrial processing, including maceration, trituration, or freezing (Tomas et al., 2015; Barbosa et al., 2016; Buniowska et al., 2017).

3.3 Bioaccessibility of phenolic compounds during simulated gastrointestinal digestion

The bioaccessibility of phenolic compounds identified in the FP studied after exposure to simulated gastrointestinal conditions is showed in Figure 1, 2 and 3. Amounts of released phenolic compounds after

both the gastric phase and the intestinal phase (Table 2) were lower than the initial concentrations in FP (Table 1).

The effects of exposure to the gastrointestinal conditions on individual phenolic quantities varied among the FP. Gallic acid, one of the most bioaccessible compounds identified after *in vitro* digestion in umbu-cajá FP, was not detected after the gastric step in FP of mangaba and seriguela.

The results from dialysate fractions of seriguela FP showed that the contents of phenolics, through an epithelial barrier modelled by a semipermeable cellulose membrane, were significantly lower than the contents of phenolics found in the gastric and intestinal digestions. These findings can be explained by the reduced dialysate of the conjugated phenolics present in the pulps assessed, where phenolic compounds are partly bound to other constituents, such as proteins, minerals or polysaccharides (Bouayed et al., 2011).

An increase was observed for the flavonoids in the umbu-cajá FP after the gastrointestinal digestion. A previous study reported that the increase of phenolic compounds in the intestinal fraction (Bouayed et al., 2011) could be due the action of intestinal and digestive enzymes (e.g. pancreatin) that facilitate the release of phenolics bound to the matrix.

The highest bioaccessibility of phenolic compounds was observed for umbu-cajá FP, with levels as high as 127.58% for *trans*-cinnamic acid followed by 73.92% for gallic acid and 69.94% for catechin. Higher bioaccessibility of catechin after gastrointestinal digestion was observed in umbu-cajá FP compared to FP of mangaba (16.18%) and seriguela (5.79%). In a previous study, Mosele et al. (2016) suggested the high bioaccessibility of catechin in pomegranate fruit resulted from the partial hydrolysis of proanthocyanidins when exposed to intestinal pH values. Similarly, the increased bioaccessible amounts of some phenolic acids might be related to chemical rearrangements of some compounds. It has been reported that exposure to acid and alkali conditions (similar to those applied during simulated gastrointestinal conditions) hydrolyses the ester bonds of ellagitannins, which then rearrange as ellagic acid (Alminger et al., 2014).

Notably, rutin, the major flavonoid in umbu-cajá and seriguela FP, presented bioaccessibility of 21.57% and 17.56%, respectively. Curiously, in mangaba FP, the bioaccessibility of rutin was up to 57.32%, and an increase of its quantities was observed (+125.37) after exposure to the simulated gastric conditions. This increase can be explained because quercetin is the aglycone form of rutin. Consequently, during the exposure to acidic conditions, rutin could be generated from the quercetin by rupture of the linkage with the sugar (Celep et al., 2015). In addition to rutin, the highest flavonoid bioaccessibilities observed in mangaba pulp were for vanillic acid and hesperetin at 57.73 and 50.56%, respectively.

Trans-cinnamic acid was the most bioaccessible phenolic acid in seriguela FP (30%), while the most bioaccessible flavonoid (68.82%) was myricetin.

In the present study, with the exception of rutin in mangaba FP, all phenolic acids and flavonoids decreased or showed a decreasing tendency in FP after exposure to simulated gastric conditions. This is interesting because previous studies have noticed low stability of phenolic acids under gastric conditions (Kaoglumil & Capanoglu, 2013; Mosele et al., 2015) but higher stability of flavonoids exposed to the same conditions. The chemical structure of the phenolic compounds in the FP studied, as well as their individual stability under simulated gastrointestinal conditions could have influenced these results (Mosele et al., 2015).

Phenolic acids such as ferulic acid and caffeic acid have presented low bioaccessibility (approximately 15%). Previous study reported gallic acid as fully bioaccessible in pomegranate fruit (Sengul et al., 2014), while caffeic acid was reported as non-bioaccessible in fresh apples (Bouayed, Deuber, Hoffmann, & Bohn, 2012).

3.4 Antioxidant Activities

The Figure 4 demonstrated antioxidant activity by DPPH and FRAP assay, of the dialyzable fraction (IN) obtained after the *in vitro* digestion of all FP. The dialyzable fraction (IN) was considered

to be the fraction that could be available for absorption into the systematic circulation by passive diffusion (Mosele et al, 2016).

Mangaba dialyzable fraction presented the lowest antioxidant activity ($1907.56 \pm 102.43 \mu\text{Mol TEAC } 100\text{g}^{-1}$) in DPPH assay ($p < 0.05$), while dialyzable fractions of seriguela ($4985.65 \pm 114.95 \mu\text{Mol TEAC } 100\text{g}^{-1}$) and umbu-cajá ($5066.93 \pm 248.32 \mu\text{Mol TEAC } 100\text{g}^{-1}$) showed similar results. These results are probably related to the higher content of conjugated phenolics detected in FP of seriguela and umbu cajá.. Previous study reported higher antioxidant capacity *in vitro* for conjugated phenolics when compared to free and soluble conjugated phenolics (Acosta – Estrada et al., 2014).

In FRAP assay, the highest iron reducing capacity was observed for dialysate of mangaba FP ($1870.30 \pm 60.06 \mu\text{Mol Fe}^{+2} 100\text{g}^{-1}$), followed by dialysates of umbu-cajá ($1271.50 \pm 37.74 \mu\text{Mol Fe}^{+2} 100\text{g}^{-1}$) and seriguela ($1141.96 \pm 49.32 \mu\text{Mol Fe}^{+2} 100\text{g}^{-1}$) ($p < 0.05$).

