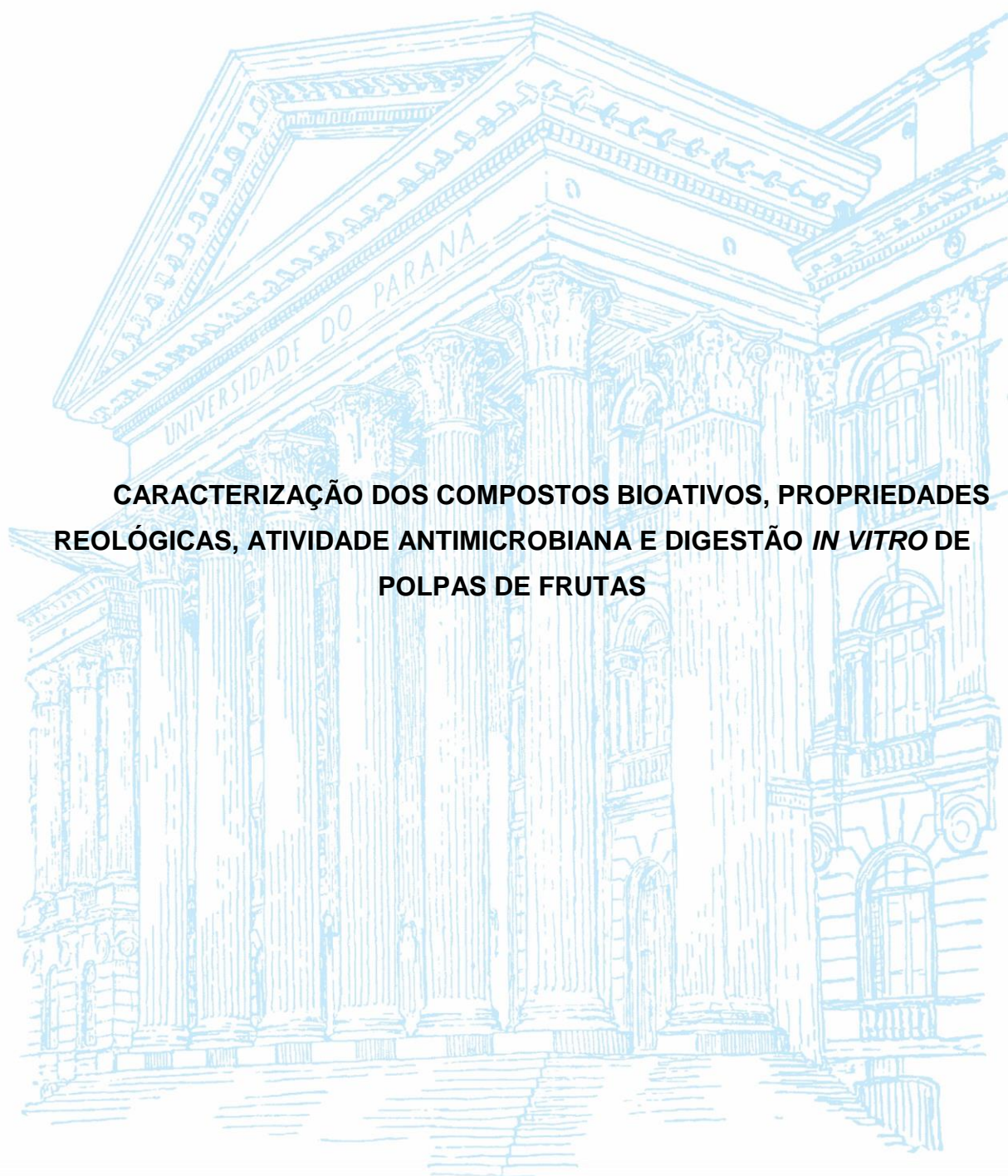


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANA PAULA STAFUSSA



**CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS, PROPRIEDADES
REOLÓGICAS, ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E DIGESTÃO *IN VITRO* DE
POLPAS DE FRUTAS**

CURITIBA

2018

ANA PAULA STAFUSSA

**CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS, PROPRIEDADES
REOLÓGICAS, ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E DIGESTÃO *IN VITRO* DE
POLPAS DE FRUTAS**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Engenharia de Alimentos, no Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk.
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Giselle Maria Maciel.

CURITIBA
2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR
BIBLIOTECA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

S779c Stafussa, Ana Paula
 Caracterização dos compostos bioativos, propriedades reológicas, atividade antimicrobiana e
 digestão in vitro de polpas de frutas / Ana Paula Stafussa. – Curitiba, 2018.

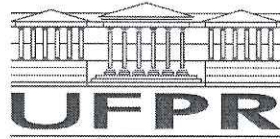
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-
Graduação em Engenharia de Alimentos, 2018.

Orientador: Prof. Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk.
Coorientadora: Profa. Dra. Giselle Maria Maciel.

1. Frutas nativas (Brasil). 2. Frutas exóticas. 3. Metabólitos secundários. 4. Cromatografia.
I. Universidade Federal do Paraná. II. Haminiuk, Charles Windson Isidoro. III. Maciel, Giselle
Maria. IV. Título.

CDD: 664.8

Bibliotecária: Romilda Santos - CRB-9/1214



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA DE
ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA DE ALIMENTOS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **ANA PAULA STAFUSSA** intitulada: **Caracterização dos compostos bioativos, propriedades reológicas, atividade antimicrobiana e digestão *in vitro* de polpas de frutas**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 11 de Setembro de 2018.

CHARLES WINDSON ISIDORO HAMINIUK
Presidente da Banca Examinadora

CRISTIANE VIEIRA HELM
Avaliador Externo

MICHELE RIGON SPIER
Avaliador Interno

POLIANA MACEDO DOS SANTOS
Avaliador Externo

REGINA MARIA MATOS JORGE
Avaliador Interno

Dedico este trabalho a meus pais,
Antonio e Rosineide, minha irmã Ana
Carolina e meu noivo Wellington.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus acima de tudo, por todas as oportunidades concedidas. Por iluminar meus caminhos e me dar forças para continuar a caminhada da vida.

À minha família e amigos, pelo amor e carinho imenso que me oferecem e por sempre estarem ao meu lado, me apoiando e incentivando em minhas escolhas.

Aos meus orientadores, Professor Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk e a Professora Dr^a. Giselle Maria Maciel pela orientação, dedicação, paciência, amizade e confiança. Além disso, enfatizo meu agradecimento ao Professor Dr. Charles, que sempre me incentivou e me proporcionou oportunidades, como a realização desta pesquisa.

Aos professores, membros pertencentes à banca avaliadora, por contribuírem na discussão e no enriquecimento deste trabalho.

Aos colegas e amigos de laboratórios e da pós graduação, pelas trocas de conhecimentos, auxílios e companheirismo. Em especial ao pessoal do Laboratório de Biotecnologia da UTFPR.

À UTFPR (Universidade Tecnológica Federal do Paraná) pela infraestrutura disponibilizada para realização do trabalho.

Aos Professores Dr^a Lucia Regina Rocha Martins; Dr. Thomas Aurélio Pagioro e Dr. Roberto Pontarolo por disponibilizarem equipamentos e laboratórios.

À Coordenação e aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pelo auxílio financeiro durante o doutorado no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Por fim, à todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram para elaboração deste trabalho.

Minha sincera gratidão,
Ana Paula Stafussa.

“O sucesso é a soma de pequenos esforços repetidos dia após dia.”

Robert Collier

RESUMO GERAL

O consumo de polpas de frutas vem aumentando consideravelmente pela população mundial devido aos benefícios à saúde. Em razão de sua importância nutricional, estudos vêm sendo realizados para descoberta de características de interesse para as agroindústrias, como propriedades reológicas, atividade antioxidante e antimicrobiana. Porém, poucos estudos são dedicados ao levantamento de dados de uma grande variedade de frutas nativas e exóticas, como relatado no **Capítulo 1** – revisão bibliográfica. Por essa razão, esta pesquisa teve por objetivo, avaliar a presença de compostos bioativos, efeito antimicrobiano, simulação de digestão *in vitro* e estudo reológico de polpas de frutas comerciais. A partir disso, o trabalho foi fragmentado em partes específicas, tal que, o **Capítulo 2**, teve por finalidade quantificar os compostos bioativos de 44 polpas de frutas, através da determinação de compostos fenólicos totais, flavonoides, antocianinas monoméricas e atividade antioxidante pelo método ABTS e DPPH. Utilizou-se, para classificação das amostras, a análise de componentes comuns e pesos específicos (CCSWA). Foi observado que as polpas de frutas que apresentaram maiores concentrações de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante foram panã, acerola, açaí e jabuticaba. A CCSWA foi capaz de explicar quase 100% da variância entre os dados, estabelecendo relações direta entre o conteúdo de compostos fenólicos e o potencial antioxidante, sendo estas variáveis as mais influentes na componente comum 1 (CC1). A variância na componente comum 2 (CC2) foi explicada, principalmente, em função do conteúdo de catequina, quantificado pelo HPLC-DAD. Por sua vez, o **Capítulo 3** abordou a caracterização físico-química e reológica de 42 polpas de frutas. Foi utilizado para avaliar os resultados, os métodos quimiométricos de CCSWA e análise hierárquica de agrupamentos (HCA). As características físico-químicas e o comportamento reológico das polpas mostraram-se consideravelmente diferentes. O modelo Herschel-Bulkley foi capaz de descrever o perfil reológico das polpas de frutas. O CCSWA foi capaz de explicar quase 100% da variação dos dados, confirmando a relação entre quantidade de sólidos solúveis e a tensão inicial - sendo estas variáveis as responsáveis na classificação das amostras. Através da análise de HCA, observou-se que a quantidade de sólidos solúveis influenciou na viscosidade. O **capítulo 4** foi destinado a avaliar a concentração de compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante por DPPH, ABTS e FRAP e caracterização dos extratos por UPLC-QToF-MS^E, como também, explorar a atividade antimicrobiana e a bioacessibilidade, por meio de análise de digestão *in vitro* de 10 polpas de frutas. Diferenças no perfil fenólico e na atividade antioxidante foram observadas dependendo da polpa de fruta, da fase de digestão, dos compostos fenólicos e do ensaio de atividade antioxidante. Em geral, a digestão teve um efeito redutor sobre os compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. Na caracterização dos extratos por UPLC-QToF-MS^E, destacou-se a presença de dois ácidos, cítrico e quínico. Com relação à concentração mínima inibitória (CMI), os extratos apresentaram inibição tanto para bactérias gram positivas quanto para gram negativas. Portanto, as polpas de frutas estudadas apresentam grande potencial bioativo que podem ser utilizadas na indústria como um rico ingrediente alimentício.

Palavras-chave: Frutas nativas e exóticas, metabólitos secundários, reologia, análise multivariada, cromatografia.

GENERAL ABSTRACT

The consumption of fruit pulps has been increasing considerably by the world population due to the health benefits. Due to their nutritional importance, studies have been carried out to discover characteristics of interest to agroindustries, such as rheological properties, antioxidant and antimicrobial activity. However, few studies are dedicated to the data collection of a large variety of native and exotic fruits, as reported in Chapter 1 - bibliographic review. For this reason, this research aimed to evaluate the presence of bioactive compounds, antimicrobial effect, *in vitro* digestion simulation and rheological study of commercial fruit pulps. From this, the work was fragmented into specific parts, such that, Chapter 2, aimed to quantify the bioactive compounds of 44 fruit pulps by determining total phenolic compounds, flavonoids, monomeric anthocyanins and antioxidant activity by the ABTS and DPPH methods. The analysis of common components and specific weights (CCSWA) was used for the classification of the samples. It was observed that the fruits pulps that presented higher concentrations of total phenolic compounds and antioxidant activity were panã, acerola, açaí and jabuticaba. CCSWA was able to explain almost 100% of the variance between the data, establishing direct relations between the content of phenolic compounds and the antioxidant potential, being these variables the most influential in the common component 1 (CC1). The variance in common component 2 (CC2) was mainly explained as a function of catechin content, quantified by HPLC-DAD. On the other hand, Chapter 3 approached the physical-chemical and rheological characterization of 42 fruit pulps. It was used to evaluate the results, the CCSWA and hierarchical cluster analysis (HCA) chemometric methods. The physical-chemical characteristics and the rheological behavior of the pulps were considerably different. The Herschel-Bulkley model was able to describe the rheological profile of fruit pulps. The CCSWA was able to explain almost 100% of the data variation, confirming the relations between the amount of soluble solids and the yield stress - these variables being responsible for the classification of the samples. Through the HCA analysis, it was observed that the amount of soluble solids influenced the viscosity. Chapter 4 was designed to evaluate the concentration of total phenolic compounds, antioxidant capacity by DPPH, ABTS and FRAP and characterization of extracts by UPLC-QToF-MS^E, as well as to explore the antimicrobial activity and bioaccessibility through digestion analysis *in vitro* of 10 fruit pulps. Differences in phenolic profile and antioxidant activity were observed depending on the fruit pulp, the digestion phase, the phenolic compounds and the antioxidant activity test. In general, the digestion had a reducing effect on the total phenolic compounds and antioxidant activity. In the characterization of extracts by UPLC-QToF-MS^E, the presence of two acids, citric and quinic, was highlighted. Regarding the minimum inhibitory concentration (MIC), the extracts showed inhibition for both gram positive and gram negative bacteria. Therefore, the fruit pulps studied have great bioactive potential that can be used in the industry as a rich food ingredient.

Key words: Native and exotic fruits, secondary metabolites, rheology, multivariate analysis, chromatography.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	PRODUÇÃO DE FRUTAS NO MUNDO DE 2007 À 2014.....	20
FIGURA 2 -	ESQUEMA DA PRODUÇÃO DE POLPAS DE FRUTAS.....	23
FIGURA 3 -	CLASSIFICAÇÃO DOS ANTIOXIDANTES.....	25
FIGURA 4 -	MECANISMO DE REAÇÃO ENTRE O RADICAL DPPH• E UM ANTIOXIDANTE (AH) ATRAVÉS DA TRANSFERÊNCIA DE UM ÁTOMO DE HIDROGÊNIO.....	27
FIGURA 5 -	OXIDAÇÃO DO REAGENTE ABTS POR PERSULFATO DE POTÁSSIO PARA GERAÇÃO DE CÁTION RADICAL ABTS ^{•+} E SUA REAÇÃO COM UM COMPOSTO ANTIOXIDANTE (AOH).....	28
FIGURA 6 -	REDUÇÃO DO COMPLEXO FE ³⁺ - TPTZ EM COMPLEXO FE ²⁺ -TPTZ, ATRAVÉS DA AÇÃO DE ANTIOXIDANTE.....	28
FIGURA 7 -	ESTRUTURA QUÍMICA BÁSICA (C ₆ -C ₃ -C ₆) DOS FLAVONOIDES. (A) ANEL A; (B) ANEL B E (C) ANEL C DA ESTRUTURA DA MOLÉCULA.....	31
FIGURA 8 -	ESTRUTURA QUÍMICA DE FLAVONOIDES.....	32
FIGURA 9 -	CLASSIFICAÇÃO DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DOS FLUIDOS.....	40
FIGURA 10 -	REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DE FLUIDOS NEWTONIANOS.....	41
FIGURA 11 -	CURVAS DE ESCOAMENTOS DOS FLUIDOS.....	42
FIGURA 12 -	CURVAS DE ESCOAMENTOS DOS FLUIDOS DEPENDENTES DO TEMPO.....	44
FIGURA 13 -	DISTRIBUIÇÃO DE AMOSTRAS DE ACORDO COM COMPONENTES COMUNS E PESOS ESPECÍFICOS ENTRE CC1 E CC2.....	66
FIGURA 14 -	(A) CORRELAÇÃO ENTRE VARIÁVEIS ESPECTROFOTOMÉTRICAS (UV-VIS) E COMPONENTES COMUNS (CC1 E CC2); (B) CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS CROMATOGRÁFICAS (HPLC-DAD) E COMPONENTES COMUNS (CC1 E CC2).....	68
FIGURA 15 -	CURVAS DE ESCOAMENTO EM REGIME PERMANENTE DAS POLPAS DE FRUTAS.....	83

FIGURA 16 -	A VISCOSIDADE APARENTE EM FUNÇÃO DA TAXA DE CISALHAMENTO DAS POLPAS DE FRUTAS COMO LIMÃO, KIWI, ARAÇÁ E BURITI, LIGOU AS REGIÕES DE BAIXA, MÉDIA E ALTA VISCOSIDADE.	85
FIGURA 17 -	SCORES E LOADINGS DA ANÁLISE DE CCSWA (A - B) DE DADOS FÍSICO-QUÍMICOS E (C - D) REOLÓGICOS.....	88
FIGURA 18 -	DISTRIBUIÇÃO DE AMOSTRAS DE ACORDO COM CCSWA EM CC1 E CC2.	89
FIGURA 19 -	ANÁLISE HIERÁRQUICA DE AGRUPAMENTOS (HCA) APLICADA A DADOS REOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS.	90

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	MAIORES PAÍSES PRODUTORES DE FRUTAS EM 2014.....	21
TABELA 2 -	DERIVADOS DO ÁCIDO BENZOICO E ÁCIDO CINÂMICO.....	30
TABELA 3 -	ESTUDOS DE COMPOSTOS BIOATIVOS EM POLPAS DE FRUTAS.....	34
TABELA 4 -	ESTUDOS REOLÓGICOS REALIZADOS COM POLPAS DE FRUTAS.....	46
TABELA 5 -	CONCENTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DAS POLPAS DE FRUTAS.....	59
TABELA 6 -	CONCENTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS NAS POLPAS DE FRUTAS.....	63
TABELA 7 -	SALIÊNCIAS / PESO ESPECÍFICO DE CADA CONJUNTO DE DADOS DE ACORDO COM OS COMPONENTES COMUNS CC1 A CC5.....	67
TABELA 8 -	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E QUANTIFICAÇÃO DE PECTINA EM POLPAS DE FRUTAS.....	79
TABELA 9 -	MÉDIAS E DESVIO PADRÃO DOS PARÂMETROS DE HERSCHEL-BULKLEY AJUSTADOS ÀS POLPAS DE FRUTAS.....	84
TABELA 10 -	SALIÊNCIAS / PESO ESPECÍFICO DE CADA CONJUNTO DE DADOS DE ACORDO COM O COMPONENTE COMUM CC1 A CC5.....	86
TABELA 11 -	FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE POLPAS DE FRUTAS.....	101
TABELA 12 -	CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS DE POLPAS DE FRUTAS POR UPLC-QTOF-MS ^E	104
TABELA 13 -	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE POLPAS DE FRUTAS AVALIADOS PELO MÉTODO DE MICRODILUIÇÃO, ATRAVÉS DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (CMI).....	109
TABELA 14 -	FRAÇÕES BIOACESSÍVEIS DE CFT, DPPH E ABTS DAS ETAPAS GÁSTRICAS E INTESTINAL.	112
TABELA 15 -	PORCENTAGEM DE BIOACESSIBILIDADE DOS CFT, DPPH E ABTS.....	114

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS	-	2,2'-azino-bis(3-etil-benzolona-6-sulfonato)
AIDS	-	Síndrome da imunodeficiência adquirida
ALS	-	Alternating least squares
Anvisa	-	Agência nacional de vigilância sanitária
AOAC	-	Association of official analytical chemists
ATP	-	Adenosina trifosfato
B_F	-	Fração bioacessível
BHA	-	Butil-hidroxianisol
BHT	-	Butil-hidroxitolueno
CAM	-	Conteúdo de antocianinas monoméricas
CCs	-	Componentes principais
CCSWA	-	Componentes comuns e pesos específicos
CFT	-	Compostos fenólicos totais
CMI	-	Concentração mínima inibitória
ComDim	-	Dimensão comum
DAD	-	Detector de arranjo de diodos
DNA	-	Ácido desoxirribonucleico
DPPH	-	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
FRAP	-	Poder antioxidante de redução do ferro
FT	-	Flavonóides totais
HAT	-	Transferência de um átomo de hidrogênio
HCA	-	Análise hierárquica de agrupamentos
HPLC	-	Cromatografia líquida de alta eficiência
K	-	Índice de consistência ($Pa.s^n$)
MA	-	Concentração da antocianina
MH	-	Mueller Hinton
SET	-	Transferência de um elétron
TPTZ	-	2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina
TR	-	Tempo de retenção
UPLC-QToF- MS ^E	-	Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa de alta resolução

UV- Vis - Espectroscopia na região ultravioleta visível

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	17
OBJETIVOS.....	18
OBJETIVO GERAL	18
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
CAPÍTULO 1: REVISÃO DA LITERATURA.....	19
1 REVISÃO DA LITERATURA	20
1.1 FRUTAS/ POLPA DE FRUTAS	20
1.2 PROCESSAMENTO	22
1.3 COMPOSTOS BIOATIVOS	24
1.3.1 ANTIOXIDANTES	24
1.3.2 Compostos fenólicos	29
1.3.3 Compostos bioativos em polpas de frutas.....	33
1.3.4 Atividade Antimicrobiana dos compostos bioativos	35
1.3.5 Bioacessibilidade de compostos bioativos	37
1.4 REOLOGIA.....	38
1.4.1 Características reológicas	39
1.4.2 Reologia em polpas de frutas.....	45
1.5 QUIMIOMETRIA.....	47
CAPÍTULO 2: ESTUDO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DE 44 POLPAS DE FRUTAS BRASILEIRAS NATIVAS E EXÓTICAS: COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	49
RESUMO.....	50
1 INTRODUÇÃO	50
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	52
2.1 MATÉRIA- PRIMA	52
2.2 PROCESSO DE EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS	53
2.3 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	53
2.4 QUANTIFICAÇÃO DOS FLAVONOIDES TOTAIS	53
2.5 CONTEÚDO DE ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS (CAM)	54
2.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	55
2.7 DETERMINAÇÃO DO PERFIL FENÓLICO POR HPLC-DAD	56
2.8 ANÁLISE DOS DADOS.....	57

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
3.1 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS POR ESPECTROFOTOMETRIA	58
3.2 AVALIAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA.....	62
3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA	65
4 CONCLUSÕES	70
CAPÍTULO 3: AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E REOLÓGICAS DE 42 DIFERENTES POLPAS DE FRUTAS UTILIZANDO ANÁLISE MULTIVARIADA	71
RESUMO	72
1 INTRODUÇÃO	72
2 MATERIAL E MÉTODOS	74
2.1 MATÉRIA-PRIMA.....	74
2.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....	75
2.3 ANÁLISE REOLÓGICA.....	75
2.4 ANÁLISE DOS DADOS.....	76
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	78
3.1 CARACTERIZAÇÃO DE POLPAS DE FRUTAS	78
3.2 ESTUDO REOLÓGICO DAS POLPAS DE FRUTAS.....	81
3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA.....	85
4. CONCLUSÕES	91
CAPÍTULO 4: ESTUDO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E DIGESTÃO <i>IN VITRO</i> DE 10 POLPAS DE FRUTAS NATIVAS E EXÓTICAS	92
RESUMO	93
1 INTRODUÇÃO	94
2 MATERIAL E MÉTODOS	95
2.1 MATÉRIA- PRIMA.....	95
2.2 PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS.....	95
2.3 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT).....	96
2.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	96
2.4.1 Atividade sequestrante de radicais livres por DPPH	96
2.4.2 Atividade sequestrante de radicais livres por ABTS.....	97

2.4.3 Potencial antioxidante redutor de ferro (ensaio FRAP)	97
2.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	98
2.6 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS POR UPLC-QTOF-MS ^E	99
2.7 SIMULAÇÃO DA DIGESTÃO GASTROINTESTINAL <i>IN VITRO</i>	99
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	100
3.1 COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	100
3.2 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS POR UPLC-QTOF-MS ^E	103
3.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA <i>IN VITRO</i>	108
3.4 DIGESTÃO <i>IN VITRO</i>	111
4 CONCLUSÕES	116
CONSIDERAÇÕES FINAIS	117
REFERÊNCIAS.....	119

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil apresenta a maior biodiversidade do mundo, abrangendo um imenso número de espécies frutíferas. Conseqüentemente, o consumo de frutas nativas e exóticas vêm crescendo devido ao aumento do reconhecimento do valor nutritivo e terapêutico dos frutos. Em razão do grande potencial das frutas, as indústrias estão transformando as frutas *in natura* em polpas comercializadas na forma congelada, a fim de torná-las disponíveis aos consumidores durante os períodos de entressafra.

As polpas de frutas são uma fonte rica em metabólitos secundários, tais como vitaminas, flavonoides, antocianinas, e outros compostos fenólicos, que podem desempenhar funções antioxidantes, antitumorais, anti-inflamatórias e antimicrobianas. Além disso, apresentam aplicações biotecnológicas e farmacológicas de enorme importância.

Um dos principais fatores limitantes dos efeitos benéficos dos compostos fenólicos é sua bioacessibilidade, que depende da estabilidade digestiva e sua liberação da matriz alimentar no organismo humano. Portanto há grande interesse nos estudos sobre a simulação da digestão gastrointestinal, que realizam testes *in vitro*, simulando as condições fisiológicas que ocorrem no processo de digestão.

Outra característica importante em relação às polpas de frutas são as propriedades reológicas, que são fundamentais para o projeto de operações unitárias, otimização de processos e garantia de alta qualidade dos produtos. Deste modo, o conhecimento dos parâmetros reológicos se faz necessário, não apenas em aplicações industriais para determinação do consumo de energia ao bombear substâncias viscosas, mas também para solucionar problemas, como da incorporação de ar, que provoca baixo rendimento, além de propiciar reações indesejadas, tais como oxidação e contaminação.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo estudar os compostos bioativos *in vitro*, as características físico-químicas e reológicas, a atividade antimicrobiana e a digestão *in vitro* de diferentes polpas de frutas nativas e exóticas que são comercializadas no Brasil, como também utilizar ferramentas quimiométricas para analisar alguns dos resultados que foram obtidos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Estudar a caracterização dos compostos bioativos, propriedades reológicas, simulação da digestão *in vitro* e atividade antimicrobiana de polpas de frutas comerciais nativas e exóticas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar os compostos fenólicos e a atividade antioxidante *in vitro* de diferentes polpas de frutas empregando técnica estatística multivariada (CCSWA) para diferenciá-las.