It is well known that the antioxidant activity in foods is directly related to the chemical structures of its phenolic compounds, due to interactions that can be either synergistic or antagonistic, and mainly depending on the number and position of hydrogen-donating hydroxyl groups on the aromatic rings of the phenolic molecules (Hidalgo, Sánchez-Morano & Pascual-Teresa, 2010; Almeida et al., 2011; Paz et al., 2015). Furthermore, phenolic compounds capture different radical or oxidant sources using single or multiple mechanisms depending on the reaction system imposed by the method used for evaluation, as well as the food matrix components (Hidalgo, Sánchez-Morano, & Pascual-Teresa, 2010; Nora et al., 2014).

The differences observed in antioxidant assays with the FPs studied might be related to the method of evaluation of the antioxidant activity and the phenolic acid and flavonoid bioaccessible because the chemical structure of phenolic compounds is directly related to the effectiveness of scavenger activity (Silva et al., 2016). Probably the rutin, hesperitin and vanilic acid, that the most abundant in the dialysate of mangaba FP contributed for this result because flavonoids with two hydroxyl groups (e.g., catechin and rutin) in B-rings possess high antioxidant activity (Hidalgo, Sánchez-Morano & Pascual-Teresa, 2010).

The FRAP assay is a typical electron transfer method, has been argued to have poor correlation with other antioxidant activity measurements. It is therefore suggested that this assay could be used in combination with other methods in distinguishing dominant mechanisms for different antioxidants (Shahidi & Zhong, 2015).

4. Conclusions

The results show that the industrial processing decreases or increase in the content free and conjugate phenolic of umbu-cajá, seriguela and mangaba. The bioaccessibility of phenolics following exposure to simulated gastrointestinal conditions varied among the FP studied. The highest bioaccessibility for phenolic and potential of capture radical DPPH was observed in FP of seriguela and umbu-cajá; however the bioaccessible phenolic in mangaba FP presented the major iron reduction potential compared with seriguela and umbu-cajá FP. To the best of our knowledge, this is the first report of the bioaccessibility of phenolics compounds in FP of umbu-cajá, seriguela and mangaba, as well as the antioxidant activity of their bioaccessible compounds after *in vitro* digestion.

Acknowledgements

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

References

- ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*, 152, 46-55.
- 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. (2011). Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International*, 11, 2155-2159.

- ALMINGER, M.; AURA, M.; BOHN, T.; DUFOUR, C.; EL, S. N.; GOMES, A.; KARAKAYA, S.; MARTÍNEZ-CUESTA, M. C.; MCDOUGALL, G. J. (2014). *In Vitro* Models for Studying Secondary Plant Metabolite Digestion and Bioaccessibility. *Comprehensive Reviews in Food and Food Safety*, 13.
- BARBOSA, P. O.; PALA, D.; SILVA, C.T.; SOUZA, M. O.; AMARAL, J. F.; VIEIRA, R. A. L.; FREITAS, G. A.; VOLP, A. C. P.; FREITAS, R. N. (2016). Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp dietary intake improves cellular antioxidant enzymes and biomarkers of serum in healthy women. *Nutrition*, 32 (6), 674-680.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239 (1), 70–76.
- BERMÚDEZ-SOTO, M.-J.; TOMÁS-BARVERÁN, F.-A.; GARCÍA-CONESA, M.-T. (2007) Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to *in vitro* gastric and pancreatic digestion. *Food Chemistry*, 102, 865-874.
- 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.
- BRANCO, I. G.; MORAES, I. C.; ARGANDOÑA, MADRON, G. S.; SANTOS, C.; RUZ A. L.; CARVALHO, J. E., HAMINUIK, C. W. I. (2016). Influence of pasteurization on antioxidant and *in vitro* anti-proliferative effects of jambolan (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) fruit pulp. *Industrial Crops and Products*, 89, 225-230.
- 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.
- BUNIEWSKA, M.; CARBONELL-CAPELLA, J. M.; FRIGOLA, A.; ESTEVE, M. J. (2017). Bioaccessibility of bioactive compounds after non-thermal processing of an exotic fruit juice blend sweetened with *Stevia rebaudiana*. *Food Chemistry*, 221, 1834-1842.
- CELEP, E.; CHAREHSAZ, M.; AKÜZ, S.; ACAR, E. T.; YESILADA, E. (2015). Effect of *in vitro* gastrointestinal digestion on the bioavailability of phenolic components and the antioxidant potentials of some Turkish fruit wines. *Food Research International*, 78, 209-215.
- CLERICI, M.; CARVALHO-SILVA, L. (2012). Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. *Food Research International*, 44, 1658-1970.
- ENGELS, C.; GRATER, D.; ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M.; GÄNZLE, M. G.; SCHIEBER, A. (2012). Characterization of phenolic compounds in Jacote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra-high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Food Research International*, 46 (2), 557-562.
- HIDALGO, M.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; PASCUAL-TERESA, S. (2010). Flavonoid–flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 121 (3), 691-696.
- KAMILOGLU, S., & CAPANOGLU, E. (2013). Investigating the *in vitro* bioaccessibility of polyphenols in fresh and sun-dried figs (*Ficus carica* L.). *International Journal of Food Science & Technology*, 48, 2621-2629.
- KOLI, R.; ERLUND, I.; JULA, A.; MARNIEMI, J.; MATTILA, P.; ALFTHAN, G. (2010). Bioavailability of various polyphenols from a diet containing moderate amounts of berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 3927-3932.
- KRYGIER, K.; SOSULSKI, F.; HOGGE, L. Krygier K, Sosulski F, Hogge L. (1982). Free, esterified and insoluble-bound phenolic acids. 1. Extraction and purification procedure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30, 330-334.
- LIMA, J. P.; AZEVEDO, L.; SOUZA, N. J.; NUNES, E. E.; BOAS, E. V. B. V. (2015). First evaluation of the antimutagenic effect of mangaba fruit *in vivo* and its phenolic profile identification. *Food Research International*, 75, 216-224.

- 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.
- NORA, C. D.; MÜLLER, C. D.; BONA, G. S.; RIOS, A. O.; HERTZ, P. F.; JABLONSKI, A.; JONG, E. V.; FLÔRES, S. H. (2014). Effect of processing on the stability of bioactive compounds from red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) and guabiju (*Myrcianthes pungens*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 34 (1), 18-25.
- OMENA, C. M. B.; VALENTIM, I. B.; GUEDES, G. S.; RABELO, L. A.; MANO, C. M.; BECHAA, E. J. H.; SAWAYA, A. C. H. F.; TREVISAN, S.; COSTA, J. G.; FERREIRA, R. C. S.; SANT'ANA, A. E. G.; GOULART, M. O. F. (2012). Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic of ethanol extracts of peel, pulp and seeds of exotic Brazilian fruits. *Food Research International*, 49, 334-344.
- 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.
- RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J., ROJAS-GRAÜ, M. A., ELEZ-MARTÍNEZ, P., & MARTÍN-BELLOSO, O. (2013). Changes in vitamin C, phenolic, and carotenoid profiles throughout *in vitro* gastrointestinal digestion of a blended fruit juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (8), 1859-1867.
- ROSS, K. A.; BETA, T.; ARNTFIELD, S. D. (2009). A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods. *Food Chemistry*, 113, 336-344.
- RUFINO M. S.M.; ALVES R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNES, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 121, 996-1002.
- SENGUL, H.; SUREK, E.; NILUFER-ERDIL, D. (2014). 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*, 62, 1069-1079.
- SILVA, L. M. R., FIGUEIREDO, E. A. T., RICARDO, N. M. P. S., VIEIRA, I. G.P., FIGUEIREDO, R. W.; BRASIL, I. M. (2014). Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 143, 398-404.
- SILVA, R. V.; COSTA, S. C. C.; BRANCO, C. R.; BRANCO, A. (2016). *In vitro* photoprotective activity of the *Spondias purpurea* L. peel crude extract and its incorporation in a pharmaceutical formulation. *Industrial Crops and Products*, 83, 509-514.
- SHAHIDI, F. & ZHONG, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757 – 781.
- SOUZA, V. R.; PEREIRA, P. A.; QUEIROZ, F.; BORGES, S. V.; CARNEIRO, J. D. S. (2012). Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. *Food Chemistry*, 134 (1), 381-386.
- STINCO, C. M.; FERNÁNDEZ-VÁZQUEZ, R.; HEREDIA, F. J.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M. (2013). Bioaccessibility, antioxidant activity and colour of carotenoids in ultrafrozen orange juices: Influence of thawing conditions, *LWT – Food Science and Technology*, 53, 458-463.
- TOMAS, M.; TOYDEMIR, G.; BOYACIOGLU, D.; HALL, R.; BEEKWILDER, J.; C. E. (2015). The effects of juice processing on black mulberry antioxidants. *Food Chemistry*, 186, 277-284.
- ZERAIK, M. L.; QUEIROZ, E. F.; MARCOURT, L.; CICLET, O.; CASTRO-GAMBOA, I.; SILVA, D. H. S.; CUENDET, M.; BOLZANI, V. S.; WOLFENDER, J. (2016). Antioxidants, quinone reductase

inducers and acetylcholinesterase inhibitors from *Spondias tuberosa* fruits. *Journal of Functional Foods*, 21 (2016), 396-405.

Table 1. Free and Conjugated phenolics detected in fruit and frozen pulps of mangaba, seriguella and umbu-cajá