Determinar as características físico-químicas e o comportamento reológico das polpas de frutas avaliando os dados através da utilização de métodos de análise estatística multivariada, tais como o CCSWA e HCA.

Avaliar dez polpas de frutas liofilizadas quanto a: concentração de fenólicos totais, capacidade antioxidante através dos métodos de DPPH, ABTS e FRAP, detecção os compostos fenólicos e ácidos orgânicos por meio da análise em UPLC-QToF-MS^E, atividade antimicrobiana e a simulação da digestão *in vitro* dos extratos fenólicos.

CAPÍTULO 1: REVISÃO DA LITERATURA

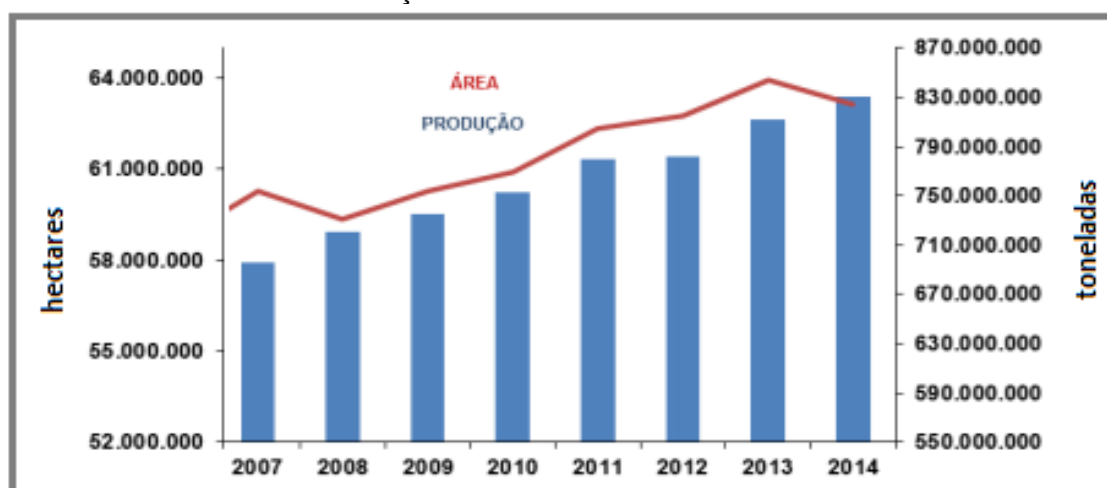
1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 FRUTAS/ POLPA DE FRUTAS

Frutas são fontes que apresentam quantidades consideráveis de micronutrientes, como minerais, vitaminas e compostos fitoquímicos secundários, que são indispensáveis para dieta humana (SILVA et al., 2014a). Suas principais funções são: auxiliar o organismo na resistência contra infecções, no desenvolvimento do indivíduo saudável, e de proporcionar um aumento nas defesas do organismo contra algumas agressões do meio ambiente (EVANGELISTA, 2008; SEBRAE, 2014).

A produção mundial de frutas apresenta um aumento contínuo no decorrer dos anos (Figura 1) (FAOSTAT, 2018). Segundo a FAOSTAT (2018), a produção em 2007 foi de 679,0 milhões de toneladas e em 2014 foram colhidas 830,4 milhões de toneladas; ou seja, um aumento de 18,23 % em 7 anos.

FIGURA 1 - PRODUÇÃO DE FRUTAS NO MUNDO DE 2007 À 2014.



FONTE: Adaptado de FAO (2018).

Em relação ao Brasil, o país é o terceiro maior produtor mundial de frutos frescos e processados, seguido por China e Índia (Tabela 1) (BARROS et al.,

2017). De acordo com a FAO (2018), em 2014 o Brasil produziu 40,2 milhões de toneladas.

TABELA 1 - MAIORES PAÍSES PRODUTORES DE FRUTAS EM 2014.

PAÍS	ÁREA (ha)	PRODUÇÃO (t)	% PRODUÇÃO
China	15.644.245	250.878.739	30,2
Índia	7.224.098	89.920.609	10,8
Brasil	2.367.904	40.171.283	4,8
Estados Unidos	1.216.601	28.248.236	3,4
Turquia	1.456.354	19.870.281	2,4
Espanha	1.560.252	19.337.080	2,3
México	1.355.679	19.324.424	2,3
Indonésia	778.090	18.169.387	2,2
Irã	1.194.283	17.819.079	2,1
Itália	1.175.701	16.626.601	2,0
Outros países	29.166.733	310.006.057	37,3
TOTAL	63.139.940	830.371.776	100,0

FONTE: FAO (2018).

O território brasileiro possui uma grande variedade de espécies frutíferas nativas e exóticas sub-exploradas de grande potencial e interesse para a agroindústria (ALMEIDA et al., 2011; SILVA et al., 2014a; SCHIASSI et al., 2018). Tal perspectiva é devido à grande extensão territorial e sua inserção, principalmente em zonas de clima tropical e temperado (PEREIRA et al., 2013).

A fim de aprimorar e aumentar a produção de frutas no Brasil, as indústrias realizam o seu processamento, com objetivo de aumentar a vida útil, uma vez que apresentam elevada perecibilidade, o que acarreta perdas expressivas ao longo da cadeia produtiva. Dentre as formas de processamento, destaca-se a produção de polpas de frutas congeladas, que podem ser utilizadas como matéria-prima para elaboração de outros produtos, além de proporcionar praticidade ao consumidor e evitar a sazonalidade das frutas (SEBASTIANY et al., 2010).

De acordo com a Instrução Normativa nº1 de 7 de janeiro de 2000 (MAPA, 2000), define-se polpa de fruta como:

“Polpa de fruta é o produto não fermentado, não concentrado, não diluído, obtido de frutos polposos, através de processo tecnológico adequado, com um teor mínimo de sólidos totais, proveniente da parte comestível do fruto”.

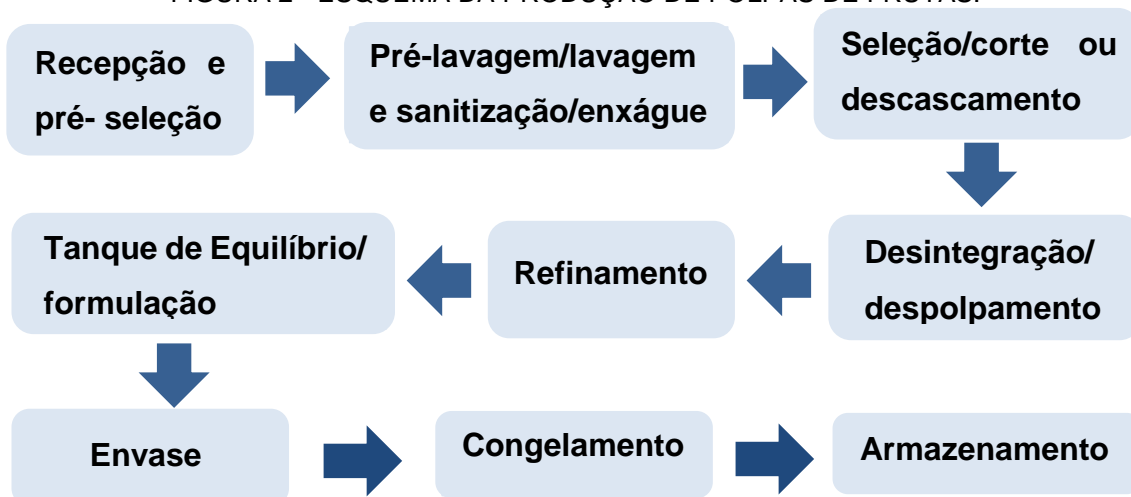
Devido à alta produção de polpas de frutas, tem havido um enorme interesse no uso de polpas de frutas e seus subprodutos no isolamento de fitoquímicos específicos, com objetivo de serem aplicados em suplementos nutracêuticos, aditivos alimentares, novos produtos alimentares e farmacêuticos (AYALA-ZAVALA et al., 2011; SILVA et al., 2014a). Um dos fatores que contribuem para tal interesse, se deve ao fato das frutas serem consideradas fonte de compostos antioxidantes, tais como fenólicos, carotenoides, vitaminas e minerais, que colaboram para o potencial quimiopreventivo (KUSKOSKI et al., 2005; MAHATTANATAWEE et al., 2006; ALMEIDA et al., 2011).

Estudos epidemiológicos, por exemplo, mostram que uma dieta rica em frutas, está diretamente relacionada com benefícios à saúde. Diminuindo riscos de doenças crônicas, incluindo diabete, cancro e doenças cardiovasculares (KAULMANN et al., 2014; PARK et al., 2015).

1.2 PROCESSAMENTO

Para a realização da produção de polpas de frutas congeladas segue-se as seguintes etapas descritas na Figura 2.

FIGURA 2 - ESQUEMA DA PRODUÇÃO DE POLPAS DE FRUTAS.



FONTE: Adaptado de TOLENTINO; GOMES (2009).

Na etapa de recepção e pré-seleção ocorre à separação das frutas maduras e impróprias para o processo. Em seguida, seguem para pré-lavagem e lavagem, passando primeiramente por uma pré-lavagem com água limpa, para remoção de sujidades superficiais; logo após, são lavadas com água clorada durante 20 a 30 minutos. Essa etapa é fundamental para evitar a incorporação de sujidades da superfície da fruta para a polpa, durante as etapas subsequentes. Após a lavagem, as frutas são enxaguadas com água limpa para retirada do excesso do cloro. Então, é realizada uma nova seleção, conforme o grau de maturação, firmeza, machucaduras e defeitos, tendo como objetivo de eliminar as frutas com não conformidades para o processo (MATTA et al., 2005; TOLENTINO e GOMES, 2009; SEBASTIANY et al., 2010).

Posteriormente, é realizada a etapa de corte ou descascamento dependendo da fruta, a fim de facilitar o despulpamento das frutas, onde ocorre a separação da polpa do material fibroso, sementes e restos de cascas. Na sequência, o refinamento é executado com objetivo de melhorar a aparência e a estabilidade física das polpas.

Depois do refinamento, o material é direcionado ao tanque de equilíbrio, para homogeneização do produto antes do envase. Vale salientar que, nesta etapa também ocorre a correção do teor de sólidos solúveis (°Brix). Após a formulação, as polpas são envazadas e levadas para o congelamento (MATTA et al., 2005; TOLENTINO e GOMES, 2009; SEBASTIANY et al., 2010).

O congelamento tem por finalidade assegurar um ambiente de conservação, por meio da redução expressiva da temperatura, proporcionando a polpa maior tempo de prateleira. Para alcançar a máxima eficácia desta operação, a polpa deve ser congelada de forma rápida e imediata, logo após o envase, uma vez que a velocidade na execução favorece a preservação das características originais da fruta. Finalizando o processo, as polpas vão para câmaras frigoríficas, onde são armazenadas em temperaturas de -18 a 22 °C (MATTA et al., 2005; TOLENTINO e GOMES, 2009; SEBASTIANY et al., 2010).

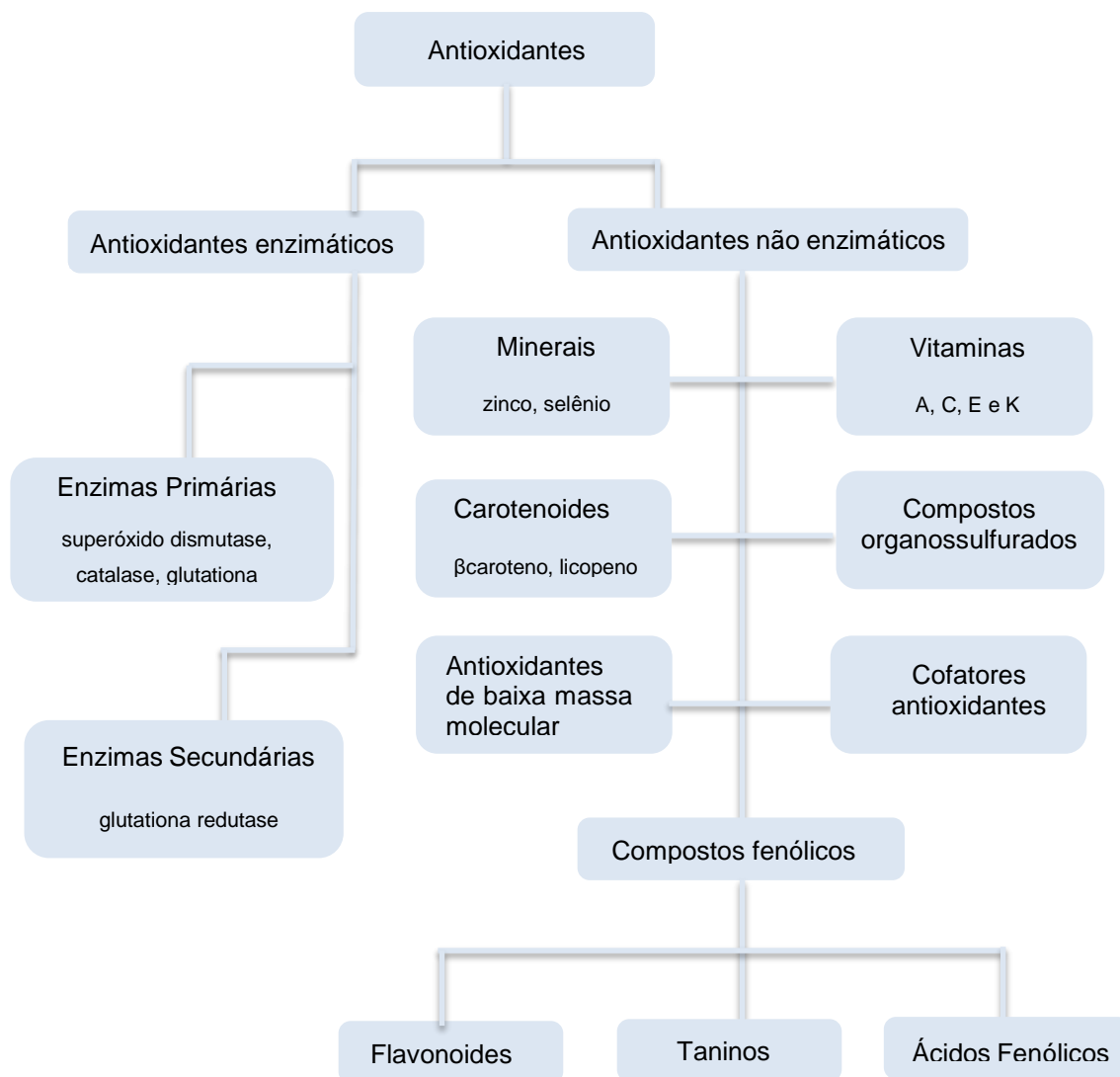
1.3 COMPOSTOS BIOATIVOS

1.3.1 Antioxidantes

Os compostos antioxidantes podem ser definidos como substâncias que, quando presentes em pequenas concentrações em relação ao substrato oxidável, são capazes de retardar ou mesmo inibir substancialmente a oxidação do substrato; ou seja, atuam inibindo e/ou diminuindo os efeitos provocados pelos radicais livres (HALLIWELL, 1997; ZHENG; WANG, 2001; NIKI, 2010).

Quanto à classificação, os antioxidantes podem ser classificados em dois grupos principais, antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Alguns destes antioxidantes são produzidos endogenamente, o que inclui enzimas, moléculas de baixo peso molecular e cofatores de enzimas. Entre os antioxidantes não enzimáticos, são obtidas muitas formas de fontes dietéticas. Antioxidantes dietéticos podem ser classificados em diferentes classes, dos quais os compostos fenólicos são o maior grupo (Figura 3) (RATNAM et al., 2006).

FIGURA 3 - CLASSIFICAÇÃO DOS ANTIOXIDANTES.



FONTE: Adaptado de RATNAM et al. (2006).

Outra possível classificação para os compostos antioxidantes é sua divisão em dois grupos: sintéticos e naturais. Os antioxidantes sintéticos, como o butil-hidroxianisol (BHA) e o butil-hidroxitolueno (BHT), são largamente empregados nas indústrias de alimentos, por serem seguros para a saúde. Já os antioxidantes naturais são substâncias bioativas, tais como organossulfurados, fenólicos e terpenos, que fazem parte da constituição de diversos alimentos, incluindo as frutas (DUARTE- ALMEIDA et al., 2006).

Os antioxidantes podem atuar por meio de várias formas: como inibidores de reações de oxidação de radicais livres oxidantes (preventivas), por inibição da formação de radicais livres de lipídeos; interrompendo a propagação

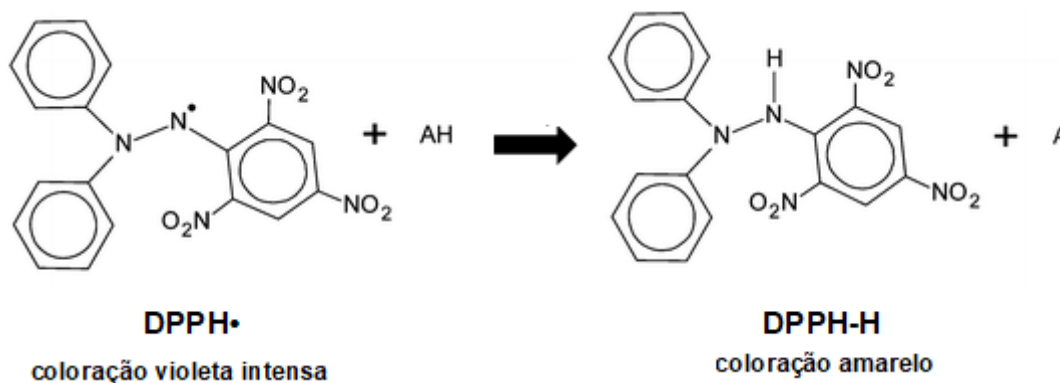
da reação em cadeia da auto-oxidação (antioxidantes de quebra de cadeia); como supressores de oxigênio atômico; através de sinergismo com outros antioxidantes; como agentes de hidroperóxidos, que são convertidos em compostos estáveis redutor; como quelantes de metais, que se convertem os pró-oxidantes metálicos (derivados de ferro e cobre) em produtos estáveis; e, finalmente, como inibidores de enzimas pró-oxidativas (lipoxigenases) (DARMANYAN et al., 1998; HEIM et al., 2002; MIN; BOFF, 2002; POKORNÝ, 2007; KANCHEVA, 2009).

A ação dos antioxidantes para desativar os radicais livres podem ser realizados por dois mecanismos principais: transferência de um átomo de hidrogênio (*Hydrogen Atom Transfer*, HAT) ou por transferência de um elétron (*Single Electron Transfer*, SET). O mecanismo por transferência de um átomo de hidrogênio (HAT) mede a capacidade de um antioxidante em eliminar radicais livres doando hidrogênio. Entre os ensaios deste mecanismo, está o sistema de autooxidação β -caroteno/ácido linoleico. Já no mecanismo por transferência de um elétron é detectado a capacidade de um antioxidante em reduzir um composto (incluindo metais, grupamentos carbonila e radicais livres), através da transferência de um elétron. Entre os ensaios deste mecanismo, pode-se citar o ensaio FRAP (*Ferric reducing antioxidant power* - Poder antioxidante de redução do ferro). Entretanto, existem dois métodos em que ambos os mecanismos HAT e SET acontecem, o DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) e o ABTS [2,2'-azino-bis(3-etil-benzolona-6-sulfonado)] (PRIOR et al., 2005). Para determinar a capacidade antioxidante de um produto, geralmente utiliza-se de dois ou mais métodos, uma vez que nenhum ensaio, isoladamente, irá expressar precisamente a atividade antioxidante total de uma amostra (PRIOR e CAO, 1999).

O método de eliminação de radicais DPPH está entre os ensaios mais realizados para avaliar a atividade antioxidante (NOIPA et al., 2011; SHAHIDI; ZHONG, 2015). A molécula de DPPH é um radical livre, sendo caracterizado como um radical estável e de coloração violeta intensa. A coloração deste radical, na presença de um doador de átomos de hidrogênio ou elétron (antioxidante) que se liga ao nitrogênio do DPPH, é reduzida ao longo da reação, tornando-se amarela, de acordo com o número de elétrons capturados (Figura

4) (Ali et al., 2008). A forma reduzida do radical é observada pelo decréscimo de absorvância na faixa de 515 à 520 nm (NOIPA et al., 2011).

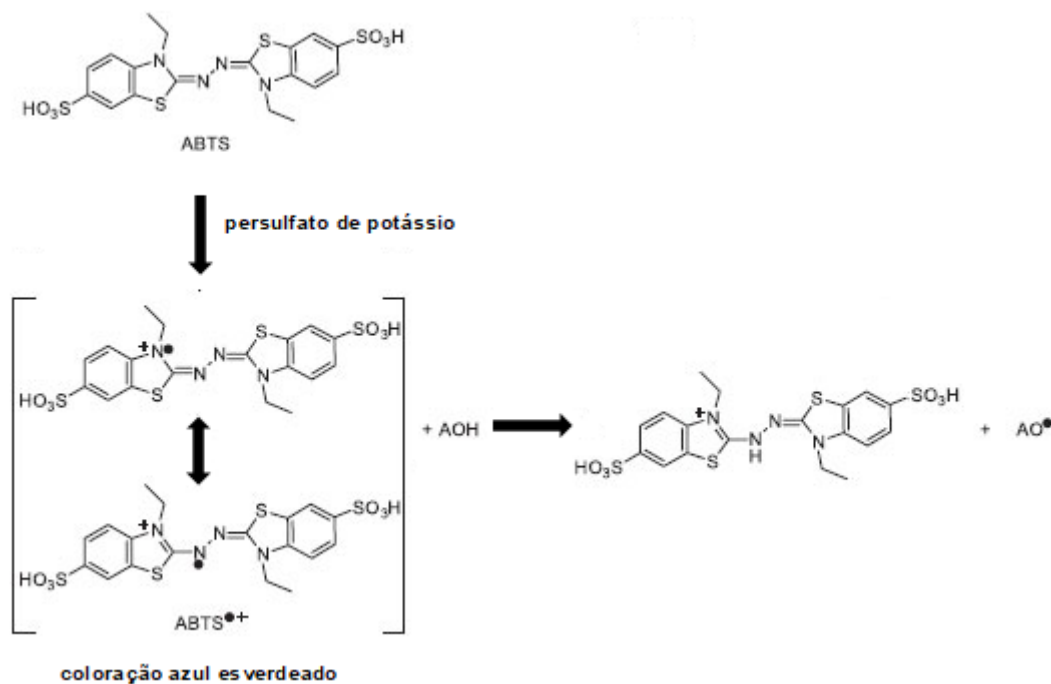
FIGURA 4 - MECANISMO DE REAÇÃO ENTRE O RADICAL DPPH• E UM ANTIOXIDANTE (AH) ATRAVÉS DA TRANSFERÊNCIA DE UM ÁTOMO DE HIDROGÊNIO.



. FONTE: Adaptado de PYRZYNSKA; PEKAL (2013).

Por outro lado, a metodologia de sequestro do radical ABTS•+ baseia-se na formação de um radical cátion estável de ABTS•+, através da reação de oxidação do 2,2'-azino-bis(3-etil-benzolína-6-sulfonado) (ABTS) com persulfato de potássio, possuindo uma coloração azul esverdeado (Figura 5). Na presença de um antioxidante ao radical formado, ocorre a redução do radical ABTS•+ a novamente ABTS, diminuindo a intensidade da coloração do meio reacional (SHAHIDI; ZHONG, 2015). O radical ABTS•+ é solúvel em solventes aquosos e orgânicos e não é afetado pela força iônica. Portanto, pode ser utilizados em vários meios para determinação da capacidade antioxidante de extratos hidrofílicos e lipofílicos (PRIOR et al., 2005).

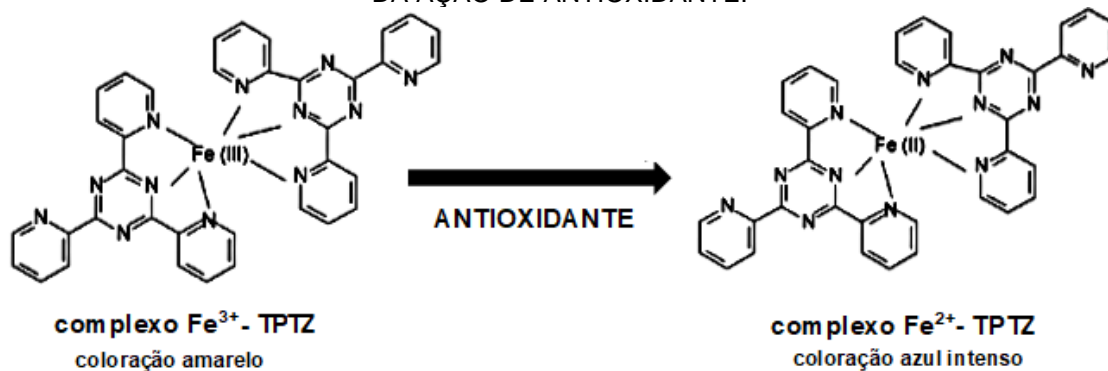
FIGURA 5 - OXIDAÇÃO DO REAGENTE ABTS POR PERSULFATO DE POTÁSSIO PARA GERAÇÃO DE CÁTION RADICAL ABTS^{•+} E SUA REAÇÃO COM UM COMPOSTO ANTIOXIDANTE (AOH).



FONTE: Adaptado de OLIVEIRA et al. (2014).

O ensaio FRAP, no entanto, é um método que baseia-se na capacidade dos antioxidantes em reduzir o complexo de íons férricos (Fe^{3+}) e TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) para o complexo ferroso (Fe^{2+}) (Figura 6). Esta redução ocorre em meio ácido, alterando a coloração da solução na presença de um antioxidante, de amarelo para azul intenso, analisado por meio de um espectrofotômetro (BENZIE; STRAIN, 1996).

FIGURA 6 - REDUÇÃO DO COMPLEXO Fe^{3+} - TPTZ EM COMPLEXO Fe^{2+} - TPTZ, ATRAVÉS DA AÇÃO DE ANTIOXIDANTE.



FONTE: Adaptado de SHALABY; SHANAB (2013).

Essas análises de atividade antioxidante tem uma grande importância no meio científico, já que, pesquisas vêm sendo realizadas para tentar explicar os benefícios dos antioxidantes na prevenção de doenças cardiovasculares, em diversos tipos de câncer, e inclusive em doenças diretamente associados com o processo de envelhecimento, como de cataratas, doença de Alzheimer e outras alterações do sistema nervoso (CAI et al., 2004; NETZEL et al., 2007; JAYAPRAKASHA et al., 2007).

1.3.2 Compostos fenólicos

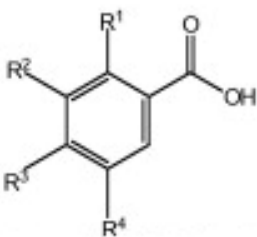
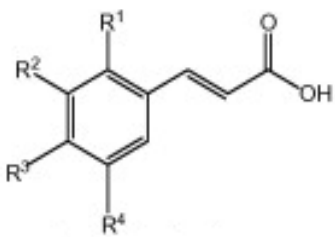
Os compostos fenólicos estão distribuídos no reino vegetal, originados do metabolismo secundário das plantas em situações de defesa, sendo fundamentais para seu crescimento e reprodução (LIU, 2007). São caracterizados por possuírem pelo menos um anel aromático com um ou mais grupamento hidroxila. Atualmente, mais de 8000 estruturas são encontradas na natureza, variando de moléculas simples a altamente polimerizadas (DAI, J.; MUMPER, 2010). Tais compostos são sintetizados durante o desenvolvimento normal da planta, bem como em resposta a diferentes situações, como estresse, infecções, ferimentos, radiações ultravioleta, dentre outros (NACZK; SHAHIDI, 2004).

De modo geral, os compostos fenólicos são considerados multifuncionais, podendo agir de várias maneiras: combatendo os radicais livres, pela doação de um átomo de hidrogênio ou elétron da sua estrutura; quelando metais de transição, como Fe^{2+} e o Cu^+ ; interrompendo a reação de propagação dos radicais livres na oxidação lipídica; modificando o potencial redox do meio; e, reparando a lesão de moléculas atacadas por radicais livres (BALASUNDRAM et al., 2006; PODSEDEK, 2007; KYUNGMI; EBELER, 2008).

De acordo com Podsedek (2007), os compostos fenólicos são classificados em classes, dependendo de sua estrutura; e subclassificados dentro de cada classe, de acordo com o número e a posição do grupo hidroxila e a presença de outros substituintes. Dentre as classes, os mais comumente encontrados em frutas são os ácidos fenólicos e os flavonoides.

Os ácidos fenólicos compõem cerca de um terço dos compostos fenólicos, que podem estar presentes nas plantas em forma livre e ligada (ROBBINS, 2003). Trata-se de uma classe de compostos que possui pelo menos um anel aromático, em que pelo menos um hidrogênio é substituído por um grupo hidroxila (HELENO et al., 2015). São divididos em dois grupos principais, os ácidos hidroxibenzoicos e os ácidos hidroxicinâmicos (Tabela 2). O primeiro, é composto por ácidos que possuem sete átomos de carbono (C₆-C₁), como gálico, vanílico, elágico e siríngico - comumente encontrados em frutas. O segundo, são compostos aromáticos com uma cadeia lateral de três carbonos (C₆ -C₃), como ácidos caféico, ferúlico, *p*-cumárico e sinápico (BRAVO, 1998; BALASUNDRAM et al., 2006; IGNAT et al., 2011).

TABELA 2 - DERIVADOS DO ÁCIDO BENZOICO E ÁCIDO CINÂMICO.

	Derivados do ácido benzoico	Derivados do ácido cinâmico
Substituição		
R ¹ = OH	-	Ácido o-cumárico
R ³ = OH	Ácido p-hidroxibenzoico	Ácido p-cumárico
R ³ = R ⁴ = OH	Ácido protocatecuico	Ácido caféico
R ² = OCH ₃ , R ³ = OH	Ácido vanílico	Ácido ferúlico
R ² = R ³ = OCH ₃	Ácido verátrico	-
R ² = R ³ = R ⁴ = OH	Ácido gálico	-
R ¹ = R ⁴ = OH	Ácido gentísico	-
R ² = R ⁴ = OCH ₃ ; R ³ = OH	Ácido siríngico	Ácido sinápico
R ¹ = OH; R ⁴ = HSO ₃	Ácido 5-sulfosalicílico	-
R ² = R ³ = OH	-	Ácido 3,4 ou 5- cafeoilquínico*

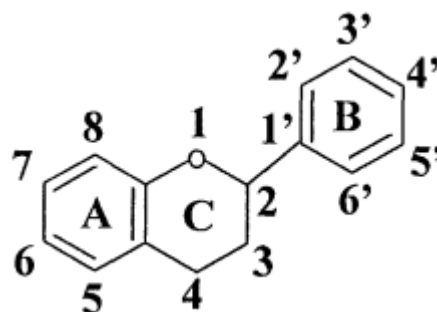
FONTE: HELENO et al. (2015).

NOTA: *O grupo carboxílico é esterificado com ácido quínico.

Os flavonoides são um grupo formado por compostos de baixo peso molecular, consistindo de quinze átomos de carbono, organizados em uma

configuração $C_6-C_3-C_6$ (STALIKAS 2007). Basicamente, a estrutura possui dois anéis aromáticos A e B, unidos por uma ligação de três carbonos, geralmente na forma de um anel heterocíclico, C (Figura 7). O anel aromático A é proveniente da via acetato/malonato, enquanto o anel B é derivado da fenilalanina pela via do chiquimato (MERKEN; BEECHER, 2000).

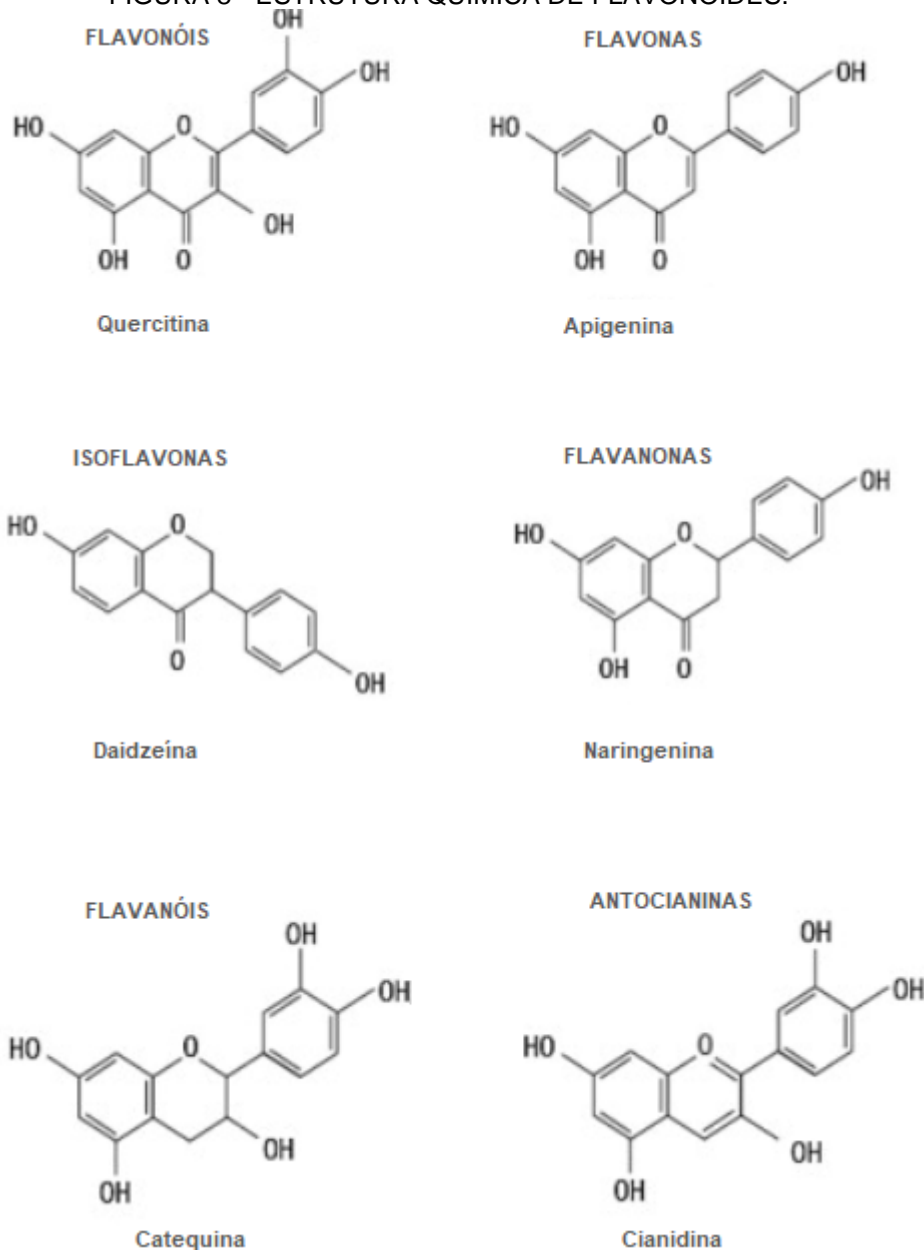
FIGURA 7 - ESTRUTURA QUÍMICA BÁSICA ($C_6-C_3-C_6$) DOS FLAVONOIDES. (A) ANEL A; (B) ANEL B E (C) ANEL C DA ESTRUTURA DA MOLÉCULA.



FONTE: Adaptado de COOK; SAMMAN (1996).

A classificação das classes dos flavonoides depende das variações nos padrões de substituição para o anel C; isto é, flavonas, isoflavonas, flavanonas, flavonóis, flavanóis e antocianinas (Figura 8) (HOLLMAN; KATAN, 1999). Há, também, substituições aos anéis A e B que dão origem a outros compostos dentro de cada classe de flavonoides. Estas substituições podem abranger oxigenação, glicosilação, alquilação, sulfatação e acilação (HOLLMAN; KATAN, 1999; PIETTA, 2000).

FIGURA 8 - ESTRUTURA QUÍMICA DE FLAVONOIDES.



FONTE: Adaptado de IGNAT et al. (2011).

As polpas de frutas contêm vários ácidos fenólicos e flavonoides, tais como: quercetina, rutina, campferol, ácidos fenólicos, ácido gálico, ácido clorogénico, luteolina, ácido elágico e ácido protocatecuico (FU et al., 2011). De acordo com Nogata (2006), as frutas cítricas contêm uma ampla gama de constituintes flavonoides que estão englobados nas subclasses das flavanonas, flavonas e flavonoides. Já o estudo realizado por Li et al. (2013), em 62 polpas de frutas, detectou-se a presença de compostos como: ácido gálico, ácido

clorogênico, rutina, cianidina, ácido homogentísico, catequina, ácido protocatecuico e ácido ferúlico.

1.3.3 Compostos bioativos em polpas de frutas

A composição fenólica dos frutos é determinada por fatores genéticos e ambientais, mas pode ser modificada por reações oxidativas durante o processamento e armazenamento (ROBARDS et al., 1999). Devido ao grande potencial desses compostos presentes em polpas de frutas, estudos vêm sendo realizados (conforme Tabela 3) para quantificar e comparar esses compostos bioativos presentes nas polpas de frutas (SILVA et al., 2014a).

TABELA 3 - ESTUDOS DE COMPOSTOS BIOATIVOS EM POLPAS DE FRUTAS.

Autor/ Ano	Amostra	Objetivo	Conclusões
Paz et al./ 2015	Polpa de açaí, acerola, cajá, goiaba, graviola, manga, abacaxi e tamarindo.	Caracterizar as polpas em termos de suas propriedades antioxidantes. Foram realizados testes de DPPH, FRAP, compostos fenólicos totais (CFT) e flavonoides totais (FT).	As polpas de acerola e açaí apresentaram os maiores valores para CFT, FT e atividade antioxidante.
Silva et al./ 2014 ^a	Polpa de abacaxi, acerola, cajá, caju, goiaba, graviola, mamão, manga, maracujá, pitanga, sapoti e tamarindo.	Quantificar e comparar os principais compostos bioativos encontrados nas polpas. Foram realizados testes de compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e antocianinas.	A polpa da acerola foi a que apresentou melhor resultado nas 3 análises realizadas.
Martínez et al./ 2012	Polpa de manga, abacaxi, goiaba e maracujá.	Quantificar os compostos fenólicos totais encontrados nas polpas com dois diferentes solventes. Também foram realizados testes antioxidantes, através dos métodos de ABTS, DPPH e FRAP.	A polpa de manga extraída com o solvente metanol/acetona foi o que apresentou maior quantidade de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante.
Almeida et al./ 2011	Polpa de abacaxi, graviola, <i>fruta do conde</i> , jaca, murici, <i>mamão</i> , mangaba, sapoti, seriguela, umbu e tamarindo.	Caracterizar a atividade antioxidante através do método de DPPH e ABTS, como também a sua correlação com os compostos fenólicos totais e antocianinas.	As polpas mangaba e murici, foram os que apresentaram maior potencial antioxidante. O conteúdo dos compostos fenólicos totais mostrou correlação positiva com a capacidade antioxidante, já as antocianinas não obteve essa correlação.
Rufino et al./ 2010	Polpa de açaí, acerola, bacuri, cajá, caju, camu-camu, carnaúba, gurguri, jabuticaba, jambolão, juçara, mangaba, murici, murta, puçá, umbu e uvaia.	Caracterizar a capacidade antioxidante, através dos métodos de ABTS, DPPH e FRAP. Juntamente com uma quantificação dos principais compostos bioativos.	As polpas de acerola e camu-camu foram os que apresentaram maior quantidade de compostos fenólicos e atividade antioxidante.

1.3.4 Atividade Antimicrobiana dos compostos bioativos

Os compostos fenólicos presentes em frutas e vegetais, vêm atraindo grande atenção devido aos seus potenciais terapêuticos (FATTOUCH et al., 2007). Geralmente, as propriedades terapêuticas desses compostos demonstraram efeitos antimicrobianos, causando danos estruturais ou funcionais à membrana celular bacteriana (SARAVANAN; PARIMELAZHAGAN, 2014). A eficácia dos compostos fenólicos como agentes antimicrobianos depende da quantidade e estrutura dos compostos (GARCÍA-RUIZ et al., 2007).

Os compostos fenólicos possuem um grupo hidroxila (OH), que ocasiona a ação inibitória através da ruptura da membrana celular da bactéria, com perda de componentes celulares (XUE et al., 2013). A hidroxila propicia o deslocamento de elétrons, que então agem como permutadores de prótons, reduzindo o gradiente através da membrana citoplasmática das células bacterianas. Isto irá acarretar colapso da força motriz do próton e esgotamento da reserva de ATP, ocasionando a morte celular (ULTEE et al., 2002).

Apesar do desenvolvimento de inúmeras drogas antimicrobianas, a resistência a múltiplas drogas por microrganismos patogênicos tem aumentado nos últimos anos (SAAVEDRA, et al., 2010; ALVES et al., 2013). Devido a este fato, a utilização dos compostos fenólicos visando seus efeitos antimicrobianos, vem sendo cada vez mais requisitada para a eliminação desses microrganismos patogênicos (AYALA-ZAVALA et al., 2011; DAGLIA, 2012; MOSTAFA et al., 2018).

Diferentes matrizes de frutas vêm sendo analisadas com relação a suas propriedades terapêuticas, segurança e eficácia. Medina et al. (2011), observaram que os extratos de araçá amarelo e vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) apresentavam efeito inibitório ao crescimento da bactéria *Salmonella enteritidis*. Agourram et al. (2013), estudaram os extratos de cascas de romã e maçã e detectaram o efeito antimicrobiano sobre a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* e *Yersinia enterocolitica*. Oliveira et al. (2017) avaliaram o efeito antimicrobiano de extratos fenólicos da fruta buriti (*Mauritia flexuosa*) e observaram efeito antibacteriano

sobre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*.

A utilização de extratos de fontes vegetais também pode ser como aditivos antimicrobianos naturais para a conservação de alimentos (AYALA-ZAVALA et al., 2011). Kanatt et al. (2010), utilizaram o extrato da casca de romã para preservação da carne de frango. Os resultados demonstraram que a adição de 0,1% do extrato na carne de frango reduziu a contagem bacteriana total, coliformes e *S. aureus* e aumentou a vida de prateleira em 2 a 3 semanas durante o armazenamento. O extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*), estudado por Burris et al. (2015), inibiu o crescimento de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina em carne bovina. As concentrações dos extratos variaram de 2 a 32 mg/mL nas carnes bovina moídas, dependendo do nível de gordura.

A atividade antimicrobiana em extratos vegetais pode ser avaliada através de testes de susceptibilidade antimicrobiana (DAS et al., 2010). Existem vários tipos de métodos laboratoriais que podem ser utilizados para determinar a atividade antimicrobiana *in vitro* de um extrato. Um dos métodos mais conhecidos é o método de diluição em ágar ou em caldo (BALOUIRI et al., 2016).

A diluição (macrodiluição ou microdiluição) em caldo é um dos métodos mais básicos de teste de susceptibilidade antimicrobiana, e o mais adequado para a determinação da concentração mínima inibitória (CMI) das amostras (BALOUIRI et al., 2016). A CMI é a menor concentração do agente antimicrobiano capaz de inibir totalmente o crescimento do microrganismo em tubos ou poços de microplacas, podendo ser analisados a olho nu (CLSI, 2012).

O método de macrodiluição em caldo realizado em tubos de ensaio, considera a relação entre a proporção de crescimento do microrganismo no meio líquido e a concentração do agente antimicrobiano analisado. A avaliação é comparada frente a um padrão biológico de referência. E compreende-se por proporção a densidade da turbidez provocada pelo crescimento microbiano (Pinto et al., 2003).

O princípio básico do ensaio de microdiluição é o mesmo que o ensaio de macrodiluição em caldo. Mas o teste é realizado em poços de microplacas. As principais vantagens deste método com relação ao método de macrodiluição é a reprodutibilidade, a economia de reagentes e a minimização do espaço necessário para a realização das análises (BALOUIRI et al., 2016).

1.3.5 Bioacessibilidade de compostos bioativos

Estudos *in vitro* têm confirmado que os compostos bioativos presentes nas frutas, possuem considerável importância devido às suas diversas atividades biológicas, entre as quais se destaca a atividade antioxidante (HAMINIUK et al., 2011; MOO-HUCHIN et al., 2014; PARK et al., 2015; SCHIASSI et al., 2018). No entanto, as quantidades totais dessas moléculas presentes nas plantas devem estar disponíveis para serem absorvidas e metabolizadas pelo organismo (TAGLIAZUCCHI et al., 2010).

A bioacessibilidade pode ser definida como a fração de um composto que é liberada a partir de uma matriz alimentar, no trato gastrointestinal, e assim, torna-se disponível para absorção intestinal (HEANEY, 2001). Nesse sentido, a bioacessibilidade depende de vários parâmetros, incluindo a composição e a concentração inicial da substância na matriz alimentar, além das características físico-químicas dos fluidos gastrointestinais e a presença de enzimas digestivas (TAGLIAZUCCHI et al., 2010). Já o termo biodisponibilidade, pode ser definido como sendo a fração de nutriente ou composto ingerido que atinge a circulação sistêmica (WOOD, 2005).

A biodisponibilidade de compostos bioativos depende de diversos fatores, incluindo a liberação da matriz durante a digestão gastrointestinal (bioacessibilidade), adsorção celular, metabolismo e transporte pelo sistema circulatório (BOUAYED et al., 2012; BLANCAS-BENITEZ et al., 2015).

A digestão é um processo fisiológico que possibilita a extração de micronutrientes, macronutrientes e fitoquímicos, a partir de uma matriz alimentar, para a absorção subsequente (BOUAYED et al., 2012). O trato gastrointestinal pode ser considerado como um extrator, onde tanto a ação mecânica no processo de mastigação, como a ação química durante a fase digestiva promovem a extração de compostos bioativos de matrizes sólidas (TAGLIAZUCCHI et al., 2010). Portanto, para avaliar o efeito biológico dos compostos bioativos sobre a saúde humana é imprescindível avaliar não somente os níveis de ingestão, mas também a quantidade que apresenta biodisponibilidade (GIÃO et al., 2011). Somente os compostos bioativos que são solubilizados a partir da matriz alimentar e que não são destruídos durante o

processo de digestão gastrointestinal são verdadeiramente bioacessíveis e, consecutivamente, biodisponíveis (TAGLIAZUCCHI et al., 2010).

A melhor forma de determinar os benefícios decorrentes da ingestão de alimentos, e sua biodisponibilidade, consiste em submeter o produto à digestão gastrointestinal *in vivo*. No entanto, estudos *in vivo* são caros, demorados e complicados, especialmente em amostras humanas. Além disso, envolvem implicações médicas e éticas (BRIONES-LABARCA et al., 2011). Devido a essas limitações, estudos científicos abordam positivamente a alternativa ao emprego de métodos *in vitro* para reproduzir com exatidão as condições bioquímicas de diferentes fases envolvidas na digestão gastrointestinal (DURING; HARRISON, 2005). A simulação da digestão *in vitro* apresenta vantagens adicionais em comparação com os métodos *in vivo*, uma vez que são rápidos, seguros e não possuem restrições éticas (BRIONES-LABARCA et al., 2011). O método simula o processo de digestão (para bioacessibilidade) ou os processos de digestão e absorção (para biodisponibilidade), e a resposta obtida é a concentração de um nutriente em um determinado tipo de extrato (PARADA; AGUILERA, 2007). Portanto, a avaliação das alterações nas estruturas dos antioxidantes presentes na matriz alimentar, ao longo da digestão gastrointestinal, por meio de uma simulação *in vitro*, pode ser considerado uma abordagem válida para estudos de matrizes diversas.

1.4 REOLOGIA

A reologia é a ciência que estuda o comportamento mecânico e de deformação da matéria devido à ação de tensões, através de determinadas condições termodinâmicas ao longo de um intervalo de tempo (BRODKEY, 1967; TOLEDO, 1991). Para a reologia, a propriedade de importância no caso de uma matéria sólida, é a elasticidade, já para a matéria líquida, é a viscosidade. Quando a matéria se encontra no seu estado sólido ocorre a deformação, enquanto que no estado líquido, ocorre o escoamento. No caso dos materiais que não podem ser distinguidos em sólidos e líquidos, a

propriedade reológica de importância é a viscoelasticidade (SHAW, 1975; PASQUEL, 1999; RAO, 1999).