Compound	Free phenolics			Conjugated phenolics		
	Mangaba					
	Fruit	Pulp	% var*	Fruit	Pulp	% var
Protocatechuic acid	396.97 ± 11.55 ^a	779.95 ± 36.5 ^b	+50	192.98 ± 29.10 ^a	218.46 ± 17.36 ^a	+13
<i>p</i>-Coumaric acid	9.04 ± 1.16 ^a	18.9 ± 1.19 ^b	+ 50	3.62 ± 1.29 ^a	4.52 ± 0.96 ^a	+24.86
Salicylic acid	306.77 ± 15.44 ^a	310.26 ± 24.05 ^a	---	136.53 ± 25.14 ^a	116.26 ± 24.37 ^a	-15
Syringic acid	60.86 ± 3.10 ^b	14.41 ± 1.02 ^a	- 76.32	29.75 ± 1.18 ^a	26.04 ± 1.14 ^b	-12.47
<i>trans</i>-Cinnamic acid	3.83 ± 0.88 ^a	1.99 ± 0.89 ^a	- 48.04	1.14 ± 0.50 ^a	1.48 ± 0.42 ^a	+29.82
Gentisic acid	5457.8 ± 548.22 ^a	7253.44 ± 160.52 ^b	+ 32	2707.7 ± 74.18 ^a	2146.30 ± 28.99 ^b	-20.73
Vanillic acid	15.07 ± 1.93 ^a	15.10 ± 1.55 ^a	---	5.38 ± 0.63 ^a	6.73 ± 0.28 ^a	+25%
Ferulic acid	29.06 ± 0.77 ^a	35.93 ± 1.23 ^b	+20	10.44 ± 0.38 ^a	10.89 ± 1.43 ^a	----
Elagic acid	27.96 ± 1.20 ^b	40.01 ± 1.12 ^a	+12.81	10.96 ± 0.13 ^a	11.28 ± 1.08 ^a	----
Gallic acid	17.27 ± 0.38 ^a	26.35 ± 2.30 ^b	+52.57	6.92 ± 0.88	4.95 ± 0.73	-28.46
Rutin	42.21 ± 1.33 ^a	51.49 ± 1.78 ^b	+21.98	24.63 ± 5.02 ^a	25.74 ± 2.48 ^a	---
Myricetin	102.81 ± 2.71 ^a	145.07 ± 12.70 ^b	+41	42.80 ± 3.84 ^a	43.57 ± 2.80 ^a	----
Quercetin	43.59 ± 0.38 ^b	18.82 ± 1.45 ^a	-43.17	18.82 ± 1.45 ^a	20.40 ± 1.10 ^a	---
Catechin	111.85 ± 9.54 ^a	145.16 ± 8.45 ^b	+29.78	35.10 ± 2.48 ^a	36.83 ± 3.92 ^a	----
Hesperetin	3.56 ± 0.38 ^a	1.99 ± 0.81 ^b	-55.89	2.15 ± 0.51 ^a	0.99 ± 0.32 ^b	-53.95
Kaempferol	2.74 ± 0.40 ^a	1.19 ± 0.45 ^b	-43.43	2.04 ± 0.53 ^a	2.17 ± 0.24 ^a	---
Total content	6631.39	8860.06	+ 33.60	3228.71	2672.62	-17.22
Seriguella						
Compound	Fruit	Pulp	% var	Fruit	Pulp	% var
Protocatechuic acid	143.77 ± 5.26 ^a	188.96 ± 14.21 ^b	+ 31.43	87.12 ± 11.07 ^a	126.24 ± 21.24 ^b	+44.90
<i>p</i>-Hydroxybenzoic acid	391.25 ± 22.87 ^a	110.2 ± 16.50 ^b	-71.83	ND	38.85 ± 7.19	----
<i>p</i>-Coumaric acid	217.8 ± 20.76 ^a	16.20 ± 2.53 ^b	-92.56	131.63 ± 11.77 ^b	7.94 ± 2.10 ^a	-93.96
Salicylic acid	98.56 ± 4.66 ^a	21.39 ± 4.58 ^b	-78.30	52.23 ± 1.54 ^b	10.30 ± 0.52 ^a	-80.27
Sinapic acid	122.83 ± 11.60 ^a	78.43 ± 8.9 ^b	-36.15	ND	ND	
Syringic acid	17.37 ± 2.54 ^a	9.07 ± 1.38 ^b	-47.78	17.24 ± 2.33 ^b	4.96 ± 1.03 ^a	-71.22
<i>trans</i>-Cinnamic acid	1.19 ± 0.55 ^a	1.97 ± 0.24 ^a	+65	ND	ND	
Gentisic acid	762.73 ± 33.90 ^a	316.67 ± 27.09 ^b	-58.48	1808.1 ± 194.84 ^b	604.27 ± 181.52 ^a	-66.57

Vanillic acid	158.78 ± 4.23 ^a	46.02 ± 2.75 ^b	-71	88.41 ± 7.28 ^b	18.49 ± 1.57 ^a	-79.08
Ferulic acid	ND	ND		6.45 ± 1.75 ^b	0.98 ± 0.26 ^a	-84.80
Ellagic acid	ND	13.78 ± 4.52		34.49 ± 10.37	ND	
Gallic acid	13.82 ± 1.34 ^a	16.20 ± 2.54 ^b	+17.22	6.54 ± 1.03 ^a	7.19 ± 1.45 ^a	----
Rutin	174.35 ± 25.33 ^b	124.46 ± 18.58 ^a	-28.61	128.56 ± 13.57 ^b	76.21 ± 11.72 ^a	-40.72
Myricetin	51.52 ± 1.69 ^b	22.36 ± 6.96 ^b	-56.60	28.35 ± 2.52 ^b	7.44 ± 3.15 ^a	-73.75
Quercetin	59.92 ± 7.62 ^b	23.66 ± 1.37 ^a	-60.50	35.98 ± 3.22 ^b	24.45 ± 10.00 ^a	-32.04
Catechin	62.61 ± 6.85 ^b	40.84 ± 10.08 ^a	-34.77	18.53 ± 4.90 ^a	16.02 ± 1.57 ^a	-
Total content	2275.58	988.71	-56.55	2443.63	943.43	-61.39
Umbu-cajá						
	Fruit	Pulp	% var	Fruit	Pulp	% var
Protocatechuic acid	308.12 ± 23.14 ^a	403.31 ± 2.82 ^b	+ 30.89	156.89 ± 11.18 ^a	193.57 ± 9.55 ^b	+23.37
<i>p</i>-Hydroxybenzoic acid	206.21 ± 59.27 ^b	187.09 ± 8.46 ^a	-9.27	84.70 ± 5.9 ^b	78.26 ± 2.4 ^a	-7.60
<i>p</i>-Coumaric acid	69.93 ± 10.16 ^b	13.16 ± 1.12 ^a	-81.18	27.54 ± 2.39 ^b	3.98 ± 0.97 ^a	-85.54
Salicylic acid	139.39 ± 54.86 ^a	126.66 ± 30.18 ^a	-9.13	58.36 ± 10.54 ^b	47.19 ± 6.87 ^a	-19.13
Sinapic acid	111.61 ± 14.90 ^b	68.61 ± 19.74 ^a	-38.52	31.72 ± 11.95 ^b	11.35 ± 2.33 ^a	-64.21
Syringic acid	43.10 ± 5.30 ^a	38.49 ± 1.41 ^a	-10.69	7.15 ± 1.04 ^a	6.17 ± 1.67 ^a	----
<i>trans</i>-Cinnamic acid	2.39 ± 0.44 ^b	1.99 ± 0.44 ^a	-16.73	1.69 ± 0.42 ^b	0.39 ± 0.13 ^a	-76.9
Gentisic acid	ND	1081 ± 44.56		487.27 ± 29.10 ^a	568.36 ± 14.55 ^b	+20.33
Vanillic acid	35.92 ± 6.77 ^b	29.12 ± 2.8 ^a	-18.93	16.20 ± 0.98 ^b	12.54 ± 1.34 ^a	-22.60
Ferulic acid	47.42 ± 4.06 ^b	26.32 ± 11.28 ^a	-44.50	ND	ND	
Ellagic acid	11.73 ± 2.37 ^b	9.17 ± 2.36 ^a	-21.82	18.00 ± 5.76 ^b	11.55 ± 2.33 ^a	-35.83
Gallic acid	6.23 ± 1.21 ^a	9.57 ± 0.56 ^b	+53.61	1.49 ± 1.26 ^a	1.79 ± 0.95 ^a	+20.13
Rutin	134.60 ± 14.53 ^a	141.61 ± 11.15 ^a	+5.20	83.91 ± 16.31 ^b	72.28 ± 9.87 ^a	-13.86
Myricetin	93.16 ± 1.06 ^b	77.59 ± 3.10 ^a	-16.71	43.05 ± 4.14 ^b	35.24 ± 3.89 ^a	-18.14
Quercetin	82.39 ± 2.03 ^b	76.39 ± 3.10 ^a	-7.28	45.83 ± 1.70 ^a	41.22 ± 2.34 ^a	-10.05
Catechin	48.68 ± 7.11 ^a	42.88 ± 1.41 ^a	-----	6.56 ± 0.84 ^a	24.40 ± 2.61 ^b	+ 271.95
Total content	1340.88	2260.94	+68.72	1069.80	1126.59	+5.3