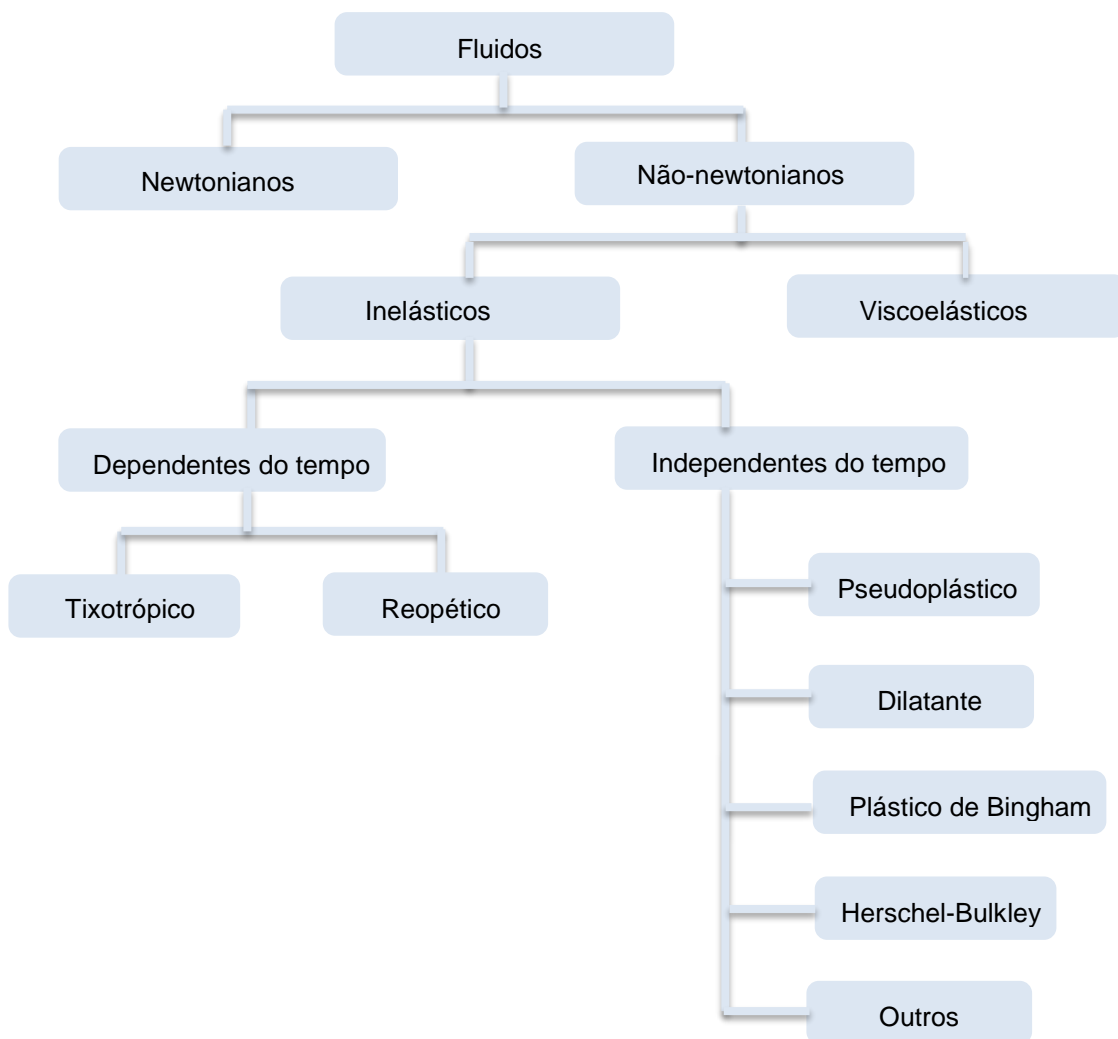
Para a área de alimentos, a reologia é de extrema importância para cálculos em processos de engenharia, tais como cálculo de vazões, escolha de bombas, cálculos de perda de carga em tubulações, bem como em operações unitárias, como evaporação e esterilização, e no controle de qualidade, a partir da correlação com a avaliação sensorial, testes de tempo de prateleira, entre outros (HOLDSWORTH, 1993; SHARMA et al., 2000; TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005). Com relação aos derivados de frutas, o comportamento reológico é importante como medida de qualidade, além de ser indispensável em projetos, avaliação e operação dos equipamentos; além de ser essencial para economia de energia (HAMINIUK, 2005).

As características reológicas são consideradas como uma ferramenta analítica, possibilitando melhor percepção da organização estrutural dos alimentos. No caso de polpas de frutas, vários fatores afetam o comportamento reológico, destacando-se a temperatura (HOLDSWORTH, 1971; VITALI; RAO, 1984), sólidos solúveis (RAO, 1977; ILICALI, 1985; HERNANDEZ et al., 1995) e o tamanho das partículas (TANGLERTPAIBUL; RAO, 1987; AHMED et al., 2000).

1.4.1 Características reológicas

Na reologia, os fluidos são classificados conforme o seu comportamento reológico, por meio do estudo da relação entre a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento e para condições de temperatura. Eles são divididos em duas classes: newtonianos e não-newtonianos (Figura 9) (STEFFE, 1996; BHATTACHARYA, 1997).

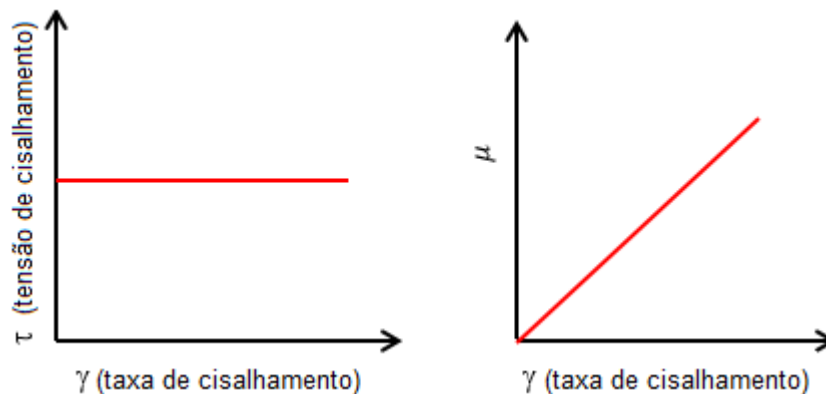
FIGURA 9 - CLASSIFICAÇÃO DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DOS FLUIDOS.



FONTE: Adaptado de STEFFE (1996).

Os fluidos newtonianos são aqueles em que a tensão de cisalhamento (τ) é linearmente proporcional à taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) (Figura 10 A); ou seja, a viscosidade (μ) preserva-se constante com a variação na taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) (Figura 10B), dependendo apenas da temperatura e da composição (RAO; RIZVI, 1986; SARAVACOS; MAROULIS, 2001).

FIGURA 10 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DE FLUIDOS NEWTONIANOS.



FONTE: Adaptado de Brookfield engineering laboratories (1994).

A relação dos fluidos newtonianos foi criada por Newton em 1687, e é representada pela Equação 1 (BIRD et al., 1960):

$$\tau = \mu \cdot \gamma \quad (\text{Equação 1})$$

em que:

τ = tensão de cisalhamento (Pa),

γ = taxa de cisalhamento (s^{-1}),

μ = viscosidade (Pa .s).

O comportamento newtoniano é notado em vários produtos, tais como sucos de frutas clarificados e despectinizados (LIRA, 2001); leite, suco de maçã, suco de laranja, vinho e cerveja (SHARMA et al., 2000); e água (VIEIRA, 1971).

Os fluidos não-newtonianos são caracterizados por apresentarem comportamento mais complexo, onde a relação entre a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento não é linear; ou seja, a viscosidade de um fluido não-newtoniano não é constante em uma determinada temperatura e pressão, mas depende da taxa de cisalhamento (TATTERSALL; BANFIL, 1983; TANNER, 1988).

Dentro da classe dos fluidos não-newtonianos, existe a classificação de fluidos que podem ser independentes ou dependentes do tempo. A viscosidade neste comportamento, mesmo estando em temperaturas fixas, não é uma constante, sendo denominada viscosidade aparente (μ_{ap}) (RAO, 1999). De forma que, qualquer fluido não-newtoniano pode ser descrito pela Equação 2:

$$\mu_{ap} = \frac{\tau}{\gamma} \quad (\text{Equação 2})$$

onde:

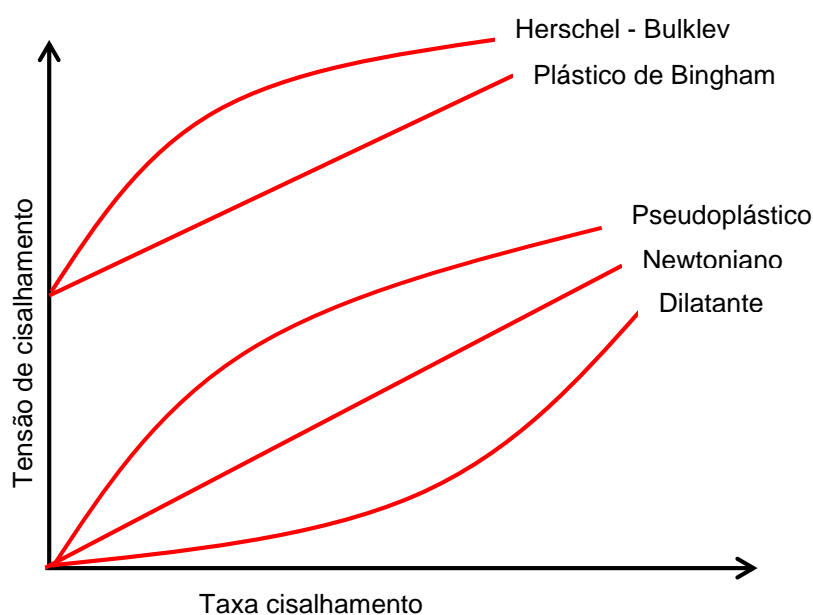
μ_{ap} = viscosidade aparente (Pa.s);

τ = tensão de cisalhamento (N/m² = Pa);

γ = taxa de cisalhamento (s⁻¹).

Os fluidos não-newtonianos independentes do tempo, em temperatura e composição constantes, a viscosidade aparente depende da taxa de cisalhamento ou da tensão de cisalhamento (Figura 11) (RAO; RIZVI, 1986; CASTRO et al., 2001).

FIGURA 11 - CURVAS DE ESCOAMENTOS DOS FLUIDOS.



FONTE: Adaptado de SHARMA et al. (2000).

Os fluidos pseudoplásticos apresentam uma diminuição na viscosidade com o aumento da tensão de cisalhamento (MCCLEMENTS, 2006), mostrando que a taxa de cisalhamento *versus* a tensão de cisalhamento gera uma linha convexa (SHARMA et al., 2000). Neste tipo de fluido, quando há uma aplicação de uma taxa de cisalhamento crescente, ocorre aumento mais que proporcional na tensão de cisalhamento, sendo que a curva começa na origem (BOURNE, 2002). Alguns exemplos de fluidos pseudoplásticos são: sucos de frutas concentrados, purê de maçã, pasta de amido e proteínas (RAO, 1999).

Os fluidos dilatantes possuem o comportamento inverso aos fluidos pseudoplásticos; ou seja, a viscosidade do fluido aumenta à medida que aumenta a taxa de cisalhamento (HOLDSWORTH, 1971). O comportamento dilatante é encontrado em fluidos que possuem alta quantidade de partículas rígidas insolúveis em suspensão (BOURNE, 1982). Alguns tipos de mel e suspensões de amido fazem parte dessa categoria (SHARMA et al., 2000; STEFFE, 1996).

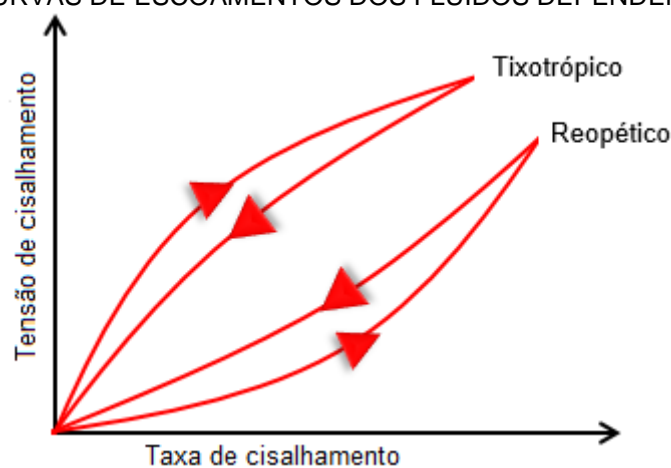
Plásticos de Bingham são fluidos representados pela existência de uma tensão de cisalhamento inicial, diferente de zero, antes de o fluido sofrer uma deformação ou escoamento. O fluido se deformará elasticamente; ou seja, apresenta comportamento de um corpo sólido ou se mantêm em repouso, quando a tensão externa utilizada é menor que a tensão de cisalhamento inicial. Quando a tensão externa ultrapassar o valor de 0, a curva da tensão de cisalhamento (τ) em função da taxa de cisalhamento (γ) do fluido pode ser linear ou não linear, mas não passará pela origem do gráfico. Para níveis de cisalhamento maiores que τ_0 , a substância comporta-se como um material viscoso (URBICAIN; LOZANO, 1997; BARNES, 1999; MCCLEMENTS, 2006).

Um fluido, no qual o gráfico da tensão de cisalhamento (τ) *versus* a taxa de cisalhamento (γ) é uma curva linear, em que $|\tau| > |\tau_0|$, é chamado de fluido plástico de Bingham, sendo determinado por uma constante de viscosidade plástica (tangente ao gráfico) e pela τ_0 . Já os fluidos que possuem τ_0 e uma curva não linear no gráfico de tensão de cisalhamento (τ) *versus* taxa de cisalhamento (γ) em coordenadas lineares, para $|\tau| > |\tau_0|$, são chamados de Herschel- Bulkey ou plástico real. (RAO, 1999). Alguns exemplos de fluidos na

indústria de alimentos que apresentam o comportamento de Plástico de Bingham são: molhos de tomate, maionese, clara de ovo batida e margarina (BOURNE, 1982).

Os fluidos não-newtonianos dependentes do tempo, possuem um comportamento chamado de histerese, no qual a viscosidade dos sistemas sujeitos a uma força por um intervalo de tempo não é a mesma, quando medida no mesmo tempo, depois de cessada a ação da força (Figura 12) (BOBBIO; BOBBIO, 1983).

FIGURA 12 - CURVAS DE ESCOAMENTOS DOS FLUIDOS DEPENDENTES DO TEMPO.



FONTE: Adaptado de SHARMA et al. (2000).

Os fluidos reopéticos são aqueles onde obtêm um aumento da viscosidade aparente com o tempo de cisalhamento. Esses fluidos tendem a retornar ao seu comportamento reológico inicial. Os fluidos reopéticos são casos muito complexos e raros, não sendo muito frequentes na área de alimentos. O comportamento desses fluidos, normalmente, não é utilizado nos cálculos de engenharia, devido à complexidade do fenômeno (AWUAH et al. 1993; CHOI; YOO, 2004). Apesar deste tipo de comportamento não ser comum em alimentos, existem exceções, como nas soluções de amido altamente concentradas (SHARMA et al., 2000).

Um fluido tixotrópico possui característica de diminuição da viscosidade aparente com o tempo, quando o fluido é submetido a uma taxa de cisalhamento constante. Quando o fluido fica em repouso, retorna à condição original, como

nos fluidos reopéticos. Fluidos tixotrópicos são conhecidos por possuir pequenas partículas (cristais ou biopolímeros), que são mantidos juntos por forças fracas. O cisalhamento do fluido separa as partículas aglomeradas e, neste caso, ocorre uma menor resistência ao escoamento e a viscosidade decresce com o tempo até um valor constante ser obtido (MCCLEMENTS, 2006). Exemplos desse tipo de fluido são: suco concentrado de maracujá (VITALI et al., 1974), leite condensado açucarado, clara de ovo, maionese (RAO, 1977), gelatinas, cremes, manteigas, molhos para saladas, entre outros (SHARMA et al., 2000).

Alguns materiais não são líquidos ou sólidos puros, pois possuem propriedades reológicas que são parcialmente viscosas e parcialmente elásticas, conhecidos como materiais viscoelásticos (MCCLEMENTS, 2006). Como exemplo na área de alimentos pode-se citar o creme de amendoim e manteiga (DICKIE; KOKINI, 1982).

1.4.2 Reologia em polpas de frutas

O conhecimento do comportamento reológico ocupa posição de grande destaque, sendo útil não só como medida de qualidade, mas também em projetos, avaliação e operação dos equipamentos (IBARZ et al., 1996). Sendo assim, existem vários estudos com objetivo de pesquisar a reologia das polpas de frutas, como apresentado na Tabela 4.

TABELA 4 - ESTUDOS REOLÓGICOS REALIZADOS COM POLPAS DE FRUTAS.

Autor/ Ano	Amostra	Objetivo	Conclusões
Pereira et al./ 2014	Polpa de acerola	Estudou o comportamento reológico da polpa, em concentrações de 5,5, 7,5, 9,5, 11,5 e 13,5 ° Brix e temperaturas de 20, 30, 40, 50 e 60 °C.	O modelo Herschel-Bulkley proporcionou os melhores ajustes estatísticos.
Augusto et al./ 2012	Polpa de seringueira	Avaliou os estados de equilíbrio dinâmico e propriedades reológicas de cisalhamento da seringueira em função da temperatura.	A polpa mostrou um comportamento de gel fraco, sendo que o modelo de Herschel-Bulkley foi quem descreveu melhor o comportamento de fluxo do produto.
Tonon et al./ 2009	Polpa de açaí	Estudou o comportamento reológico da polpa de açaí em diferentes temperaturas (10, 25, 40, 55 e 70 ° C) sob condições de cisalhamento estacionário e dinâmico.	A polpa de açaí apresentou um comportamento pseudoplástico com tensão inicial nas medições de cisalhamento estacionário. Os dados foram melhor ajustados ao modelo de Herschel-Bulkley em todas as temperaturas.
Sato;Cunha/ 2009	Polpa de jabuticaba	Avaliou a influência da suspensão de partículas / fibras de tamanho em parâmetros reológicos da polpa.	O aumento de tamanho de partícula promoveu aumento de tixotropia, viscosidade, pseudoplasticidade e limite de elasticidade da polpa. A maioria das amostras apresentaram uma boa correlação com o modelo de Herschel-Bulkley.
Haminiuk et al./ 2007	Polpa de amora, morango e framboesa	Estudou o comportamento reológico de misturas ternárias em cisalhamento constante sendo utilizado a metodologia de superfície de resposta para análise de dados.	As respostas reológicas foram influenciadas pela diferença de proporções e também pelas temperaturas (20 e 60 °C). As curvas de escoamento foram adequadamente descrita pelo modelo de Herschel-Bulkley.
Haminiuk et al./ 2006	Araçá	Avaliou o comportamento reológico da polpa em diferentes temperaturas de 10-60 °C.	O comportamento reológico da polpa de araçá entre as temperaturas de 10-60 ° C foi descrito corretamente pelo modelo de lei de potência.

1.5 QUIMIOMETRIA

A quimiometria é um campo da química, onde se utiliza métodos matemáticos e estatísticos para planejar e/ou selecionar dados de forma otimizada, tendo como objetivo a extração da maior quantidade de informações e melhores resultados analíticos (FERREIRA et al., 1999; VALDERRAMA, 2005). Entre as técnicas multivariadas podem ser citados: o método de componentes comuns e análise de pesos específicos (CCSWA) ou Comdim e a análise hierárquica de agrupamentos (HCA). Nestas análises e/ou em outras de método multivariado, primeiramente há uma coleta dos dados que podem ser obtidos através de diversas técnicas analíticas, tal como aceitação sensorial, compostos fenólicos, propriedades reológicas, conteúdo de vitaminas, carotenoides, minerais essenciais, espectros, entre outros. Em seguida, é realizada a organização dos resultados experimentais, onde a matriz deve ser definida e estruturada antes do uso do software (ZIELINSKI et al., 2014a).

Inicialmente, o método chamado de componentes comuns e análise de pesos específicos (CCSWA), é agora usualmente referido como ComDim (para 'Dimensões Comuns'). CCSWA é um método multibloco não supervisionado, e foi utilizado pela primeira vez a fim de resolver um problema relativo à análise sensorial (QANNARI et al., 2000). Mais recentemente, a análise tem sido utilizada para combinar vários métodos analíticos na área de alimentos (FERREIRA et al., 2017; RAMPAZZO et al., 2018). O método CCSWA foi desenvolvido para considerar simultaneamente várias tabelas de pares de linhas, para determinar sequencialmente os componentes comuns a todas as tabelas e a contribuição de cada uma das tabelas para cada um desses componentes (CLAEYS-BRUNO et al., 2016).

A ideia principal do CCSWA é calcular iterativamente, para cada dimensão comum sucessiva, uma série de vetores de pontuação (coordenadas das n amostras ao longo da direção definida por essa dimensão comum). Cada bloco tem um peso específico, chamado de saliência, associado a cada dimensão do espaço comum. Diferenças significativas nos valores dos pesos específicos para uma determinada dimensão refletem o fato de que a dimensão contém informações que estavam presentes em alguns blocos, mas não em outros (BOUVERESSE et al., 2011).

O método da análise hierárquica de agrupamentos (HCA) é outro método de caráter não supervisionado, e tem como objetivo apresentar os dados de modo a ressaltar seus *clusters* (agrupamentos) e padrões naturais em um espaço bidimensional. Os resultados, de natureza qualitativa, são na maioria das vezes apresentados como um dendrograma, permitindo a visualização de agrupamentos e correlações entre amostras ou variáveis. No HCA, as distâncias euclidianas entre amostras ou variáveis são calculadas e transformadas em uma matriz de similaridade, cujos elementos são índices de similaridade que variam de 0 a 1; uma distância menor significa um índice maior e, portanto, uma semelhança maior (GRANATO et al., 2010).

A utilização dessas ou outras ferramentas quimiométricas para caracterização, determinação de origem, autenticação, adulteração e controle de qualidade em alimentos tem sido cada vez mais utilizadas na ciência dos alimentos (Zielinski et al., 2014b). Há vários trabalhos utilizando técnicas de estatística multivariada, com o intuito de explorar e classificar os compostos bioativos e a atividade antioxidante em frutas (ÇAM et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2011; MELÉNDEZ et al., 2013; DORTA et al., 2014).

**CAPÍTULO 2: ESTUDO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DE 44 POLPAS DE
FRUTAS BRASILEIRAS NATIVAS E EXÓTICAS: COMPOSTOS FENÓLICOS
E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

RESUMO

Compostos bioativos de quarenta e quatro polpas de frutas congeladas foram avaliadas em relação aos compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT), conteúdo de antocianinas monoméricas (MAC) e atividade antioxidante, utilizando ensaios da atividade sequestrante do radical livre por DPPH[•] e ABTS^{•+}. Os compostos fenólicos individuais foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-DAD). A análise de componentes comuns e pesos específicos (CCSWA) foi aplicada para avaliar as amostras de acordo com as características relevantes, definindo a influência das análises de cromatografia e espectrofotometria sobre a composição. As polpas de frutas que apresentaram maiores concentrações de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante foram panã (*Annona crassiflora*), acerola (*Malpighia emarginata*), açai (*Euterpe oleracea*) e jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*). A CCSWA confirmou a relação direta entre CFT e o potencial antioxidante, sendo estas variáveis as mais influentes na classificação das amostras na componente comum 1 (CC1). A variância na componente comum 2 (CC2) foi explicada em função do flavonoide em maior quantidade nas polpas de frutas, a catequina. O método aplicou-se bem a este estudo, obtendo-se uma correlação entre duas componentes comuns, capaz de explicar quase 100% da variância entre os dados. Este método estatístico é ideal para analisar rapidamente uma grande quantidade de dados, como obtidos nesta pesquisa, o que facilita as rotinas de análises industriais.

Palavras-chave: Fenólicos totais, ABTS, DPPH, polpas de frutas, CCSWA; análises multi-bloco.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma grande variedade de espécies frutíferas nativas e exóticas sub-exploradas de grande potencial e interesse para a agroindústria, de maneira que o consumo dessas frutas não é mais exclusivamente um resultado de gosto e/ou preferência pessoal, mas se tornou uma preocupação com a saúde devido

ao reconhecimento do valor nutritivo e terapêutico dos frutos (SILVA et al., 2014a). No entanto, existem várias frutas nativas e exóticas que não foram ainda estudadas com relação aos seus compostos bioativos, como também o seu potencial antioxidante.

Em razão desse reconhecimento, as indústrias estão transformando as frutas *in natura* em polpas comercializadas em forma congelada, que podem ser utilizadas como matéria-prima para a elaboração de outros produtos, além de proporcionarem praticidade para o consumidor, e evitar a sazonalidade das frutas (SEBASTIANY et al., 2010).

As polpas de frutas são uma fonte de compostos antioxidantes, tais como fenólicos, vitaminas, flavonoides, que podem proteger constituintes celulares contra o dano oxidativo e, portanto, limitar o risco de várias doenças degenerativas associadas ao estresse oxidativo. Estudos experimentais apoiam fortemente o papel de compostos fenólicos na prevenção de doenças cardiovasculares, câncer, osteoporose, diabetes mellitus e doença neurodegenerativa (ALMEIDA et al., 2011).

Entre os antioxidantes, os compostos fenólicos são os que recebem maior atenção, onde pesquisas têm demonstrado que fontes naturais de compostos fenólicos possuem maior efeito, quando comparados aos antioxidantes sintéticos (BURSAL et al., 2013).

Estudos que envolvem espécies frutíferas, como composição dos compostos bioativos, caracterização e avaliação de suas propriedades funcionais, vêm sendo realizados a fim de garantir a sua apreciação efetiva no agronegócio, gerando matéria-prima de qualidade para as indústrias de alimentos, farmacêuticas e cosméticas (BERTO et al., 2015).

A utilização de ferramentas quimiométricas, para a caracterização, determinação de origem, autenticação e adulteração, e controle de qualidade de produtos alimentares têm sido cada vez mais empregadas na ciência dos alimentos (ZIELINSKI et al., 2014b). Assim, há muitas aplicações de técnicas de estatística multivariada com a finalidade de explorar e classificar a bioatividade e funcionalidade de frutas (MELÉNDEZ et al., 2013; DORTA et al., 2014).

A análise de componentes comuns e pesos específicos (CCSWA), foi desenvolvida por Qannari et al. (2000), utilizada no tratamento de dados de testes sensoriais. Este trabalho é um dos primeiros estudos a utilizar a CCSWA como método de classificação de compostos bioativos em frutas. A verificação da viabilidade do uso desta análise, nesta área, torna-se um precursor em pesquisas futuras, demonstrando

um novo método para classificação de compostos fenólicos e antioxidantes em polpas de frutas.