Different letters in the same line represent statistically significant differences in the content of phenolic compound between fruit and pulp in free or conjugated phenolics ($p < 0.05$). * % var: variation in quantities presented in percentage: + increase; - decrease.

4
5
6
7
8

Table 2

The phenolic profile in mangaba, seriguela, and umbu-cajá frozen pulps after the gastric and duodenal steps of the *in vitro* gastrointestinal digestion.

Compound	Mangaba			
	Gastric fraction	Out fraction	In fraction	Bioaccessibility (%)
Protocatechuic acid	13.02 ± 1.12	2.60 ± 0.43	6.68 ± 0.89	0.80
<i>p</i> -Coumaric acid	2.26 ± 0.55	1.83 ± 0.32	2.68 ± 0.44	14.17
Salicylic acid	75.52 ± 1.91	47.12 ± 1.13	56.68 ± 1.22	18.27
Syringic acid	12.15 ± 1.56	7.32 ± 0.54	2.68 ± 0.32	18.62
<i>trans</i> -Cinnamic acid	ND	ND	1.34 ± 0.17	28.66
Gentisic acid	3169.2 ± 78.89	ND	631.87 ± 56.89	8.71
Vanillic acid	9.03 ± 0.98	3.91 ± 0.67	8.72 ± 1.05	57.73
Ferulic acid	10.24 ± 2.33	8.30 ± 0.98	2.01 ± 0.43	5.60
Ellagic acid	9.20 ± 0.88	ND	13.08 ± 0.76	32.69
Gallic acid	6.60 ± 0.67	ND	ND	ND
Rutin	169.27 ± 2.33	35.03 ± 1.28	29.51 ± 1.55	57.32
Myricetin	52.78 ± 1.78	9.16 ± 0.95	32.87 ± 1.33	22.55
Quercetin	5.38 ± 0.88	3.54 ± 0.97	4.70 ± 0.78	24.95
Naringenin	0.52 ± 0.15	ND	ND	ND
Catechin	66.84 ± 0.33	18.43 ± 0.77	23.48 ± 0.86	16.18
Hesperetin	ND	0.24 ± 0.15	1.01 ± 0.25	50.56
Kaempferol	0.69 ± 0.24	ND	ND	ND
Compound	Seriguela			
	Gastric fraction	Out fraction	In fraction	Bioaccessibility (%)
Protocatechuic acid	9.77 ± 1.22	24.28 ± 2.33	3.54 ± 0.54	1.88
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	8.02 ± 1.10	8.06 ± 0.89	2.36 ± 0.68	2.14
<i>p</i> -Coumaric acid	0.87 ± 0.22	0.75 ± 0.25	1.18 ± 0.30	7.29
Salicylic acid	58.62 ± 1.13	46.47 ± 1.55	2.79 ± 0.56	13.08
Sinapic acid	5.54 ± 0.66	ND	19.49 ± 2.45	24.85
Syringic acid	3.79 ± 0.79	0.92 ± 0.33	0.59 ± 0.23	6.52
<i>trans</i> -Cinnamic acid	0.29 ± 0.11	0.28 ± 0.13	0.59 ± 0.22	30
Gentisic acid	91.13 ± 2.03	120.27 ± 3.45	ND	ND
Vanillic acid	8.02 ± 0.88	1.97 ± 0.34	ND	ND
Ellagic acid	11.67 ± 2.03	ND	2.95 ± 0.98	21.43
Gallic acid	15.46 ± 1.89	ND	ND	ND
Rutin	62.55 ± 2.33	28.59 ± 2.88	21.85 ± 2.05	17.56
Myricetin	7.73 ± 1.54	ND	15.35 ± 2.87	68.82
Quercetin	ND	2.16 ± 0.55	2.95 ± 0.78	12.50
Naringenin	ND	ND	ND	ND
Catechin	12.39 ± 1.86	1.50 ± 0.27	2.36 ± 0.33	5.79
Hesperetin	ND	ND	ND	ND
Kaempferol	ND	ND	1.77 ± 0.23	136.66
Compound	Umbu-cajá			
	Gastric fraction	Out fraction	In fraction	Bioaccessibility (%)
Protocatechuic acid	384.59 ± 8.90	54.94 ± 5.33	145.58 ± 4.34	36.31
<i>p</i> -Coumaric acid	4.37 ± 2.33	1.96 ± 0.87	3.82 ± 0.66	29
Salicylic acid	195.15 ± 10.78	50.05 ± 5.66	27.35 ± 3.45	21.60

Sinapic acid	23.51 ± 2.44	3.93 ± 1.13	10.81 ± 3.76	15.76
Syringic acid	24.18 ± 4.55	2.29 ± 1.21	3.18 ± 1.08	8.48
<i>trans</i>-Cinnamic acid	1.34 ± 0.77	2.29 ± 1.23	2.54 ± 0.98	127.58
Gentisic acid	6132.12 ± 98.33	121.05 ± 22.03	187.66 ± 35.89	17.36
Vanillic acid	17.47 ± 3.67	7.20 ± 1.23	13.36 ± 4.55	45.88
Caffeic acid	ND	ND	ND	ND
Ferulic acid	19.82 ± 3.44	2.94 ± 0.93	4.45 ± 1.12	16.92
Gallic acid	0.83 ± 0.32	0.46 ± 0.13	7.00 ± 2.84	73.92
Rutin	21.45 ± 3.44	72.96 ± 8.96	30.53 ± 5.67	21.57
Myricetin	6.68 ± 1.24	18.32 ± 3.67	16.54 ± 4.55	21.33
Quercetin	0.68 ± 0.23	6.22 ± 1.45	15.27 ± 2.34	20.00
Catechin	8.47 ± 2.98	28.14 ± 5.60	29.90 ± 3.89	69.94

ND – not detected

OUT represents the non-absorbable fraction of the sample, and phase IN represents the fraction absorbed through the dialysis membrane.

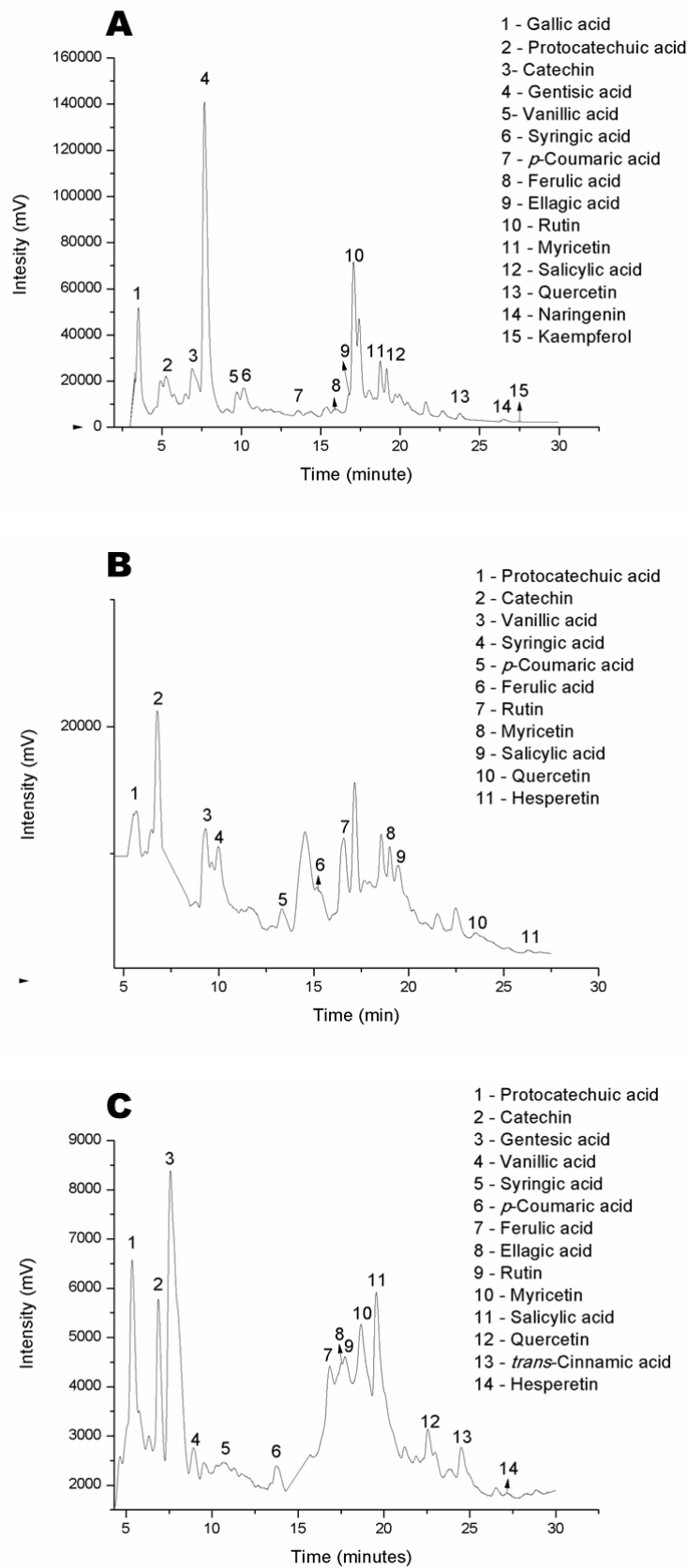


Figure 1. Representative chromatograms of simulated gastrointestinal digestion of mangaba frozen pulp, phase gastric (A), phase OUT (non-dialyzed fraction after intestinal digestion) (B) and phase IN (dialyzed fraction after intestinal digestion) (C). All samples recorded at 280 nm.