Neste contexto, este estudo teve por objetivo a avaliação dos compostos bioativos de 44 polpas de frutas utilizando testes colorimétricos *in vitro* e análise cromatográfica, fazendo-se uso da análise de componentes comuns e pesos específicos (CCSWA) como métodos estatísticos de classificação das amostras por meio das suas características mais relevantes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATÉRIA- PRIMA

Quarenta e quatro espécies de polpas de frutas foram utilizadas: abacaxi (*Ananas comosus*), açai (*Euterpe oleracea*), acerola (*Malpighia emarginata*), amora (*Rubus fruticosus*), araçá (*Psidium guineenses*), buriti (*Mauritia vinífera*), cacau (*Theobroma cacao*), cagaita (*Eugenia dysenterica*), cajá (*Spondias mombin*), caju (*Anacardium occidentale*), cambuci (*Paivaea Langsdorffii*), carambola (*Averrhoa carambola*), coco (*Cocos nucifera*), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), framboesa (*Rubus idaeus*), garcínia (*Garcinia sp.*), goiaba (*Psidium guajava*), graviola (*Annona muricata*), grumixama (*Eugenia brasiliensis*), kiwi (*Actinidia deliciosa*), jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), jaca (*Artocarpus heterophyllus*), jatobá (*Hymenaea courbaril*), laranja (*Citrus sinensis*), limão (*Citrus limon*), maçã (*Malus sp.*), mamão (*Carica papaya*), manga (*Mangifera indica*), maracujá (*Passiflora edulis*), melão (*Cucumis melo*), melancia (*Citrullus lanatus*), mirtilo (*Vaccinium myrtillum*), morango (*Fragaria sp.*), murici (*Byrsonima verbascifolia*), panã (*Annona crassiflora*), pêssego (*Prunus persica*), pitanga (*Eugenia uniflora*), pitomba (*Talisia esculenta*), seringueira (*Spondias purpúrea*), tamarindo (*Tamarindus indica*), tangerina (*Citrus reticulata*), umbu (*Spondias tuberosa*), uva (*Vitis sp.*) e uvaia (*Eugenia uvalha*).

As polpas foram adquiridas das empresas Polpa Norte da cidade de Campo Mourão - Paraná e Sítio do Bello de Paraibuna - São Paulo. Todas as polpas foram armazenadas em ultrafreezer a -80 °C, até o momento das análises.

2.2 PROCESSO DE EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS

A extração foi realizada na proporção 1:10 (m/v), onde 2 gramas de polpas foram transferidas para erlenmeyers e adicionados 20 mL de solução hidroetanólica 40%. Os erlenmeyers contendo as polpas e a solução, foram colocados em incubadora com agitação (Shaker SL 222 - Solab, Piracicaba, SP, Brasil) a 130 rpm, por 120 minutos à temperatura de 25 °C. Após a extração, as amostras foram centrifugadas a 5000 rpm durante 10 minutos. Os extratos sobrenadantes dos centrifugados foram armazenados em frascos âmbar sob refrigeração à temperatura de 5 °C, até o momento das análises.

2.3 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A quantificação dos compostos fenólicos totais nos extratos foi realizada segundo o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton e Rossi (1965), com algumas modificações. Em balões volumétricos de 10 mL, foram pipetados 7 mL de água ultrapura, 0,1 mL do extrato centrifugado das polpas e 0,5 mL de Folin – Ciocalteu. Após 3 minutos, foi adicionado 1,5 mL de carbonato de sódio 20% e por fim, foi completado o volume para 10 mL do balão volumétrico com água ultrapura. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (UV M51 - BEL Engineering, Monza, MB, Itália) a 765 nm. Foi utilizado ácido gálico como padrão, e os resultados foram expressos em massa fresca de equivalentes de ácido gálico em 100 gramas (mg EAG/ 100 g⁻¹ de polpa fresca), calculados por meio de uma curva de calibração de ácido gálico em concentrações que variaram de 0 a 500 mg L⁻¹.

2.4 QUANTIFICAÇÃO DOS FLAVONOIDES TOTAIS

A concentração de flavonóides totais foi determinado de acordo com a metodologia de Chang et al. (2002). Foi utilizado 250 µL de extrato centrifugado das

polpas e 1250 µL de água ultrapura. Posteriormente, foi acrescentado 75 µL NaNO₂ (5%) e depois de 6 minutos, foi adicionado 150 µL AlCl₃.6H₂O (10%). Após 5 minutos, foi acrescentado 0,5 mL de NaOH 1 M e 275 µL de água ultrapura para completar 2500 µL do volume. Logo após o preparo, foi realizada a leitura em espectrofotômetro (UV M51 - BEL Engineering, Monza, MB, Itália) a 510 nm. A catequina foi utilizada como padrão e a curva de calibração foi construída com a concentração de 0 a 65 mg/L. Todos os valores foram expressos como miligramas de equivalentes de catequina por 100 gramas de massa fresca (mg EC/ 100 g⁻¹ de polpas).

2.5 CONTEÚDO DE ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS (CAM)

A quantificação do conteúdo antocianinas monoméricas (CAM) foi determinada pelo método do pH diferencial de Giusti e Wrolsted (2001). Foi determinado o fator de diluição apropriado para cada tipo de amostra de modo que as respectivas absorvâncias ficassem compreendidas entre a faixa de linearidade do espectrofotômetro considerando 510 nm (cianidina-3-glicosídeo + sistema de extração). As diluições foram realizadas utilizando solução tampão cloreto de potássio pH 1,0 e tampão de acetato de sódio pH 4,5. Após a diluição os extratos foram repousados no mínimo por 15 minutos. Foi realizada, para cada amostra diluída, leitura a 510 nm e depois a 700 nm.

A absorvância A de 510 e 700 nm foi calculada pela seguinte equação (3):

$$A = (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH1,0} - (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH4,5} \quad (\text{Equação 3})$$

sendo, $A_{510nm\ pH1,0}$ e $A_{700nm\ pH1,0}$ as absorvâncias das amostras na diluição do pH 1,0 a 510 e 700 nm, respectivamente. Enquanto $A_{510nm\ pH4,5}$ e $A_{700nm\ pH4,5}$ são as absorvâncias das amostras na diluição do pH 4,5 para 510 e 700 nm.

A concentração da antocianina (MA) foi expressa em miligramas de cianidina-3-glicosídeo/ 1000 mL de extrato, e foi calculada de acordo com a Equação 4:

$$MA = \frac{A \times M \times DF \times 1000}{\epsilon \times \lambda} \quad (\text{Equação 4})$$

onde, A é a absorvância calculada na Equação 3; M é massa molar de cianidina-3-glicosídeo (449,2 g/ mol); FD é o fator de diluição (4,0); ϵ é o coeficiente de extinção molar (26 900 L /mol cm) e λ é o comprimento do caminho óptico (1 cm).

2.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

2.6.1 Atividade sequestrante do radical livre DPPH^{*}

A determinação da atividade antioxidante pelo método de DPPH^{*} foi realizado de acordo com metodologia descrita por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com algumas modificações. Em tubos de ensaio, foram adicionados 2.75 mL de etanol, 1,75 mL da solução etanólica de DPPH^{*} e 0,5 mL de amostra. Logo após, os tubos foram mantidos no escuro durante 30 minutos. Após o tempo de reação, foi realizada a leitura em espectrofotômetro (UV M51 - BEL Engineering, Monza, MB, Itália), na absorvância de 517 nm. O etanol foi utilizado como branco. Os valores foram expressos em μmol de Trolox equivalente por g de polpa fresca, calculado a partir de uma curva padrão com a concentração variando de 0 a 250 $\mu\text{mol/L}$ de Trolox.

2.6.2 Atividade sequestrante de radicais livres (ABTS^{**})

A determinação da atividade de inibição do radical ABTS^{**} foi realizada conforme Re et al. (1999), com modificações. O radical ABTS^{**} foi formado pela reação de 7 mM de 2.2'azino-bis-(3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfônico) com 2,45 mM de persulfato de potássio, em quantidades iguais. Esta mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente durante 16 horas antes de seu uso.

Em seguida, 4 mL de solução radical ABTS^{•+} foram adicionados com 40 µL dos extratos. A mistura permaneceu em repouso no escuro, durante 6 minutos à temperatura ambiente. Logo após, foi realizada a leitura em 734 nm. A capacidade antioxidante dos extratos foi apresentada como valor de µmol de Trolox equivalente por g de polpa fresca, calculado a partir de uma curva padrão com a concentração variando de 0 a 1000 µmol/ L de Trolox.

2.7 DETERMINAÇÃO DO PERFIL FENÓLICO POR HPLC-DAD

A análise do perfil fenólico foi realizada segundo a metodologia descrita por Haminiuk et al. (2014), com injeção de 10 µL de extratos hidroetanólicos previamente filtrados em filtro de seringa 0,45 µm. Foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC), modelo Shimadzu Prominencia acoplado a um detector de arranjo de diodos (DAD) e auto sampler. Os dados foram coletados pelo software LCSolution fornecido pela Shimadzu.

A separação foi realizada em uma coluna Acclaim[®] 120 C18, com dimensões de 4,6 mm x 250 mm, 5 µm (Dionex, Salt Lake City, UT, USA) a 40 °C. A fase móvel foi composta por dois solventes: ácido acético 1,0% v/v (solvente A) e metanol (solvente B). Foi realizada gradiente: 0- 10% de B durante 2 min; 10-20% de B durante 3 min; 20-30% de B durante 5 min; 30-35% de B durante 5 min; 35-50% durante 10 min; 50-60% de B durante 5 min; 60-80% de B durante 5 min; 80-100% de B durante 10 min, seguido de lavagem e acondicionamento da coluna com 100% de B durante 7 min; 100-5% de B durante 5 min. A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada utilizando curvas de calibração de padrões de ácido cafeico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, ácido clorogênico, ácido trans-cinâmico, ácido gálico, ácido siríngico, ácido vanílico, quercitina, catequina, rutina e resveratrol.

2.8 ANÁLISE DOS DADOS

Cada parâmetro foi analisado em triplicata. Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão (DP). O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado para avaliar a força de correlação entre os valores experimentais obtidos por meio das análises espectrofotométricas.

Uma abordagem quimiométrica composta pela análise de componentes comuns e pesos específicos (CCSWA) foi aplicada com o intuito de mesclar os dados de quantificação de compostos bioativos por espectrofotometria e compostos isolados por HPLC-DAD de uma forma ideal. Esta análise estatística permite avaliar as variáveis de maior relevância na separação das diferentes amostras de polpas de frutas. Todas as análises foram realizadas em triplicata, e o modelo estatístico multivariado foi obtido utilizando as médias das mesmas.

O CCSWA foi realizado com o Matlab R2008b seguindo um algoritmo proposto por Qannari et al. (2000) e detalhado por Bouveresse et al. (2011). O método é baseado em uma estrutura comum para tabelas de dados, ou melhor, uma representação comum para conjuntos de dados. Um peso específico (ou saliência) é dado a cada tabela para cada componente comum (MAZEROLLES et al., 2006). Supondo-se p tabelas de medidas diferentes que descrevem um conjunto de n amostras, existem matrizes p disponíveis, \mathbf{X}_i , de tamanhos $n \times k_i$ ($i = 1$ a p), em que k_i é o número de medidas usadas em cada conjunto de dados. Cada matriz é primeiro centrada na coluna (\mathbf{X}_iC) e depois normalizada (dividida pela norma Frobenius), para obter uma matriz de escala de variância (\mathbf{X}_iS). Embora em alguns casos possa diminuir a relação sinal-ruído, a normalização das matrizes de dados deve ser realizada para garantir que todos os blocos de dados tenham uma ordem de magnitude semelhante. Consequentemente, nenhuma tabela deve predominar sobre as outras, reduzindo a influência de matrizes com as menores ordens de magnitude. Desde que os p blocos de dados originais foram normalizados como descrito acima; p também corresponde à variância total dos dados (BOUVERESSE et al., 2011). A equação 5 mostra a formulação dos modelos CCSWA como matrizes de associação (\mathbf{W}).

$$\mathbf{W}_i = \mathbf{Q}\mathbf{\Lambda}^i\mathbf{Q}^T + \mathbf{E}_i \quad (\text{Equação 5})$$

Onde $\mathbf{W}_i = \mathbf{X}_{iS}\mathbf{X}_{iS}^T$; \mathbf{Q} é a matriz na qual as colunas são as dimensões comuns q_1, q_2, \dots, q_p e \mathbf{Q}^T é a transposta da matriz \mathbf{Q} ; $\mathbf{\Lambda}^i$ é a matriz diagonal cujo k^{th} elemento diagonal, λ_k^i é o peso iterativamente otimizado associado ao número da tabela de dados i e ao componente comum q_k ; \mathbf{E}_i é a matriz residual (Mazerolles et al., 2006; Qannari, Wakeling, MacFie, 1995). Os componentes comuns e suas saliências correspondentes são computados de forma iterativa, que visa reduzir os valores em matriz residual. A resolução para o problema de minimização resulta em um algoritmo de mínimos quadrados alternados (ALS). O mesmo algoritmo de ALS é feito após a deflação da matriz de associação para determinar componentes subsequentes e saliências associadas (Qannari, Courcoux, Vigneau, 2001).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS POR ESPECTROFOTOMETRIA

Os compostos bioativos das polpas de frutas foram extraídas com uma mistura dos solventes, álcool etílico e água, na concentração 40:60 (v/v). De acordo com Haminiuk et al. (2011), essa concentração de solução pode ser a melhor condição extratora para os compostos em algumas polpas de frutas. Segundo Chaicouski et al. (2014), uma solução extratora hidroalcoólica pode carregar tanto compostos polares quanto apolares, apresentando vantagens na extração.

A concentração de compostos fenólicos totais das polpas de frutas variou entre 66,09 a 902,18 mg EAG/ 100 g (Tabela 5). Tomando por exemplo Vasco et al. (2008), que estudaram a concentração de compostos fenólicos totais em 17 frutas do Equador, as polpas de frutas foram classificadas em 3 categorias de concentração de compostos fenólicos totais: baixa (<100 mg EAG/ 100 g), média (100 - 500 mg EAG/ 100 g) e alta (> 500 mg EAG/ 100 g), com base em matéria fresca.

TABELA 5 - CONCENTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DAS POLPAS DE FRUTAS.

Frutas	CFT (mg/ 100g)	FT (mg/ 100g)	CAM (mg/ 100g)	DPPH (μ mol/ 100g)	ABTS (μ mol/ 100g)
Abacaxi	69,76 \pm 2,26	6,83 \pm 0,50	0,05 \pm 0,01	685,20 \pm 11,40	609,74 \pm 5,02
Açaí	708,22 \pm 10,21	197,25 \pm 6,30	46,12 \pm 1,83	3951,94 \pm 13,99	4035,35 \pm 9,82
Acerola	593,77 \pm 10,16	29,09 \pm 0,34	4,52 \pm 0,00	7433,37 \pm 26,26	8511,84 \pm 61,44
Amora	198,21 \pm 2,02	38,47 \pm 0,77	54,65 \pm 2,96	1988,72 \pm 39,57	2040,39 \pm 21,75
Araçá	344,09 \pm 5,73	91,43 \pm 4,32	0,00	2525,74 \pm 19,50	2284,47 \pm 20,02
Buriti	168,69 \pm 2,36	66,70 \pm 2,72	0,00	516,56 \pm 11,96	736,73 \pm 14,81
Cacau	84,37 \pm 2,45	17,36 \pm 0,70	0,00	979,19 \pm 5,54	813,79 \pm 5,05
Cagaita	155,95 \pm 4,31	13,37 \pm 0,71	0,28 \pm 0,01	1394,78 \pm 13,77	1577,84 \pm 21,28
Cajá	134,22 \pm 3,23	14,94 \pm 0,25	0,00	1271,88 \pm 7,55	1352,23 \pm 10,07
Caju	205,52 \pm 2,95	6,93 \pm 0,13	0,05 \pm 0,03	1874,67 \pm 19,47	1715,59 \pm 16,31
Cambuci	323,23 \pm 2,54	30,76 \pm 1,17	0,01 \pm 0,00	2993,86 \pm 39,45	2780,23 \pm 26,11
Carambola	220,78 \pm 4,18	122,17 \pm 2,00	0,23 \pm 0,09	1151,15 \pm 24,54	1303,73 \pm 18,56
Coco	66,66 \pm 1,22	23,81 \pm 0,60	0,12 \pm 0,05	915,25 \pm 9,03	768,94 \pm 1,90
Cupuaçu	91,02 \pm 1,39	4,87 \pm 0,19	0,22 \pm 0,03	906,94 \pm 16,76	666,88 \pm 6,78
Framboesa	135,03 \pm 3,22	22,48 \pm 0,70	24,07 \pm 0,61	1503,49 \pm 6,64	1666,94 \pm 4,96
Garcinia	172,28 \pm 3,77	29,74 \pm 1,28	0,00	564,46 \pm 23,11	506,29 \pm 19,87
Goiaba	194,54 \pm 2,43	30,25 \pm 0,68	0,83 \pm 0,02	1507,78 \pm 15,94	1773,02 \pm 8,59
Graviola	147,61 \pm 3,71	46,10 \pm 0,29	0,17 \pm 0,04	1305,03 \pm 13,73	1023,55 \pm 6,79
Grumixama	207,83 \pm 9,95	36,36 \pm 2,52	1,54 \pm 0,11	1043,85 \pm 8,55	1401,88 \pm 16,49
Jaboticaba	626,57 \pm 4,39	79,84 \pm 4,85	28,90 \pm 1,89	5229,87 \pm 21,88	3658,05 \pm 26,51
Jaca	101,94 \pm 2,97	10,74 \pm 0,82	0,00	176,85 \pm 16,22	362,81 \pm 18,28
Jatobá	99,40 \pm 2,51	12,92 \pm 0,91	0,34 \pm 0,09	283,62 \pm 4,74	335,43 \pm 3,82
Kiwi	130,90 \pm 1,89	7,34 \pm 0,36	0,00	1346,14 \pm 24,10	1012,89 \pm 9,50
Laranja	124,53 \pm 1,12	10,57 \pm 0,60	0,78 \pm 0,24	1042,59 \pm 12,00	1193,34 \pm 13,12
Limão	66,09 \pm 0,96	2,45 \pm 0,13	0,00	803,04 \pm 12,88	464,54 \pm 8,16
Maçã	124,28 \pm 1,79	40,00 \pm 0,66	0,03 \pm 0,01	1120,30 \pm 25,60	935,62 \pm 11,75
Mamão	87,28 \pm 1,27	4,07 \pm 0,17	0,00	902,40 \pm 19,59	943,74 \pm 10,41
Manga	74,32 \pm 0,99	7,34 \pm 0,13	0,00	1063,98 \pm 6,09	794,51 \pm 10,06
Maracujá	86,48 \pm 1,14	7,25 \pm 0,41	0,00	931,63 \pm 4,11	722,09 \pm 16,57
Melancia	55,66 \pm 0,99	5,71 \pm 0,13	0,35 \pm 0,00	638,00 \pm 14,23	511,46 \pm 10,10
Melão	69,98 \pm 1,72	2,98 \pm 0,21	0,04 \pm 0,02	699,63 \pm 18,40	508,16 \pm 5,05
Mirtilo	100,77 \pm 0,97	29,00 \pm 0,61	38,54 \pm 0,35	1035,06 \pm 32,88	655,67 \pm 7,62
Morango	221,29 \pm 5,63	38,94 \pm 0,78	12,18 \pm 0,06	1646,10 \pm 23,14	2033,12 \pm 13,12
Murici	262,92 \pm 3,36	86,29 \pm 2,27	0,35 \pm 0,06	2900,77 \pm 30,88	2974,68 \pm 20,14
Panã	902,18 \pm 10,68	449,18 \pm 4,88	0,00	4486,11 \pm 30,40	4778,32 \pm 19,87
Pêssego	157,78 \pm 2,32	47,79 \pm 0,47	0,30 \pm 0,14	1349,44 \pm 12,48	1227,50 \pm 13,07
Pitanga	222,28 \pm 6,07	27,15 \pm 0,60	0,93 \pm 0,12	1765,25 \pm 22,85	1667,75 \pm 15,41
Pitomba	158,50 \pm 3,81	95,78 \pm 2,23	0,19 \pm 0,09	1265,37 \pm 26,89	1046,47 \pm 8,24
Seringuela	204,11 \pm 6,36	61,74 \pm 2,75	0,30 \pm 0,18	1297,62 \pm 23,60	1522,65 \pm 18,06
Tamarindo	148,77 \pm 2,49	39,99 \pm 0,82	0,00	1144,33 \pm 24,16	1226,54 \pm 16,84
Tangerina	86,98 \pm 0,71	5,47 \pm 0,04	0,04 \pm 0,01	704,16 \pm 26,39	602,12 \pm 11,41
Umbu	216,74 \pm 2,30	27,64 \pm 1,10	0,00	2425,96 \pm 15,71	1992,60 \pm 10,49
Uva	157,28 \pm 5,35	41,56 \pm 0,40	6,21 \pm 0,03	1260,50 \pm 28,61	1396,48 \pm 17,22
Uvaia	132,48 \pm 4,35	20,34 \pm 0,31	0,00	889,48 \pm 22,93	812,61 \pm 17,20

NOTA: CFT: compostos fenólicos totais; FT: compostos flavonoides totais; CAM: conteúdo de antocianinas monoméricas; DPPH: atividade sequestradora de radicais livres pelo DPPH; ABTS: atividade de eliminação de radicais livres pela ABTS.

As polpas de frutas que apresentaram elevadas concentrações de compostos fenólicos totais foram panã ($902,18 \pm 10,68$ mg EAG/ 100 g), açaí ($708,22 \pm 10,21$ mg EAG/ 100 g), jabuticaba ($626,57 \pm 4,39$ mg EAG/ 100 g) e acerola ($593,77 \pm 10,16$ mg EAG/ 100 g), respectivamente. As polpas de frutas classificadas com o teor médio de compostos fenólicos totais apresentaram concentrações que variaram de $344,09 \pm 5,74$ mg EAG/ 100 g, para a polpa de araçá, à $100,77 \pm 0,97$ mg EAG/ 100 g, para a polpa de mirtilo. E finalmente as polpas classificadas como contendo baixa concentração de compostos fenólicos totais apresentaram uma variação de $99,40$ mg EAG/ 100 g (polpa de jatobá) à $55,66$ mg EAG/ 100 g, para a polpa de melancia.

De acordo com Souza et al. (2012), que quantificaram os compostos bioativos de 5 polpas do cerrado brasileiro, a polpa de marolo também conhecido como panã ou araticum, foi igualmente classificada com elevada concentração de compostos fenólicos totais, com valor de $739,37 \pm 7,92$ mg EAG/ 100 g, indicando que a fruta é uma excelente fonte de compostos fenólicos totais. A estrutura desses compostos, presentes em frutas e plantas, podem apresentar propriedades benéficas devido à sua capacidade sequestradora de espécies radicais, principalmente devido às hidroxilas vicinais ligadas ao anel aromático (HALLIWELL et al., 1995). Além disso, os compostos fenólicos podem interromper as reações de oxidação da cadeia por doação de um átomo de hidrogênio ou de metais quelantes (BURSAL et al., 2013). Portanto, eles agem como agentes antioxidantes e redutores.

As frutas são as principais fontes de flavonoides, e seus benefícios a saúde estão associados com os doadores de hidrogênio e também suas propriedades redutoras, que contribuem para regulação nas células (GONÇALVES et al., 2010). A concentrações de flavonoides totais variou de 2,45 a 449,18 mg EC/ 100 g. A polpa de panã e açaí também apresentaram as maiores concentrações de flavonoides totais, $449,18$ mg EC/ 100 g e $197,249$ mg EC/ 100g, respectivamente. O açaí, por outro lado, foi a segunda polpa com maior conteúdo de antocianinas monoméricas ($46,118$ mg/ 100g), sendo que polpa de amora foi a que apresentou maior concentração ($54,648$ mg/ 100g). Segundo Kong et al. (2003), as frutas vermelhas apresentam um aumento na concentração de flavonoides totais, devido a presença de antocianinas monoméricas em sua composição.

Os valores de atividade antioxidante avaliada por ensaios de sequestro de radicais livres variaram de $176,85 \pm 16,22$ a $7433,37 \pm 26,26$ $\mu\text{mol/ 100 g}$ para o método do DPPH[•], e de $335,43 \pm 3,82$ a $8511,84 \pm 61,44$ $\mu\text{mol/ 100 g}$ para o ABTS^{•+}.

As polpas que apresentaram maiores valores de atividade antioxidante foram a polpa de acerola (DPPH^{*} = 7433,37 ± 26,26 µmol/ 100 g e ABTS^{•+} = 8511,84 ± 61,44 µmol/ 100 g) e a panã (DPPH^{*} = 4486,11 ± 30,40 µmol/ 100 g e ABTS^{•+} = 4778,32 ± 19,87 µmol/ 100 g).

O método de ABTS^{•+} é geralmente indicado para avaliar a atividade antioxidante dos compostos hidrofílicos ou lipofílicos, enquanto o método de DPPH^{*} é frequentemente usado para extratos orgânicos (PRIOR et al., 2005). A capacidade antioxidante de frutas pode variar de acordo com a sua concentração de compostos fenólicos totais, flavonoides, carotenoides e vitaminas C e E (SAURA-CALIXTO; GOÑI, 2006). Já a baixa eficiência anti-radical dos extratos de frutas pode ser associada ao fato dos compostos fenólicos estarem ligados a outras moléculas, por exemplo, hidratos de carbono, os quais reduzem consideravelmente a atividade antioxidante (VASCO et al., 2008).

Os resultados deste estudo mostraram correlação de Pearson positiva e significativa entre a capacidade antioxidante medidas pelos ensaios de DPPH^{*} e ABTS^{•+}, com os compostos fenólicos totais ($r = 0,863$ e $0,839$; $P < 0,001$, respectivamente) e flavonoides totais ($r = 0,4701$ e $0,4758$; $P = 0,001$, respectivamente). Os ensaios de DPPH^{*} e ABTS^{•+} realizados para determinar a capacidade antioxidante apresentaram correlação altamente significativa ($r = 0,969$; $P < 0,001$). A maior correlação entre o ensaio por DPPH^{*} e o reagente de Folin-Ciocalteu ocorreu devido ao fato de que ambos são baseados em mecanismos de ação semelhantes; isto é, na transferência de elétrons (GONÇALVES et al., 2010). Os resultados sugerem que os compostos fenólicos, tais como ácidos fenólicos, ácido tânico e proantocianidinas, podem ser responsáveis por apresentarem as contribuições mais importantes para a atividade antioxidante dos frutos estudados (SOUZA et al., 2012). Almeida et al. (2011) avaliaram 11 polpas de frutas e verificaram que a atividade antioxidante medidas em ensaios de ABTS^{•+} e DPPH^{*} foram altamente correlacionadas ($r = 0,94$ e $r = 0,88$; $P \leq 0,001$, respectivamente) com os compostos fenólicos totais. Outros estudos também relataram uma alta correlação entre a concentração de compostos fenólicos e a atividade antioxidante (MOO-HUCHIN et al., 2014; ZIELINSKI et al., 2014b). Lin et al. (2008), relataram que a capacidade antioxidante de flavonóides pode ocorrer devido à presença de ligações duplas nos anéis C, o que aumenta o poder nucleofílico.