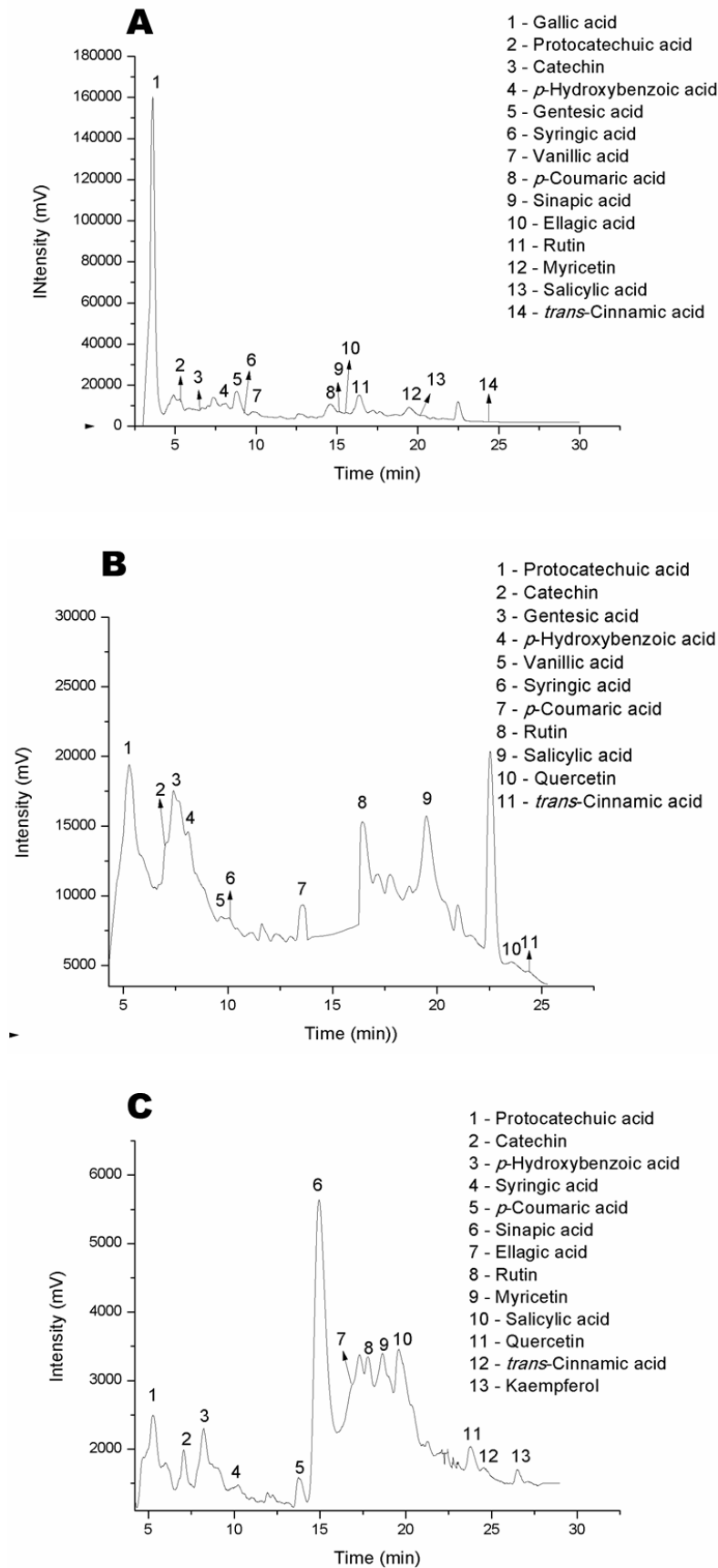


Figure 2. Representative chromatograms of simulated gastrointestinal digestion of seriguela frozen pulp, phase gastric (A) phase OUT (non-dialyzed fraction after intestinal digestion) (B) and phase IN (dialyzed fraction after intestinal digestion) (C). All samples recorded at 280 nm.

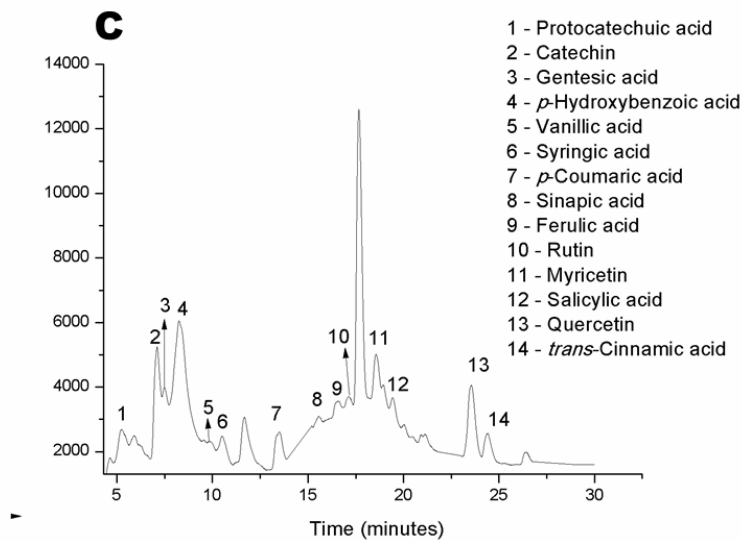
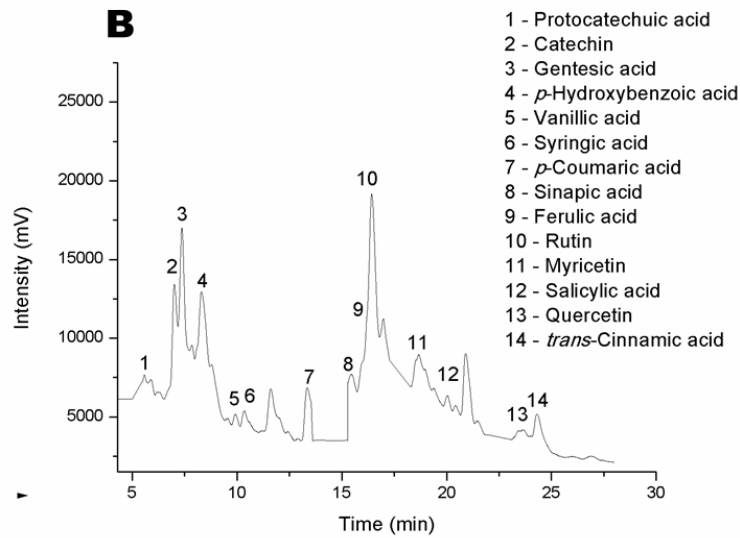
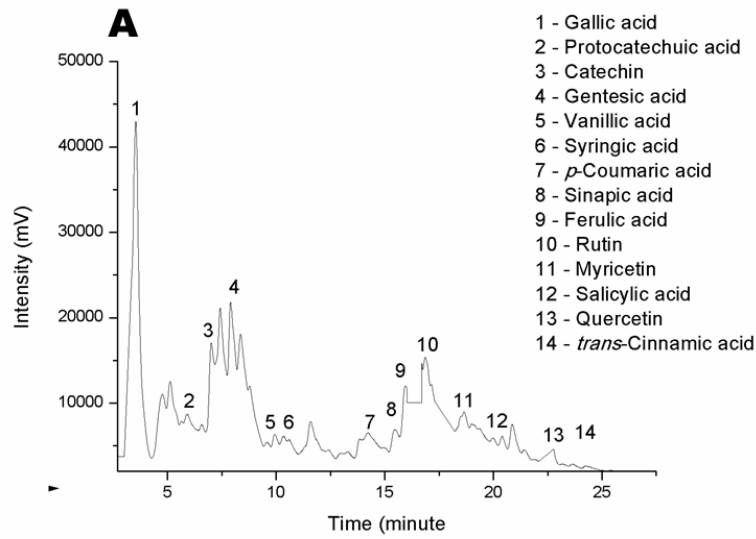