3.2 AVALIAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA

Cinco ácidos hidroxicinâmicos, juntamente com três ácidos hidroxibenzóicos, quatro flavonoides e um estilbeno foram identificados nas polpas de frutas por análise de HPLC-DAD. Ácido cafeico com tempo de retenção (TR – 14,36 min), ácido p-cumárico (TR – 18,3 min), ácido ferúlico (TR – 19,6 min), ácido clorogênico (TR – 12,71 min), ácido trans-cinâmico (TR – 29,95 min), ácido gálico (TR – 6,55 min), ácido siríngico (TR – 15,25 min), ácido vanílico (TR – 14,30 min), quercitina (TR – 30,53 min), catequina (TR – 11,30 min), rutina (TR – 23,55 min) e resveratrol (TR – 24,18 min). Os resultados quantitativos são mostrados na Tabela 6.

TABELA 6 - CONCENTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS NAS POLPAS DE FRUTAS.

Frutas	Ácidos hidroxibenzóico (mg/ 100)	Ácidos hidroxicinâmicos (mg/ 100)	Flavonoides (mg/ 100)	Stilbeno (mg/ 100)
Abacaxi	0,0976 ± 0,0025	0,1300 ± 0,0001	N.D.	N.D.
Açaí	0,8124 ± 0,0358	0,4687 ± 0,0129	3,2637 ± 0,1625	N.D.
Acerola	N.D.	0,0951 ± 0,0001	0,1287 ± 0,0007	N.D.
Amora	0,2894 ± 0,0150	0,1190 ± 0,0005	0,2635 ± 0,1214	N.D.
Araçá	0,6235 ± 0,0185	0,2980 ± 0,0003	4,3942 ± 0,1416	N.D.
Buriti	0,1758 ± 0,0007	0,4133 ± 0,0017	1,4442 ± 0,0063	N.D.
Cacau	0,1281 ± 0,0003	N.D.	0,2792 ± 0,0392	N.D.
Cagaita	0,4718 ± 0,0555	0,2215 ± 0,0003	0,0959 ± 0,0000	N.D.
Caja	0,5341 ± 0,0073	0,2257 ± 0,0013	0,1322 ± 0,0012	N.D.
Caju	0,1643 ± 0,0014	0,2408 ± 0,0001	N.D.	N.D.
Cambuci	0,3833 ± 0,0104	0,1786 ± 0,0091	N.D.	N.D.
Carambola	0,2747 ± 0,0038	0,0810 ± 0,0001	2,3558 ± 0,0660	N.D.
Coco	0,0854 ± 0,0009	0,1114 ± 0,0001	0,7011 ± 0,0184	N.D.
Cupuaçu	0,0779 ± 0,0002	N.D.	0,5229 ± 0,0038	N.D.
Framboesa	0,2157 ± 0,0021	0,3390 ± 0,0134	2,6399 ± 0,2185	N.D.
Garcinia	0,0892 ± 0,0001	0,3396 ± 0,0006	N.D.	N.D.
Goiaba	N.D.	0,0944 ± 0,0000	0,6670 ± 0,0026	N.D.
Graviola	0,1001 ± 0,0010	0,6487 ± 0,0006	0,9018 ± 0,0104	N.D.
Grumixama	0,1787 ± 0,0042	0,2012 ± 0,0001	0,9705 ± 0,0991	N.D.
Jaboticaba	0,7662 ± 0,0087	0,4146 ± 0,0520	0,0972 ± 0,0004	N.D.
Jaca	N.D.	N.D.	0,2009 ± 0,0012	N.D.
Jatoba	0,1588 ± 0,0005	0,4677 ± 0,0011	N.D.	N.D.
Kiwi	0,0906 ± 0,0001	0,1893 ± 0,0002	N.D.	N.D.
Laranja	0,0836 ± 0,0009	0,5787 ± 0,0007	0,5762 ± 0,0038	N.D.
Limão	N.D.	0,1174 ± 0,0011	0,1278 ± 0,0001	N.D.
Maçã	0,0995 ± 0,0002	0,8936 ± 0,0010	0,5427 ± 0,0092	N.D.
Mamão	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Manga	0,0806 ± 0,0000	0,1009 ± 0,0003	N.D.	N.D.
Maracujá	0,0425 ± 0,0036	0,2270 ± 0,0003	0,3906 ± 0,0061	N.D.
Melancia	N.D.	0,3924 ± 0,0057	N.D.	N.D.
Melão	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Mirtilo	0,4021 ± 0,0072	0,6387 ± 0,0149	0,2476 ± 0,0037	N.D.
Morango	0,3735 ± 0,0948	0,6564 ± 0,0188	3,1487 ± 0,2985	N.D.
Murici	0,3329 ± 0,0025	0,6028 ± 0,0053	0,4884 ± 0,0024	0.0291 ± 0.0017
Panã	0,0800 ± 0,0002	0,3064 ± 0,0033	4,5958 ± 0,1034	N.D.
Pêssego	0,1145 ± 0,0002	0,7962 ± 0,0003	2,1137 ± 0,1773	N.D.
Pitanga	0,3619 ± 0,0031	0,4099 ± 0,0008	4,2146 ± 0,0471	N.D.
Pitomba	0,0776 ± 0,0001	N.D.	0,5287 ± 0,0101	N.D.
Seringuela	0,4507 ± 0,0127	0,5167 ± 0,0033	1,3376 ± 0,2191	N.D.
Tamarindo	0,1349 ± 0,0003	0,2211 ± 0,0007	0,5454 ± 0,0063	N.D.
Tangerina	0,0790 ± 0,0001	0,5393 ± 0,0022	0,4685 ± 0,0081	N.D.
Umbu	0,2018 ± 0,0293	0,1832 ± 0,0000	1,4509 ± 0,0034	N.D.
Uva	0,2595 ± 0,0024	0,6767 ± 0,0197	1,7939 ± 0,0168	0.0236 ± 0.0002
Uvaia	0,3257 ± 0,0247	0,1038 ± 0,0001	0,2599 ± 0,0076	N.D.

NOTA: N.D. = não detectado.

O grupo dos flavonoides foram os compostos mais abundantes na polpa de panã ($4,5958 \pm 0,1034$ mg/ 100 g), araçá ($4,3942 \pm 0,1416$ mg/ 100 g) e pitanga ($4,2146 \pm 0,0471$ mg/ 100 g). Entre os flavonoides, a catequina foi a principal responsável pela concentração de flavonoides nas polpas de frutas estudadas. Lage

et al. (2014), relataram a presença de flavonoides na polpa de panã, sendo que a catequina foi um dos principais flavonoides encontrados na polpa. A estrutura química dos flavonoides determina uma relativa facilidade da atividade oxidativa e eliminação dos radicais livres. Embora a presença dos grupos galoil, o número e a posição dos grupos hidroxil (com base no potencial redox) são responsáveis em aumentar a atividade antioxidante, enquanto que a metoxilação e glicosilação da posição 3, aparentemente inibem a capacidade de redução (ARON; KENNEDY, 2008). Os flavonoides ganharam uma grande atenção devido à sua atividade antioxidante, fundamentados em suas propriedades relacionadas à saúde (SAMPAIO et al., 2015).

A polpa de murici apresentou maior concentração com relação ao estilbeno resveratrol em massa fresca ($0,0291 \pm 0,0017$ mg/ 100 g). Os estilbenos são considerados um grupo que atua como potencial quimiopreventivo do câncer, quimioterapêutico e agente anti-envelhecimento (RIMANDO et al., 2004). Além disso, o resveratrol inibe a formação de radicais livres e possui uma atividade antimutagênica (Malta et al., 2012). Estudos realizados por Malta et al. (2012), relataram a presença de resveratrol na polpa de fruta murici em uma concentração de $0,31 \pm 0,04$ mg/ 100 g em massa seca, podendo este ser o responsável pelas atividades funcionais encontrados na fruta.

Os ácidos hidroxibenzóicos foram encontrados com maior concentração na polpa de açaí ($0,8124 \pm 0,0358$ mg/ 100 g), sobressaindo o ácido vanílico que apresentou maior concentração. Ácidos hidroxibenzóicos estão geralmente presentes na forma ligada e são tipicamente um componente de estrutura complexa, como ligninas e taninos hidrolizáveis. Também podem ser encontrados ligados a derivados de açúcar e ácidos orgânicos em alimentos de origem vegetal (Barros et al., 2009). Pacheco-Palencia et al. (2009), encontraram na polpa de açaí a predominância dos ácidos vanílico ($0,505 \pm 0,027$ mg/ 100 g) e siríngico ($0,402 \pm 0,036$ mg/ 100 g). Os ácidos vanílico e siríngico possuem propriedades antimicrobiana, anti-cancerígena e de anti-oxidação do DNA (ITOH et al., 2010).

Com relação aos ácidos hidroxicinâmicos, houve maior concentração na polpa de maçã ($0,8936 \pm 0,0010$ mg/ 100 g), destacando-se a presença do ácido clorogênico. O ácido clorogênico é amplamente distribuído em frutas, tendo diversas propriedades biológicas benéficas, incluindo agentes antibacterianos, antiflogísticos, anti-viral, e mesmo efeitos inibitórios sobre a carcinogênese em intestino grosso e fígado (WANG et al., 2015, HAO et al., 2016). Estudos realizados por Pingret et al.

(2012) e Hao et al. (2016) mostraram que a maçã contém quantidades consideráveis de derivados do ácido hidroxicinâmico, que são representados principalmente por ácido clorogênico. Os ácidos hidroxicinâmicos geralmente são encontrados principalmente esterificado com pequenas moléculas, bem como ligado aos componentes estruturais de parede celular tais como celulose, lignina, e proteínas através de ligações de éster (BARROS et al., 2009).

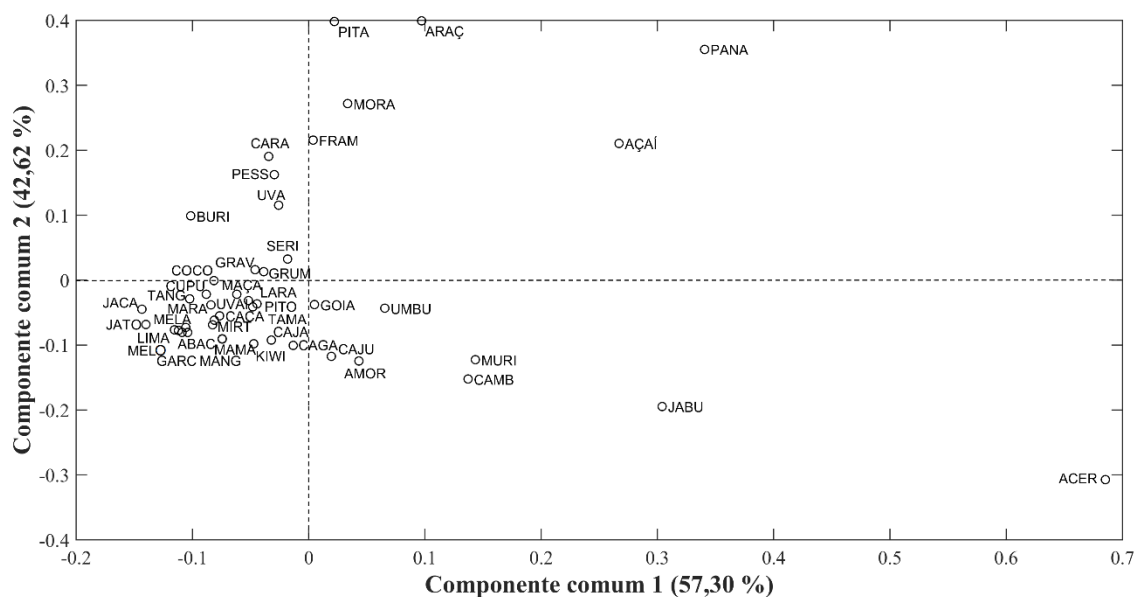
3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA

A distribuição das amostras de polpa de fruta na CCSWA foi obtida a partir dos dados espectrofotométricos das análises de CFT, FT, CAM, DPPH^{*} e ABTS⁺, como também da análise cromatográfica por HPLC-DAD.

Nesta análise é possível demonstrar tendências de agrupamento em função das características relevantes de cada amostra, encontrando uma estrutura comum entre as tabelas, analisadas iterativamente, conferindo-as o mesmo peso, gerando um espaço de consenso para representação das amostras (MAZEROLLES et al., 2010). Esta análise possibilita avaliar um grande número de amostras, facilitando a elucidação de possíveis relações entre o conjunto de dados, o que é essencial em rotinas de análises industriais que avaliam a qualidade do produto antes de ser comercializado.

Foi observado que apenas duas componentes comuns (CC1 e CC2) foram suficientes para explicar quase 100% da variância dos dados (Figura 13). Um grupo principal reuniu a maioria das amostras, devido os valores das análises estarem em uma faixa próxima. Isso ocorre, pois por se tratarem de polpas de frutas, muitas possuem características semelhantes, dispendo de altas quantidades de compostos fenólicos e, conseqüentemente, antioxidantes, quando comparados a outras fontes alimentares. As frutas são uma das principais fontes de antioxidantes, de fácil acesso para aquisição e consumo, e, dessa forma, faz-se importante o estudo da caracterização da bioatividade das mesmas, sobretudo de espécies pouco exploradas.

FIGURA 13 - DISTRIBUIÇÃO DE AMOSTRAS DE ACORDO COM COMPONENTES COMUNS E PESOS ESPECÍFICOS ENTRE CC1 E CC2.



NOTA: abacaxi= abac; açai= açai; acerola= acer; amora= amor; araçá= araç; buriti= buri; cacau= caca; cagaita= caga; cajá= cajá; caju= caju; cambuci= camb; carambola= cara; coco= coco; cupuaçu= cupu; framboesa= framb; garcínia= garc; goiaba= goia; graviola= grav; grumixama= grumi; kiwi= kiwi; jabuticaba= jabu; jaca= jaca; jatobá= jato; laranja= lara; limão= lima; maçã= maça; mamão= mama; manga= mang; maracujá= mara; melão= melo; melancia= mela; mirtilo= mirt; morango= mora; murici= muri; panã= pana; pêssogo= pess; pitanga= pita; pitomba= pito; seringueira= seri; tamarindo= tama; tangerina= tang; umbu= umbu; uva= uva; uvaia= uvaia.

Algumas amostras distanciaram-se das demais, o que foi caracterizado principalmente pela capacidade antioxidante de amostras como acerola, que possui potencial antioxidante superior comparado com as demais. As polpas de panã, açai e jabuticaba também se distanciaram do principal grupo de amostras pela mesma característica, como também pelo alto conteúdo de compostos fenólicos, sobretudo a amostra de panã.

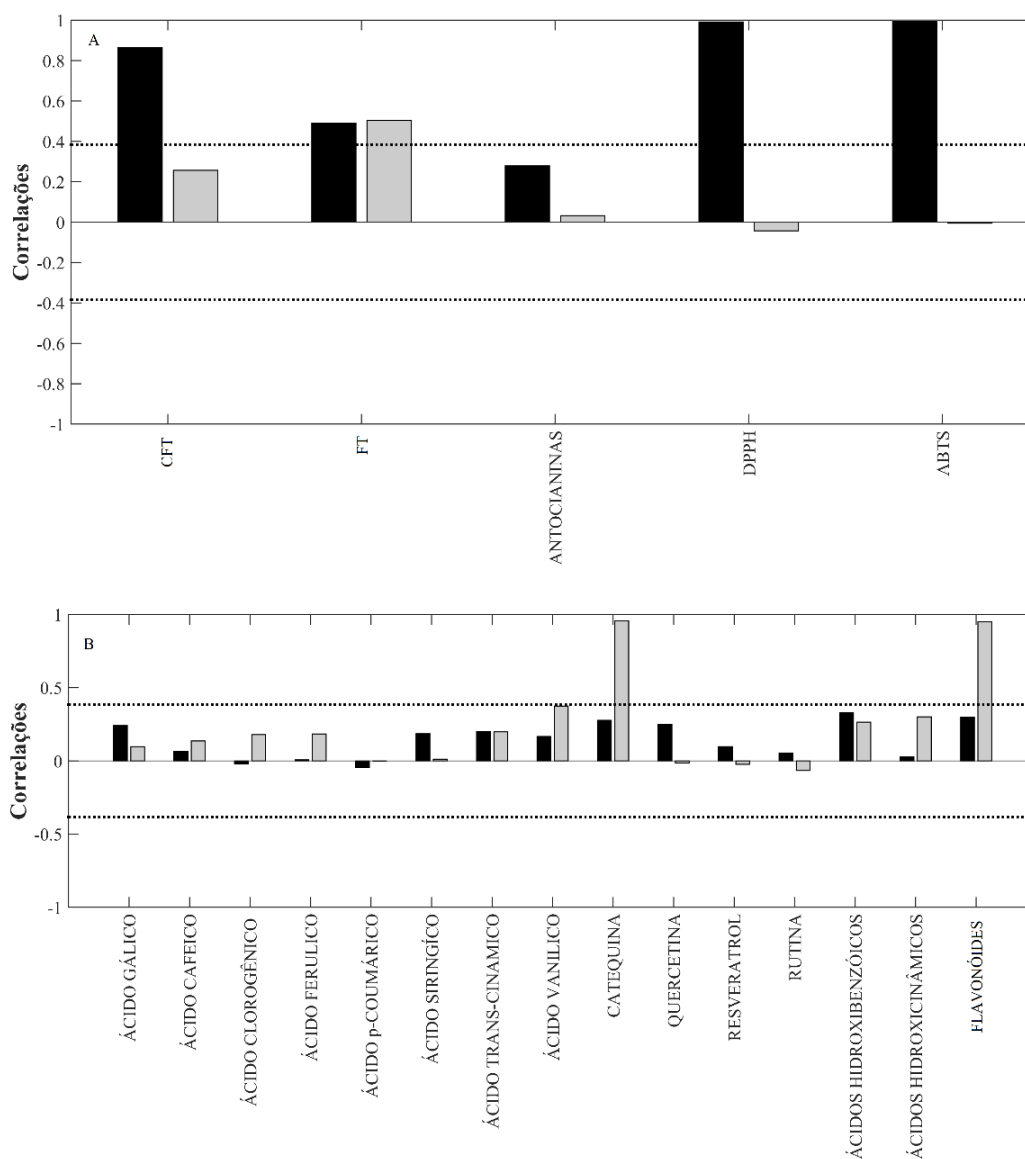
A Tabela 7 mostra as saliências das tabelas dos resultados do HPLC-DAD e UV-Vis, correspondente à participação de cada tabela na separação. Embora as duas primeiras componentes comuns foram suficientes para explicar a variância, os dados foram avaliados até a quinta componente comum (CC5), demonstrando que as saliências obtidas a partir da terceira componente comum não apresentaram relevância na explicação dos dados.

TABELA 7 - SALIÊNCIAS / PESO ESPECÍFICO DE CADA CONJUNTO DE DADOS DE ACORDO COM OS COMPONENTES COMUNS CC1 A CC5.

Tabela de dados	CC1	CC2	CC3	CC4	CC5
HPLC-DAD	0,08	0,85	0,02	0,02	0,00
UV-Vis	0,98	0,00	0,00	0,00	0,01

A partir das saliências, foi possível observar que na CC1 os dados apresentaram variância predominantemente em função dos resultados encontrados nas análises espectrofotométricas, enquanto na CC2 obteve-se predominância da variância dos resultados encontrados pela cromatografia líquida. A partir disso, foi avaliado separadamente a relevância de cada análise do UV-Vis e cada composto identificado no HPLC-DAD em diferentes correlações, como demonstrado nas Figuras 14A e 14B.

FIGURA 14 - (A) CORRELAÇÃO ENTRE VARIÁVEIS ESPECTROFOTOMÉTRICAS (UV-VIS) E COMPONENTES COMUNS (CC1 E CC2); (B) CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS CROMATOGRÁFICAS (HPLC-DAD) E COMPONENTES COMUNS (CC1 E CC2).



NOTA: barras pretas - CC1, barras cinzas - CC2).

Com relação às análises espectrofotométricas, a variância das amostras foi explicada majoritariamente na CC1, como pode ser observado na Figura 14A, que demonstra a correlação das variáveis mais influentes na separação dos dados espectrofotométricos na CC1 e CC2. Na CC2, as variáveis mais influentes foram CFT e FT.

Das variáveis avaliadas, DPPH[•] e ABTS^{•+} destacaram-se na influência da separação das amostras, seguido da análise de CFT. Isso pode ter ocorrido, pois é

comprovado que os compostos fenólicos podem possuir atividade antioxidante (BURSAL et al., 2013), e como confirmado anteriormente pelo teste de Pearson, as amostras apresentaram alta correlação entre os compostos fenólicos e antioxidantes.

A concentração de antocianinas monoméricas apresentou maior influência na CC1, no entanto, quando relacionado às demais variáveis, pouca influência na separação das amostras foi observada, devido estarem em menor quantidade nas frutas analisadas, comparados aos outros parâmetros. Embora o conteúdo de antocianinas tenha sido muito pequeno ou até mesmo ausente em algumas das amostras, este grupo possui grande importância sobre a capacidade antioxidante das amostras que o contém, como amora, açaí e mirtilo, devido seu efeito contra os radicais livres (RUFINO et al., 2010).

A Figura 14B demonstra a correlação das variáveis mais influentes na separação dos dados cromatográficos na CC1 e CC2. Nesta correlação, ambas as componentes comuns apresentaram influência na separação, destacando a CC2, que apresentou maiores correlações para os compostos catequina e ácido vanílico.

O grupo de flavonoides foi o principal responsável pela distribuição das amostras na CC2, devido ao composto catequina, que está entre o grupo de flavonoides e que se apresenta em maior quantidade nas amostras, destacando as polpas de panã, araçá e pitanga. Estas amostras distanciaram-se das demais ao longo da CC2 devido seu alto conteúdo de catequina.

Para grande parte das amostras de polpa de fruta utilizadas nesta pesquisa, estudos sobre a caracterização dos compostos bioativos são escassos, e a aplicação da análise de CCSWA para classificação destas amostras ainda não foi realizada.

É de grande importância que as propriedades bioativas das frutas sejam destacadas, visto que atualmente há um grande interesse por fontes alimentícias de fácil acesso que possuam propriedades funcionais, sobretudo de frutas brasileiras, que dispõem de uma vasta diversidade de aplicações. Evidenciar os benefícios à saúde a partir destas frutas, principalmente das que ainda são pouco exploradas, impulsiona a produção das mesmas, fazendo com que aumente a rentabilidade dos produtores e ainda, levem aos consumidores o conhecimento das vantagens que o consumo frequente pode trazer ao organismo.

4 CONCLUSÕES

Os resultados do estudo revelaram que as frutas com as maiores concentrações de compostos fenólicos totais (panã, acerola, açaí e jabuticaba) também tiveram os maiores valores de atividades antioxidantes nos ensaios de DPPH[•] e ABTS^{•+}, demonstrando relação direta entre os compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. Além disso, observou-se que a polpa de panã e açaí foram as polpas que apresentaram maiores concentrações de flavonoides, sendo o açaí a segunda polpa com maior concentração de antocianinas monoméricas. Compostos fenólicos com potencial efeito antioxidante foram identificados por meio do HPLC-DAD, entre eles destaca-se a catequina, que é o principal composto pertencente ao grupo de flavonoides, identificado nas polpas de frutas. Outros compostos importantes que compõem os grupos de ácidos hidroxicinâmicos, ácidos hidroxibenzóicos e estilbeno também foram identificados.

Mesmo sendo a primeira vez que a análise de componentes comuns e pesos específicos (CCSWA) é aplicada para este tipo de estudo, foi possível visualizar a relação entre os dados, destacando as características mais importantes de cada polpa de fruta com relação à composição de compostos bioativos. Foi confirmado a relação entre o conteúdo de CFT e atividade antioxidante, e ainda que o composto de maior quantidade nas amostras de polpas (catequina), foi um dos fatores mais relevantes que influenciaram na distribuição das amostras.

Esses dados reforçam a importância de uma ingestão regular de frutas para fornecer compostos antioxidantes na dieta humana. No entanto, mais estudos são necessários para identificar e quantificar os principais compostos bioativos presentes nas frutas, em especial a sua atividade antioxidante em modelos animais.