Figure 3. Representative chromatograms of simulated gastrointestinal digestion of umbu-cajá frozen pulp, phase gastric (A), phase OUT (non-dialyzed fraction after intestinal digestion) (B) and phase IN (dialyzed fraction after intestinal digestion) (C). All samples recorded at 280 nm.

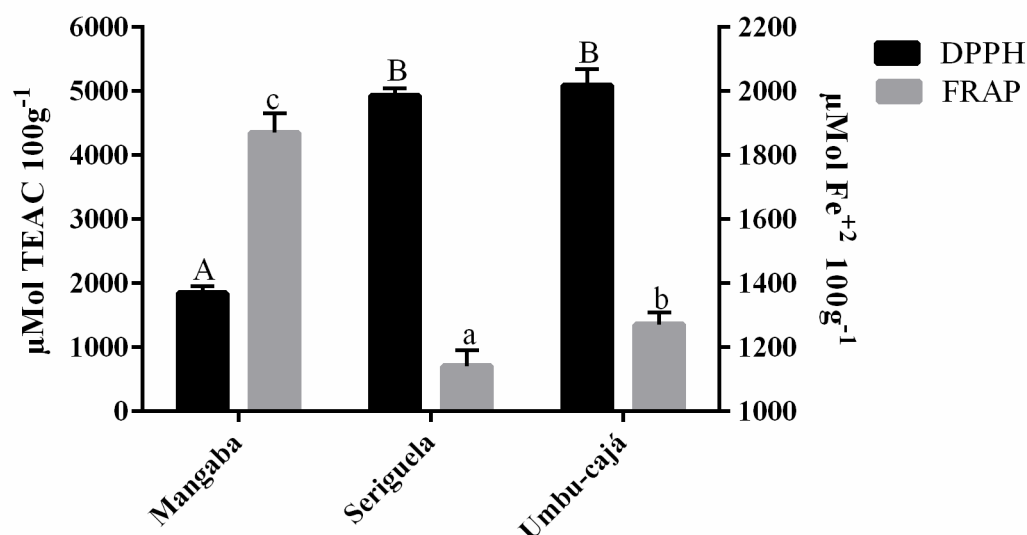


Figure 4. Antioxidant activities by both FRAP and DPPH assays of fraction IN following dialysis through a cellulose membrane. Different letters above bars represent statistically significant differences ($p < 0.05$).

5 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos com o presente estudo pode-se constatar que a transformação da matriz alimentar (fruta) em polpa de fruta congelada desencadeia inúmeras reações na estrutura da matriz, o que faz com que na maioria dos compostos identificados nas frutas haja um declínio no conteúdo dos mesmos quando comparado a polpa congelada. E esse quadro também se mostra frente à atividade antioxidante após o processamento, o que promove uma redução na capacidade de captura de radicais livres.

A identificação do perfil fenólico das frutas estudadas contribui para um maior conhecimento sobre os gêneros *Spondias* e *Hancornia*, trazendo assim uma gama de novas opções e aplicações na indústria de alimentos e outras, assim como também a percepção da estabilidade dos fenólicos após o processamento quando se compara os gêneros, já que a Mangaba (*Hancornia speciosa*) se mostrou mais estável que as frutas do gênero *Spondias*.

A partir da digestão gastrointestinal simulada na polpa congelada foi observada uma variação na estabilidade dos compostos fenólicos, ganhando destaque as frutas do gênero *Spondias*, principalmente a seriguela, pela maior quantidade de compostos biologicamente ativos que se mostraram bioacessíveis. Entretanto as maiores atividades antioxidantes após as condições gastrointestinais simuladas foram observadas para polpa congelada de mangaba; porém a bioacessibilidade dos fenólicos em polpa de mangaba não apresentaram o maior conteúdo comparado com as polpas de seriguela e umbu-cajá.