**CAPÍTULO 3: AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E
REOLÓGICAS DE 42 DIFERENTES POLPAS DE FRUTAS UTILIZANDO
ANÁLISE MULTIVARIADA**

RESUMO

O método quimiométrico de análise de componentes comuns e pesos específicos (CCSWA) para análise multibloco e análise hierárquica de agrupamentos (HCA), foi utilizado para avaliar os dados obtidos a partir da caracterização físico-química e reológica de 42 polpas de frutas comerciais. As características físico-químicas e o comportamento reológico das polpas mostraram-se consideravelmente diferentes. Os dados experimentais para as curvas de escoamento em regime permanente das polpas de frutas foram ajustados ao modelo de Herschel-Bulkley, e observou-se que descrevia adequadamente os materiais, que mostravam uma ampla gama de tensões iniciais. A correlação dos resultados no modelo CCSWA indicou que duas componentes principais (CCs) foram suficientes para explicar quase 100% da variação dos dados. A quantidade de sólidos solúveis e a tensão inicial foram os principais fatores responsáveis pela discriminação dos dados. Geralmente, a quantidade de sólidos solúveis pode influenciar a viscosidade, como mostrado pelos resultados semelhantes das amostras em ambos os componentes comuns, e isto corrobora com a análise de HCA.

Palavras-chave: Frutas, caracterização, escoamento, herschel-bulkley, análise multibloco, dimensão comum.

1 INTRODUÇÃO

O consumo de frutas nativas e exóticas tem aumentado significativamente nos últimos anos, devido ao reconhecimento de seu valor nutritivo e terapêutico (DUTRA et al., 2017). Essa tendência ocorre principalmente porque os frutos são reconhecidos como fontes potenciais de compostos bioativos, que possuem alta atividade antioxidante, frequentemente associada à proteção contra o estresse oxidativo e várias doenças crônico-degenerativas (DUTRA et al., 2017; RUFINO et al., 2010). A transformação de frutas frescas em polpas congeladas é uma alternativa industrial para aumentar o acesso ao consumo de frutas durante os períodos de entressafra (ZIELINSKI et al., 2014b).

Polpas de frutas podem ser empregadas como matéria-prima na indústria de alimentos para obter diversos produtos, como néctares, geléias, sorvetes e sucos, que também podem ser vendidas diretamente aos consumidores. Para avaliar a viabilidade técnica e econômica desses processos industriais, é importante conhecer as propriedades físico-químicas dos produtos. Dentre essas propriedades, o estudo reológico é essencial para uso em aplicações de engenharia, como o cálculo de vazões e seleção de bombas, agitadores, trocadores de calor, tubulações e homogeneizadores (LOPES et al., 2013).

A determinação dos parâmetros reológicos é um critério importante, não apenas para estimar o consumo de energia de bombas quando a polpa possui alta viscosidade, mas também para reduzir a incorporação de ar em bombas, o que pode prejudicar a operação e provocar reações indesejáveis, como oxidação e contaminação (HAMINIUK et al., 2006). Conhecer o comportamento reológico também permite determinar a funcionalidade das polpas antes de sua incorporação em novos produtos. Além disso, permite controlar a textura do produto final ou intermediário por correlação com dados sensoriais, considerando que as propriedades reológicas dos alimentos podem afetar sua aceitabilidade (PEREIRA et al., 2014).

O comportamento reológico das polpas de frutas é amplamente influenciado por parâmetros, como temperatura, sólidos solúveis totais, concentração e tamanho das partículas. Portanto, as características reológicas apresentada dependerá do tipo de fruto utilizado no processo e do tratamento ao qual os frutos foram expostos durante o processo de fabricação (CONCEIÇÃO et al., 2012; PEREIRA et al., 2014).

Estudos anteriores da literatura pesquisaram o comportamento reológico de algumas polpas de frutas, como as polpas de jabuticaba (SATO; CUNHA, 2009), maçãs Malay (SANTOS et al., 2016), grumixama (DE AGUIAR et al., 2016) e “uva Japonesa” (MAIEVES et al., 2017). No entanto, a maioria desses estudos se concentraram em um único (ou pequeno número) número de frutas, e não foram encontradas comparações entre o comportamento reológico de diferentes polpas de frutas exóticas.

A aplicação de quimiometria na engenharia de alimentos é uma ferramenta de grande importância para avaliar semelhanças ou diferenças entre um grande número de amostras e para projetá-las em um plano de fator de duas três dimensões, com base em várias características (GRANATO et al., 2018). Análise de componentes comuns e pesos específicos (CCSWA) foram desenvolvidas pela primeira vez por

Qannari et al. (2000), para tratamento de dados de testes sensoriais. No entanto, este método tem sido usado para correlacionar técnicas analíticas para avaliação da qualidade e classificação de amostras em ciência e tecnologia de alimentos (FERREIRA et al., 2017; RAMPAZZO et al., 2018).

Portanto, diante do exposto, este trabalho teve como objetivo investigar as características físico-químicas e o comportamento reológico de 42 diferentes polpas de frutas e encontrar uma relação entre os dados obtidos por estas análises utilizando os métodos de análise estatística multivariada, como o CCSWA e análise hierárquica de agrupamentos (HCA).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATÉRIA-PRIMA

Foram utilizadas 42 espécies de polpas de frutas: abacaxi (*Ananas comosus*), açaí (*Euterpe oleracea*), acerola (*Malpighia emarginata*), amora (*Rubus fruticosus*), araçá (*Psidium guineense*), buriti (*Mauritia vinifera*), cacau (*Theobroma cacao*), cagaita (*Eugenia dysenterica*), cajá (*Spondias mombin*), cambuci (*Paivaea langsdorffii*), carambola (*Averrhoa carambola*), coco (*Cocos nucifera*), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), framboesa (*Rubus idaeus*), garcinia (*Garcinia* sp.), goiaba (*Psidium guajava*), graviola (*Annona muricata*), grumixama (*Eugenia brasiliensis*), jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*), jaca (*Artocarpus heterophyllus*), jatobá (*Hymenaea courbaril*), kiwi (*Actinidia deliciosa*), laranja (*Citrus sinensis*), limão (*Citrus limon*), maçã (*Malus* sp.), mamão (*Carica papaya*), manga (*Mangifera indica*), maracujá (*Passiflora edulis*), melancia (*Citrullus lanatus*), melão (*Cucumis melo*), morango (*Fragaria* sp.), murici (*Byrsonima verbascifolia*), panã (*Annona crassiflora*), pêssego (*Prunus persica*), pitanga (*Eugenia uniflora*), pitomba (*Talisia esculenta*), seriguela (*Spondias purpúrea*), tamarindo (*Tamarindus indica*), tangerina (*Citrus reticulata*), umbu (*Spondias tuberosa*), uva (*Vitis* sp.) e uvaia (*Eugenia uvalha*).

As polpas de frutas foram compradas da "Polpa Norte", localizada na cidade de Campo Mourão (Paraná, Brasil), e do "Sítio do Bello", em Paraibuna (São Paulo,

Brasil). Todas as polpas foram armazenadas congeladas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até as análises posteriores.

2.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

Os sólidos solúveis totais (°Brix) e o pH foram determinados através do refratômetro Abbe (modelo WY1A, EUA) e um medidor de pH Orion com um eletrodo de vidro (modelo 710 A, Orion Research, Boston, EUA) a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente. A acidez titulável foi medida de acordo com o método 942.15 da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2000).

A identificação de pectina foi determinada com o kit K-PECID 05/16 (Megazyme Internacional Irlanda Ltd, Condado de Wicklow, Irlanda). O pectato foi incubado com pectato liase, uma enzima que cliva o ácido poligalacturônico, liberando oligossacarídeos insaturados, que podem ser detectados por absorção espectrofotométrica a 235 nm (modelo UV-M51, BEL Engineering, Monza, MB, Itália). A quantidade de produto insaturado produzido foi calculada pela Equação 5:

$$\text{Produto insaturado} = \frac{\Delta A}{L} \cdot \varepsilon \quad (\text{Equação 5})$$

Onde:

ΔA = absorbância da reação (após 30 min) - absorbância do branco.

L = caminho-comprimento da cubeta de reação (= 1 cm).

ε = o coeficiente de extinção molar do produto de reação ($4600\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$).

2.3 ANÁLISE REOLÓGICA

As 42 polpas de frutas foram avaliadas em um reômetro rotacional MARS III (Haake Co, Alemanha). As polpas de frutas apresentaram uma ampla gama de viscosidades, o que exigiu o uso de geometrias de medição adequadas para cada

polpa. Portanto, as polpas de menor viscosidade foram avaliadas com uma célula Couette de superfície lisa com diâmetro externo de 27,20 mm e diâmetro interno de 25,08 mm. Por outro lado, as polpas mais viscosas foram estudadas com placas paralelas ranhuradas com 35 mm de diâmetro e 1 mm de espaçamento que evitou deslizamento da parede durante as medições (DIMITRIOU et al., 2011). Todas as análises foram conduzidas a 25 °C e a temperatura foi controlada por um sistema de banho termostático Peltier.

Os experimentos foram realizados com a curva de escoamento em regime permanente. Taxas de cisalhamento constantes, linearmente variando de 10^3 a 10^5 s⁻¹, foram impostas a cada polpa, com o objetivo de avaliar as respostas de tensão no estado estacionário. As taxas de cisalhamento foram impostas na forma de patamares, da maior para a menor taxa de cisalhamento (DA CRUZ et al., 2002; DIVOUX et al., 2013), e cada patamar de taxa teve a duração de 60s. A tensão inicial no estado estacionário foi então tomada como a média das tensões nos últimos 9 s do patamar. Os experimentos foram realizados em duplicata, de acordo com outros trabalhos da literatura (GENOVESE et al., 2010; MOELANTS et al., 2014; DE AGUIAR et al., 2016; SANTOS et al., 2016). Os dados de tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento para cada uma das repetições foram ajustados pela equação de Herschel-Bulkley, Equação (6). Nesta equação, τ_0 [Pa], k [Pa.sⁿ] e n [-] são os parâmetros ajustados e representam, respectivamente, a tensão limite de escoamento extrapolada (tensão inicial), o coeficiente de consistência e o índice de comportamento.

$$\tau = \tau_0 + k\dot{\gamma}^n \quad (\text{Equação 6})$$

2.4 ANÁLISE DOS DADOS

O CCSWA foi aplicado para mesclar os conjuntos de dados reológicos e físico-químicos. O método foi realizado seguindo um algoritmo proposto por Qannari et al. (2000) e detalhado por Bouveresse et al. (2011). Supondo-se p tabelas de medidas diferentes que descrevem um conjunto de n amostras, existem matrizes p disponíveis, X_i , de tamanhos $n \times k_i$ ($i = 1$ para p), em que k_i é o número de medidas usadas em

cada conjunto de dados. Cada matriz é primeiro centrada na coluna (X_iC) e depois normalizada (dividida pela norma Frobenius) para obter uma matriz de escala de variância (X_iS). A normalização das matrizes de dados foi realizada para garantir que todos os blocos de dados tivessem uma ordem de magnitude similar. Como os p blocos de dados originais foram normalizados como descrito acima, p também corresponde à variância total dos dados (Bouveresse et al., 2011). A Equação 7 mostra a formulação de modelos CCSWA como matrizes de associação (W).

$$W_i = Q\Lambda^iQ^T + E_i \quad (\text{Equação 7})$$

onde $W_i = X_{iS}X_{iS}^T$; Q é a matriz na qual as colunas são as dimensões comuns q_1, q_2, \dots, q_p e Q^T é a transposta da matriz Q ; Λ^i é a matriz diagonal cujo k^{th} elemento diagonal λ_k^i é o peso iterativamente otimizado associado ao número da tabela de dados i e ao componente comum q_k ; e E_i é a matriz residual (Mazerolles et al., 2006; Qannari et al., 1995). Os componentes comuns (CCs) e suas correspondentes saliências são computados iterativamente. A resolução para o problema de minimização resulta em um algoritmo de mínimos quadrados alternados (ALS). O mesmo algoritmo ALS é feito após a deflação da matriz de associação, para determinar os componentes subsequentes e as saliências associadas (QANNARI et al., 2001).

Um método estatístico multivariado não-supervisionado (HCA) foi aplicado aos dados reológicos e físico-químicos, para agrupar amostras com base na dissimilaridade apresentada. O método foi utilizado considerando as distâncias euclidianas e as técnicas de Ward (método de aglomeração e truncamento automático). Ambas as análises foram realizadas no MATLAB R2008b (The Mathworks, Inc., Natick, EUA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO DE POLPAS DE FRUTAS

Polpa de fruta, segundo a Resolução CNNPA nº12 de 1978 (ANVISA, 1978), é definida como produto obtido por esmagamento das partes comestíveis de frutas carnosas por processos tecnológicos adequados. Segundo a legislação brasileira para produtos fabricados a partir de frutas, RDC nº8 de 2013 (ANVISA, 2013), as polpas de frutas comerciais podem conter acidulante/regulador de acidez, antiespumante, antioxidante, aromatizante, conservador, corante, estabilizante e sequestrante, respeitando os limites estabelecidos por esta resolução. Estas informações são necessárias para que seja compreendido que as características obtidas pelas análises físico-químicas estão levando em consideração que estas polpas de frutas são produtos processados e que podem conter os aditivos citados anteriormente, o que pode influenciar nas características das mesmas. Além disso, outros fatores intrínsecos das frutas, como variabilidade genética, fertilização, condições climáticas, solo, localização geográfica, estação, cultivo, amadurecimento e colheita afetam as características físico-químicas (GONÇALVES et al.,2018).

As características físico-químicas e a presença de pectina nas 42 polpas de frutas estudadas estão apresentadas na Tabela 8.

TABELA 8 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E QUANTIFICAÇÃO DE PECTINA EM POLPAS DE FRUTAS.

Polpas frutas	Sólidos solúveis (°Brix)	pH	Acidez titulável (g/100 mL)	Quantificação de pectina (M)*
Limão	3,81± 0,01	2,42±0,08	2,28±0,03	3,13·10 ⁻⁶ ±3,32·10 ⁻⁷
Melancia	8,04±0,02	5,51±0,01	0,08±0,00	5,14·10 ⁻⁶ ±4,21·10 ⁻⁷
Tangerina	19,67±0,01	3,29±0,04	1,05±0,02	3,67·10 ⁻⁶ ± 2,05·10 ⁻⁷
Laranja	24,01±0,01	3,50±0,00	1,62±0,04	3,15·10 ⁻⁶ ±3,74·10 ⁻⁷
Melão	6,83±0,00	6,34±0,03	0,39±0,00	4,96·10 ⁻⁶ ±3,90·10 ⁻⁷
Carambola	7,42±0,02	3,20±0,02	0,67±0,01	1,37·10 ⁻⁵ ±2,86·10 ⁻⁶
Cagaita	5,65±0,01	3,01±0,00	0,54±0,00	1,02·10 ⁻⁵ ±1,38·10 ⁻⁶
Pitomba	10,01±0,00	3,66±0,01	0,72±0,02	1,44·10 ⁻⁵ ±1,42·10 ⁻⁶
Framboesa	8,06±0,00	3,04±0,05	0,48±0,00	1,62·10 ⁻⁵ ±2,50·10 ⁻⁶
Uvaia	7,41±0,02	2,91±0,07	1,89±0,03	1,75·10 ⁻⁵ ±1,46·10 ⁻⁶
Uva	14,22±0,01	3,29±0,04	0,54±0,01	1,04·10 ⁻⁵ ±1,61·10 ⁻⁶
Cacau	12,25±0,01	3,52±0,02	0,89±0,02	1,25·10 ⁻⁵ ±1,52·10 ⁻⁶
Coco	2,81±0,02	4,67±0,01	0,19±0,00	7,30·10 ⁻⁶ ±2,47·10 ⁻⁷
Kiwi	13,04±0,00	3,27±0,00	1,52±0,03	1,14·10 ⁻⁵ ±2,35·10 ⁻⁶
Cajá	9,26±0,00	2,77±0,03	0,88±0,02	1,36·10 ⁻⁵ ±1,40·10 ⁻⁶
Maracujá	12,40±0,01	2,88±0,00	3,86±0,03	6,54·10 ⁻⁶ ±4,11·10 ⁻⁷
Açaí	5,03±0,00	4,21±0,00	0,23±0,01	1,69·10 ⁻⁵ ±2,23·10 ⁻⁶
Grumixama	8,60±0,00	3,58±0,01	0,69±0,01	1,45·10 ⁻⁵ ±1,19·10 ⁻⁶
Amora	9,01±0,01	3,15±0,03	0,51±0,00	1,78·10 ⁻⁵ ±1,39·10 ⁻⁶
Abacaxi	12,04±0,01	3,79±0,07	0,59±0,01	2,83·10 ⁻⁶ ±2,97·10 ⁻⁷
Cambuci	6,60±0,00	2,62±0,04	2,16±0,01	2,13·10 ⁻⁵ ±2,91·10 ⁻⁶
Pitanga	8,07±0,01	3,31±0,03	1,28±0,04	1,56·10 ⁻⁵ ±1,21·10 ⁻⁶
Pêssego	8,03±0,01	3,46±0,04	0,78±0,03	1,80·10 ⁻⁵ ±2,29·10 ⁻⁶
Morango	7,81±0,00	3,38±0,02	0,79±0,00	1,86·10 ⁻⁵ ±1,41·10 ⁻⁶
Jatobá	6,68±0,00	4,38±0,00	0,68±0,03	1,99·10 ⁻⁵ ±2,10·10 ⁻⁶
Acerola	7,61±0,00	3,44±0,01	0,89±0,01	1,86·10 ⁻⁵ ±1,60·10 ⁻⁶
Graviola	11,27±0,01	3,65±0,03	0,83±0,02	1,61·10 ⁻⁵ ±2,02·10 ⁻⁶
Araçá	11,05±0,02	3,50±0,05	1,57±0,03	1,62·10 ⁻⁵ ±2,08·10 ⁻⁶
Seriguela	12,89±0,00	2,90±0,00	0,98±0,04	2,2·10 ⁻⁵ ±1,00·10 ⁻⁶
Manga	13,01±0,01	3,87±0,00	0,62±0,01	8,12·10 ⁻⁶ ±4,71·10 ⁻⁷
Jabuticaba	12,24±0,00	3,07±0,01	0,94±0,02	1,51·10 ⁻⁵ ±1,23·10 ⁻⁶
Tamarindo	17,62±0,00	2,36±0,03	2,85±0,03	7,12·10 ⁻⁶ ±5,99·10 ⁻⁷
Mamão	10,21±0,01	5,05±0,01	0,08±0,00	2,12·10 ⁻⁵ ±2,05·10 ⁻⁶
Cupuaçu	10,60±0,01	3,35±0,02	2,11±0,06	1,41·10 ⁻⁵ ±1,26·10 ⁻⁷
Maçã	12,04±0,02	3,78±0,00	0,33±0,00	8,95·10 ⁻⁶ ±4,41·10 ⁻⁷
Jaca	23,81±0,00	4,82±0,01	0,57±0,01	8,46·10 ⁻⁶ ±5,36·10 ⁻⁷
Umbu	6,80±0,00	2,36±0,04	1,65±0,03	2,95·10 ⁻⁵ ±1,04·10 ⁻⁶
Goiaba	6,03±0,00	4,03±0,00	0,76±0,01	1,78·10 ⁻⁵ ±2,03·10 ⁻⁶
Panã	17,06±0,00	4,39±0,00	0,55±0,00	2,86·10 ⁻⁵ ±3,02·10 ⁻⁶
Murici	6,67±0,00	3,73±0,00	1,07±0,04	1,61·10 ⁻⁵ ±1,45·10 ⁻⁶
Garcinia	7,21±0,01	2,79±0,03	1,60±0,03	2,17·10 ⁻⁵ ±2,73·10 ⁻⁶
Buriti	7,02±0,01	3,62±0,01	0,46±0,00	2,00·10 ⁻⁵ ±1,69·10 ⁻⁶

*Quantificação de pectina é expressa como produto insaturado (M).

A caracterização representa importantes parâmetros que devem ser levados em consideração em relação a qualidade das polpas. Estes devem respeitar a legislação vigente estabelecida pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento (BRASIL, 2000), que regulamenta os padrões de identidade e qualidade para as polpas de frutas. No entanto, esta legislação não engloba os parâmetros de todas as polpas de frutas analisadas nesta pesquisa e isso se deve ao fato de que muitas frutas, como as do cerrado brasileiro, tiveram maior reconhecimento da população e comercialização apenas nos últimos anos.

Comparando os valores obtidos das análises físico-químicas das polpas de frutas com as polpas presentes na legislação, foi verificado que a maioria das polpas apresentaram valores dentro do regulamentado, com exceção das polpas de cacau, goiaba e melão que apresentaram valores de sólidos solúveis um pouco abaixo do padrão, sendo que os valores mínimos para essas polpas de acordo com a legislação são: 14,00 °Brix para o cacau; 7,00 °Brix para a goiaba e 7,00 °Brix para o melão. Esses resultados indicam qualidade do produto ofertado para o consumidor, uma vez que as marcas estão atendendo as normas.

A pectina consiste em uma família de heteropolissacarídeos complexos, compostos predominantemente de resíduos de ácido galacturônico parcialmente metoxilados (GUO et al., 2012a). Além das proteínas, os polissacarídeos são os principais componentes dos produtos alimentícios e às vezes são usados para controlar a estrutura, textura e estabilidade (CHAN et al., 2017).

Das características físico-químicas das 42 polpas de frutas estudadas, pode-se observar que os valores de pectina seguem a mesma tendência da viscosidade média aparente, determinada pela análise reológica, que será discutida mais adiante na Seção 3.2 deste capítulo; ou seja, as amostras com o maior concentração de pectina são as amostras com maior viscosidade. Assim, pode-se dizer que a concentração de pectina influencia os dados reológicos. No entanto, esse comportamento não segue uma relação linear, porque as polpas de frutas são estruturas complexas e outros componentes podem afetar seu comportamento reológico.

Segundo Chan et al. (2017), quando a pectina é razoavelmente diluída em uma solução, as moléculas estão distantes umas das outras, e a interação entre elas é menos provável de ocorrer do que nas soluções concentradas. Consequentemente, a proporção aumentada de moléculas hidratadas pode causar apenas um ligeiro

aumento na viscosidade, devido à distorção no padrão de velocidade do líquido. Por outro lado, quando a concentração de pectina é aumentada, as distâncias intermoleculares entre as moléculas de pectina diminuem, facilitando as interações intermoleculares e, assim, aumentando a viscosidade do fluido. Neste trabalho, a maioria das polpas de frutas com baixa viscosidade (por exemplo, limão, melancia, tangerina, laranja, melão, maracujá, abacaxi e coco) também apresentam menores concentrações de pectina que as demais polpas. Umbu, cambuci, panã e garcinia são exemplos de polpas de frutas com concentrações relativamente mais altas de pectina e uma viscosidade média consideravelmente maior.

Embora as maiores fontes de pectina seja advinda das cascas de frutas cítricas, polpa de maçã e polpa de beterraba (GUO et al., 2012a), a caracterização das polpas de frutas em relação à quantidade de pectina, assim como as outras características físico-químicas (sólidos solúveis, pH e acidez) ajudaram a compreender o comportamento reológico de cada fruta, o que são fatores essenciais no processamento das mesmas, dimensionamento de equipamentos, assim como é de suma importância para possíveis aplicações de subprodutos.

3.2 ESTUDO REOLÓGICO DAS POLPAS DE FRUTAS

Nas curvas de escoamento em regime permanente das 42 polpas diferentes (Figura 15), os símbolos representam a média da tensão de cisalhamento medida para cada taxa de cisalhamento imposta, as barras de erro representam o desvio padrão dos dados experimentais, e as linhas representam o ajuste da equação de Herschel-Bulkley. Os dados são apresentados em quatro faixas de viscosidades (Figura 15 (a – d)) para facilitar a visualização dos resultados. Como pode ser visto, a maioria das polpas são viscoplásticas, o que significa que elas não escoam a menos que a tensão limite de escoamento seja superado (BALMFORTH et al., 2014).

A tensão limite de escoamento é a tensão de cisalhamento mínima necessária para iniciar o escoamento, estando associada à estrutura interna do material que deve ser quebrada (GENOVESE; RAO, 2005; TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005). A tensão limite de escoamento diferencia o comportamento dos materiais, pois os materiais com tensão limite de escoamento exibem uma transição

de um comportamento predominantemente elástico para um comportamento preponderantemente viscoso no limite de escoamento (BAYOD et al., 2007; FERNANDES et al., 2017). As polpas de frutas são exemplos de materiais multifásicos, pois contêm componentes insolúveis em sua composição e, como resultado, a tensão desse tipo de material é caracterizada como estando acima da tensão limite de escoamento (SUN; GUNASEKARAN, 2009).

A tensão limite de escoamento das polpas de frutas é geralmente associada à presença de uma fase dispersa (CANTU-LOZANO et al., 2000). No entanto, o efeito do tamanho das partículas na tensão limite de escoamento das polpas de frutas parece divergir, dependendo da natureza da polpa (LEITE et al., 2014). Para as polpas de tomate, por exemplo, partículas menores levam a um aumento na tensão limite de escoamento (AUGUSTO et al., 2012). Para outras polpas, como as polpas de maçã (SCHIJVENS et al., 1998) e de abacaxi (SILVA et al., 2010), a diminuição do tamanho das partículas resulta em uma resistência relativamente menor ao fluxo e, portanto, ao declínio na tensão limite de escoamento. Uma explicação plausível para esse fenômeno é apresentada por Moelants et al. (2014); ou seja, enquanto partículas menores tendem a aumentar as interações entre as partículas e assim, aumentar a tensão limite de escoamento (YOO; RAO, 1994), partículas maiores tendem a se agrupar, ocupando mais espaço devido ao empacotamento ineficiente das partículas, o que pode aumentar a tensão limite de escoamento do material (QUEMADA, 1999).

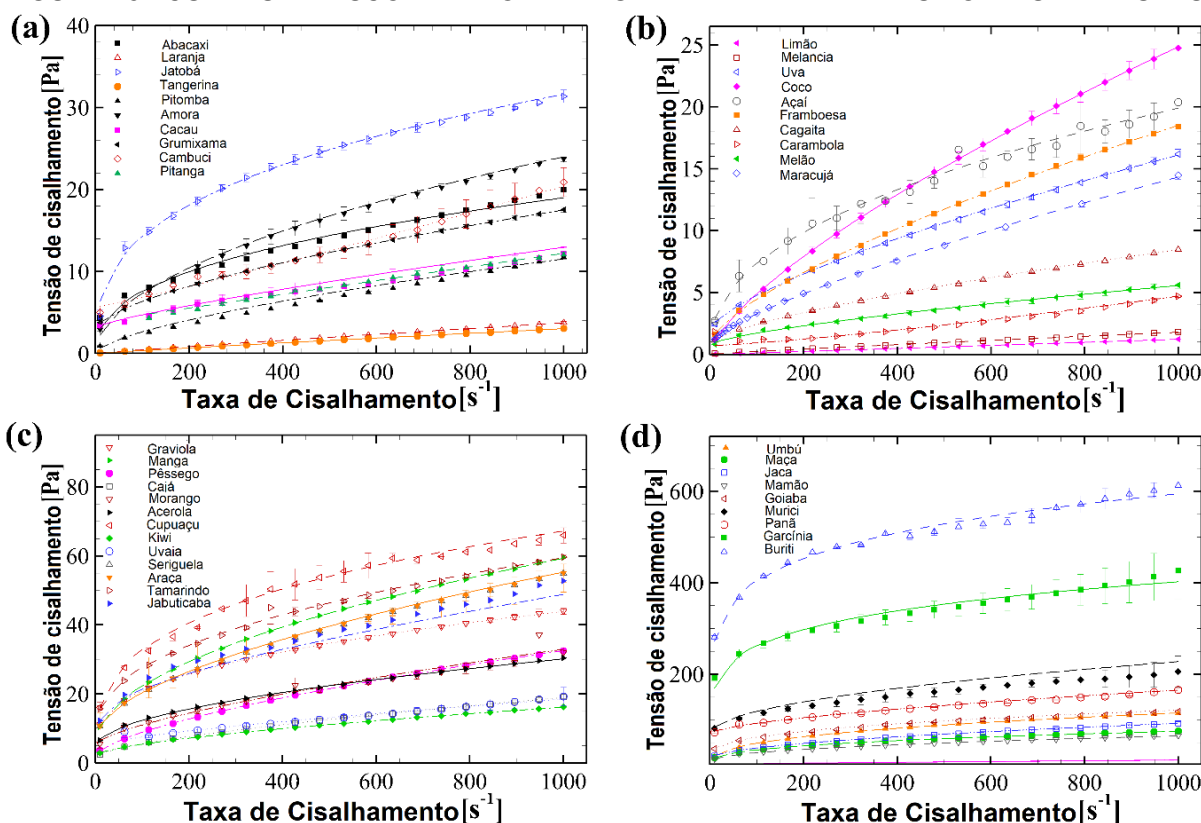
A viscosidade aparente das polpas, dada pela Equação (8), pode ser tomada como a inclinação das curvas tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento, a cada taxa de cisalhamento avaliada.

$$\eta = \tau/\dot{\gamma} \quad (\text{Equação 8})$$

Para a maioria das polpas estudadas, a viscosidade aparente não é constante em toda a faixa de taxas de cisalhamento avaliadas (Figura 15). Esta observação indica que a equação de Herschel-Bulkley é de fato o modelo adequado para ajustar o comportamento reológico das polpas, uma vez que considera tanto a tensão inicial quanto a resposta não linear das curvas de escoamento. Segundo Moelants et al. (2014), a viscosidade das polpas depende da concentração de partículas dispersas (MEWIS; WAGNER, 2012). O comportamento pseudoplástico das polpas pode ser

explicado pela quebra gradual da estrutura (DESHPANDE et al., 2010), formada pelas interações entre as partículas e entre as fases contínua e dispersa.

FIGURA 15 - CURVAS DE ESCOAMENTO EM REGIME PERMANENTE DAS POLPAS DE FRUTAS.



As médias dos dados de cada leitura foram ajustadas nos parâmetros de Herschel-Bulkley ($\bar{\tau}_0$, \bar{k} e \bar{n}), assim como a média dos coeficientes de correlação dos ajustes, \bar{R}^2 e o desvio padrão dos parâmetros (Tabela 9). A média da viscosidade aparente $\bar{\eta}$ (também mostrada na Tabela 9) pode ser calculada de acordo com a Equação 9, em que m é o número de diferentes taxas de cisalhamento avaliadas, e η_i é a viscosidade aparente medida para cada taxa de cisalhamento. A viscosidade aparente média $\bar{\eta}$ não é um parâmetro físico e serve apenas como referência para comparar a viscosidade média das polpas de frutas.

$$\bar{\eta} = \frac{\sum_{i=1}^m \eta_i}{m} \quad (\text{Equação 9})$$

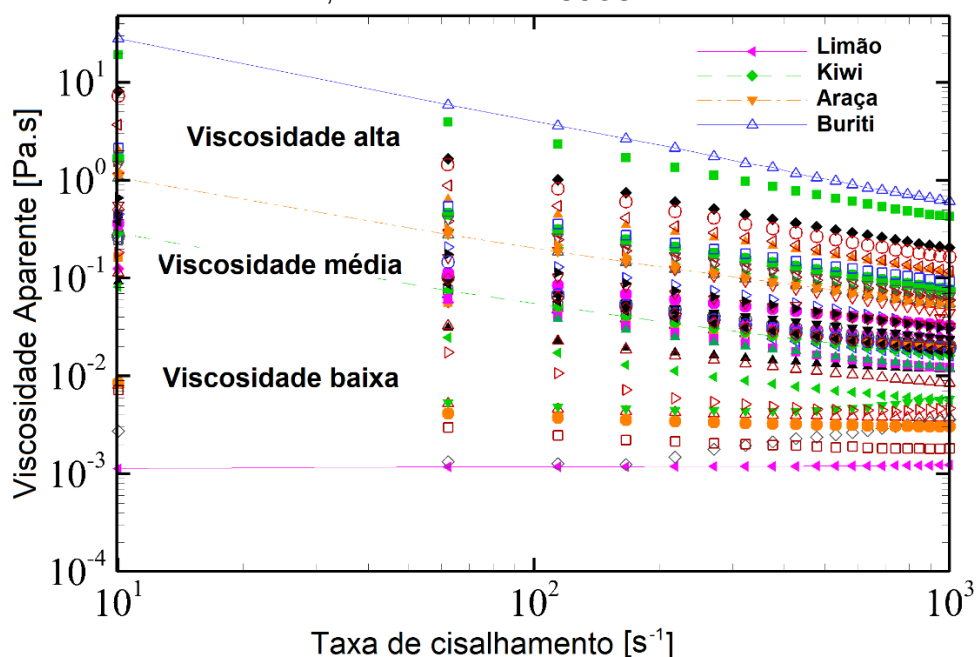
TABELA 9 - MÉDIAS E DESVIO PADRÃO DOS PARÂMETROS DE HERSCHEL-BULKLEY AJUSTADOS ÀS POLPAS DE FRUTAS.

Polpas de frutas	$\bar{\tau}_0$ [Pa]	\bar{k} [Pa.s ⁿ]	\bar{n} [-]	\bar{R}^2	$\bar{\eta}$ [Pa.s]	Faixa de viscosidade
Limão	0,000 ± 0,000	0,001 ± 0,000	0,991 ± 0,008	1,000	0,001	Viscosidade Baixa
Melancia	0,000 ± 0,000	0,004 ± 0,893	0,893 ± 0,014	0,999	0,002	
Tangerina	0,000 ± 0,000	0,005 ± 0,926	0,926 ± 0,002	1,000	0,004	
Laranja	0,000 ± 0,000	0,043 ± 0,630	0,630 ± 0,051	0,980	0,004	
Melão	0,807 ± 0,041	0,033 ± 0,719	0,719 ± 0,011	0,997	0,013	
Carambola	0,502 ± 0,012	0,004 ± 0,000	0,990 ± 0,006	0,974	0,015	
Cagaita	0,908 ± 12,295	0,062 ± 0,696	0,696 ± 0,020	1,000	0,018	
Pitomba	0,064 ± 0,091	0,128 ± 0,650	0,650 ± 0,068	0,989	0,019	
Framboesa	1,002 ± 0,070	0,133 ± 0,707	0,707 ± 0,001	1,000	0,033	
Uvaia	2,560 ± 3,560	0,523 ± 0,530	0,530 ± 0,116	0,964	0,036	
Uva	2,046 ± 0,187	0,101 ± 0,715	0,715 ± 0,017	1,000	0,036	
Cacau	3,213 ± 0,136	0,035 ± 0,813	0,813 ± 0,110	0,994	0,037	
Coco	0,245 ± 0,125	0,164 ± 0,725	0,725 ± 0,003	1,000	0,037	
Kiwi	2,284 ± 0,117	0,160 ± 0,646	0,646 ± 0,003	1,000	0,040	
Cajá	1,910 ± 0,096	0,160 ± 0,676	0,676 ± 0,016	0,999	0,040	
Maracujá	0,883 ± 0,037	0,075 ± 0,752	0,752 ± 0,005	1,000	0,045	
Açaí	0,467 ± 0,088	0,856 ± 0,452	0,452 ± 0,016	0,989	0,047	
Grumixama	2,973 ± 0,034	0,180 ± 0,636	0,636 ± 0,001	1,000	0,048	
Amora	0,981 ± 0,587	0,498 ± 0,562	0,562 ± 0,065	0,999	0,051	
Abacaxi	0,000 ± 0,000	1,194 ± 0,400	0,400 ± 0,002	0,974	0,056	
Cambuci	5,217 ± 0,235	0,015 ± 1,104	0,996 ± 0,020	0,998	0,056	
Pitanga	3,882 ± 0,668	0,008 ± 0,001	0,988 ± 0,011	0,996	0,063	
Pera	1,991 ± 0,138	0,348 ± 0,648	0,648 ± 0,004	1,000	0,065	
Morango	5,429 ± 0,733	0,226 ± 0,695	0,695 ± 0,045	0,996	0,080	
Jatobá	0,000 ± 0,000	2,878 ± 0,347	0,347 ± 0,022	0,995	0,083	
Acerola	4,660 ± 0,063	0,684 ± 0,524	0,524 ± 0,002	0,999	0,087	
Graviola	4,527 ± 0,382	2,767 ± 0,384	0,384 ± 0,009	1,000	0,140	
Araçá	7,524 ± 1,006	0,906 ± 0,574	0,574 ± 0,039	0,999	0,145	
Seriguela	7,524 ± 1,006	0,906 ± 0,574	0,574 ± 0,039	0,999	0,145	Viscosidade Alta
Mango	5,061 ± 0,274	1,713 ± 0,500	0,500 ± 0,006	1,000	0,154	
Jabuticaba	6,966 ± 3,718	2,880 ± 0,488	0,488 ± 0,261	0,990	0,157	
Tamarindo	8,545 ± 1,892	2,633 ± 0,429	0,429 ± 0,012	0,999	0,193	
Mamão	8,067 ± 0,638	2,465 ± 0,455	0,455 ± 0,014	0,999	0,193	
Cupuaçu	3,732 ± 5,277	6,147 ± 0,352	0,352 ± 0,084	0,996	0,212	
Maçã	3,588 ± 0,022	5,660 ± 0,367	0,367 ± 0,006	1,000	0,229	
Jaca	15,376 ± 1,970	2,083 ± 0,523	0,523 ± 0,025	0,999	0,274	
Umbú	0,000 ± 0,000	8,806 ± 0,372	0,372 ± 0,001	0,999	0,313	
Goiaba	18,697 ± 7,692	7,802 ± 0,373	0,373 ± 0,048	0,997	0,426	
Panã	70,272 ± 1,478	1,234 ± 0,629	0,629 ± 0,055	0,991	0,713	
Murici	67,921 ± 12,295	5,088 ± 0,499	0,499 ± 0,134	0,988	0,833	
Garcinia	158,682 ± 50,021	18,994 ± 0,441	0,441 ± 0,210	0,978	1,909	
Buriti	122,850 ± 64,738	97,129 ± 0,241	0,241 ± 0,070	0,988	2,848	

NOTA: τ_0 [Pa]: tensão limite de escoamento extrapolada (tensão inicial); k [Pa.sⁿ]: coeficiente de consistência; n [-]: índice de comportamento; R^2 : coeficiente de determinação; η : viscosidade aparente.

A viscosidade aparente média das polpas de frutas variou de 0,001 a 2,848 Pa.s. Portanto, as polpas de frutas foram classificadas em três faixas de viscosidade: polpas de baixa viscosidade ($\bar{\eta} \leq 0,040$ Pa.s), polpas de média viscosidade ($0,040 < \bar{\eta} \leq 0,145$ Pa.s) e polpas de alta viscosidade ($0,145 < \bar{\eta} \leq 2,848$ Pa.s). A organização das polpas de frutas nessas três regiões de viscosidade fornece um banco de dados do comportamento reológico das polpas de frutas, que podem ser usadas para projetar equipamentos e tubulações para o processamento de polpas de frutas. Além disso, a Figura 16 apresenta a viscosidade em função da taxa de cisalhamento das polpas dos frutos, indicando os três faixas de viscosidade delimitados pelas polpas de limão, carambola, seriguela e buriti.

FIGURA 16 - A VISCOSIDADE APARENTE EM FUNÇÃO DA TAXA DE CISALHAMENTO DAS POLPAS DE FRUTAS COMO LIMÃO, KIWI, ARAÇÁ E BURITI, LIGOU AS REGIÕES DE BAIXA, MÉDIA E ALTA VISCOSIDADE.



3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA

A aplicação da quimiometria na Ciência e Tecnologia de Alimentos é uma ferramenta importante para avaliar semelhanças ou diferenças entre um grande número de amostras e projetá-las em um plano de fator bi/tridimensional baseado em

várias características (GRANATO et al., 2018). A análise multivariada foi realizada com dados de pectina e sólidos solúveis, a fim de avaliar a influência de cada um sobre o comportamento reológico das amostras estudadas neste trabalho, uma vez que as polpas se comportam como fluidos não-newtonianos como resultado de interações complexas entre solúveis e sólidos suspensos e substâncias pécticas (HAMINIUK et al., 2006).

Para a análise De CCSWA, os dados foram divididos em duas tabelas: reologia e físico-química. Dois CCs foram suficientes para acumular 99,51% da variância dos dados contidos nas duas tabelas (CC1 = 58,05% e CC2 = 41,46%). As protuberâncias de cada CC, correspondendo à contribuição de cada tabela de dados na separação da amostra, também foram fornecidas (Tabela 10).

TABELA 10 - SALIÊNCIAS / PESO ESPECÍFICO DE CADA CONJUNTO DE DADOS DE ACORDO COM O COMPONENTE COMUM CC1 A CC5.

Tabela de dados	CC1	CC2	CC3	CC4	CC5
Reologia	0,007	0,904	0,088	$9,901 \cdot 10^{-7}$	$4,512 \cdot 10^{-9}$
Físico-química	0,946	$3,539 \cdot 10^{-5}$	0,001	0,043	0,010

As saliências mostram que CC1 tem a maior contribuição da tabela com os dados físico-químicos e o CC2 da tabela com os dados de reologia. O fato de as tabelas não apresentarem simultaneamente projeções elevadas no mesmo CC indica que as informações contidas em cada tabela são complementares e não correlacionadas. Essa afirmação é confirmada pelas baixas correlações entre as variáveis das duas tabelas.

Com base nos *loadings* (Figura 17A) para cada tabela de dados, é possível verificar que a análise de sólidos solúveis foi a principal responsável pela distribuição das amostras em CC1. Além disso, os *scores* do CC1 (Figura 17B) permitem visualizar quais amostras foram destacadas, de acordo com a importância obtida na distribuição. As polpas de tangerina, laranja, tamarindo, jaca e panã apresentaram valores de CC1 consideravelmente superiores às demais polpas (Figura 18), devido ao alto valor de sólidos solúveis, o que significa que essas polpas possuem grande quantidade de açúcares naturais em sua composição. Em contraste, as amostras com

valores comparativamente mais baixos de sólidos solúveis, como coco, limão e açaí, foram colocadas na parte negativa da distribuição CC1.

As cargas de CC2 (Figura 17C), em que as amostras foram distribuídas principalmente em função dos dados reológicos, verificaram que a tensão limite de escoamento foi o principal parâmetro responsável pela distribuição das amostras no CC2. Esse parâmetro está diretamente relacionado à pressão em tubulações necessária para iniciar o escoamento de cada produto (NEGRÃO et al., 2011), fundamental para o dimensionamento de tubulações industriais.

Os escores amostrais, representando a importância de cada amostra na distribuição CC2 (Figura 17D), demonstraram que as polpas de garcinia, panã e buriti apresentaram maiores escores CC2 do que as demais, devido à sua tensão limite de escoamento ser consideravelmente maior quando comparadas às demais polpas. Esse resultado aconteceu porque essas frutas nativas, possuem polpas com partículas maiores e fibrosas, levando a polpas comerciais substancialmente mais viscosas que as demais. A baixa tensão inicial das outras polpas em relação à garcinia, panã e buriti, explica porque essas amostras não se destacaram na distribuição das amostras e, em vez disso, foram agrupadas no mesmo grupo na distribuição CC2 (Figura 18).

FIGURA 17 - SCORES E LOADINGS DA ANÁLISE DE CCSWA (A - B) DE DADOS FÍSICO-QUÍMICOS E (C - D) REOLÓGICOS.

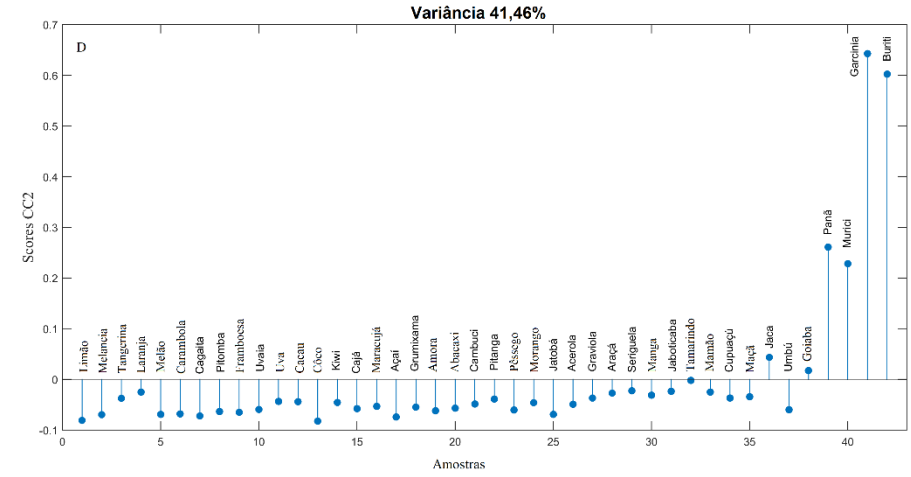
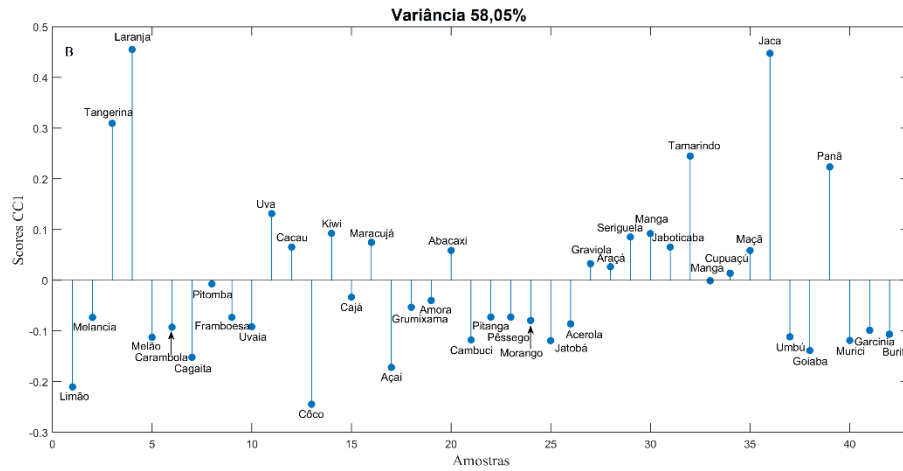
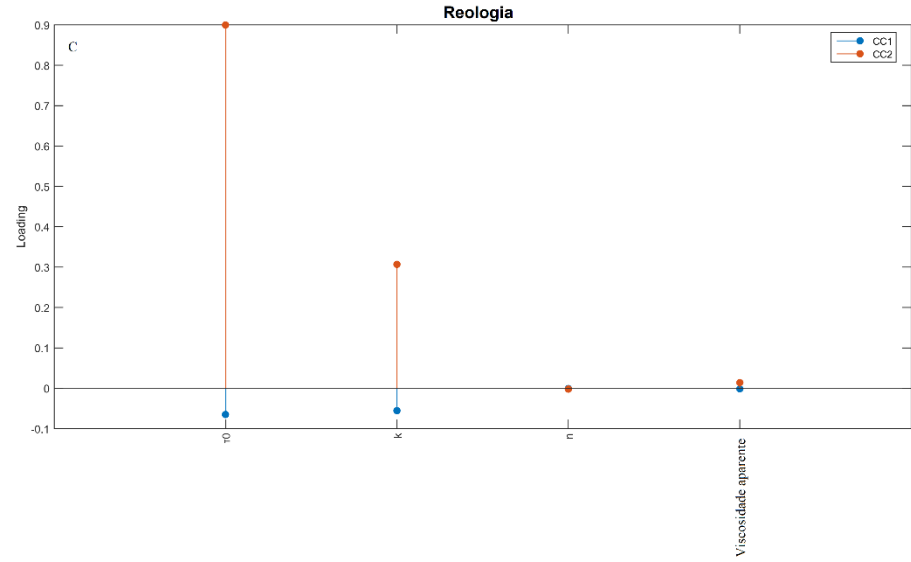
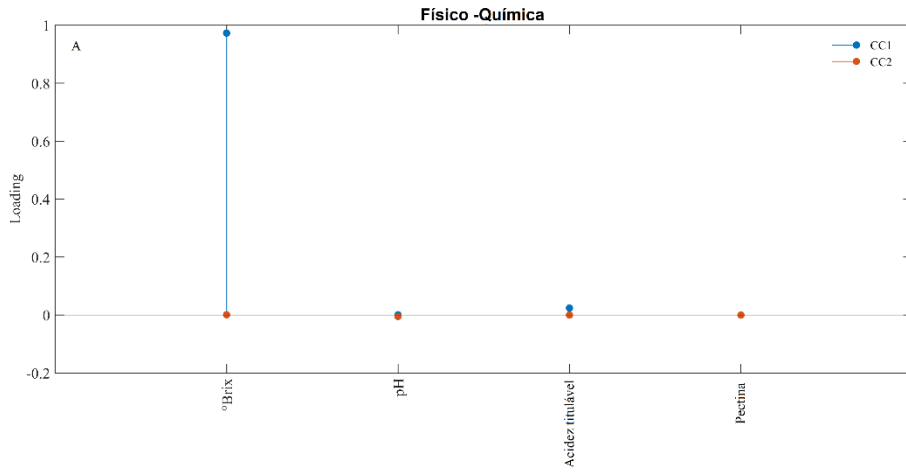
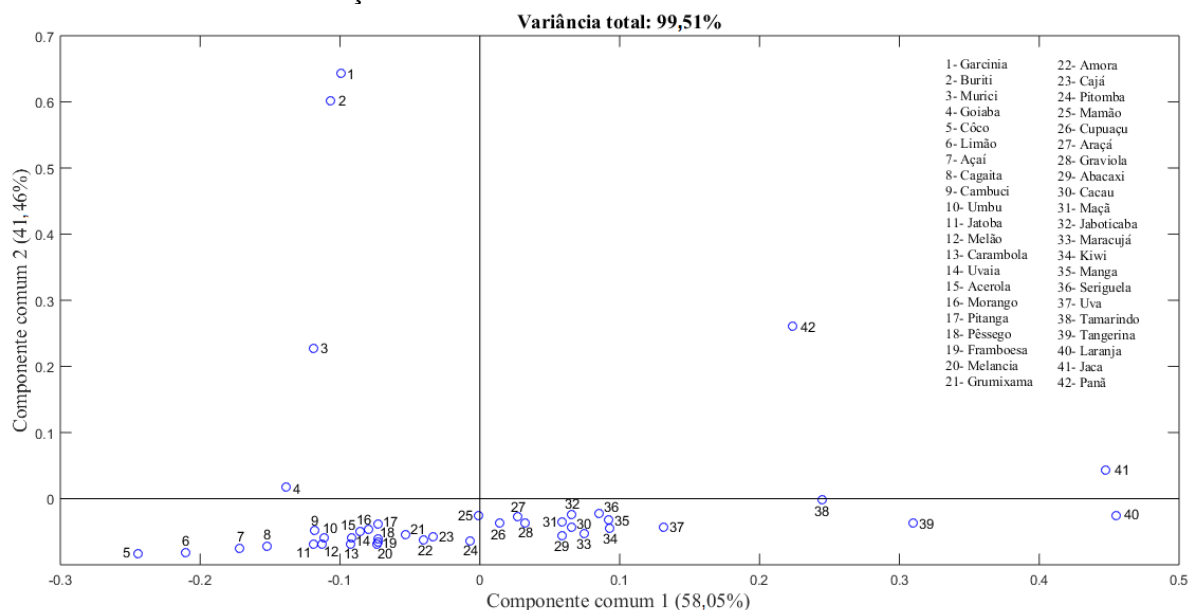


FIGURA 18 - DISTRIBUIÇÃO DE AMOSTRAS DE ACORDO COM CCSWA EM CC1 E CC2.

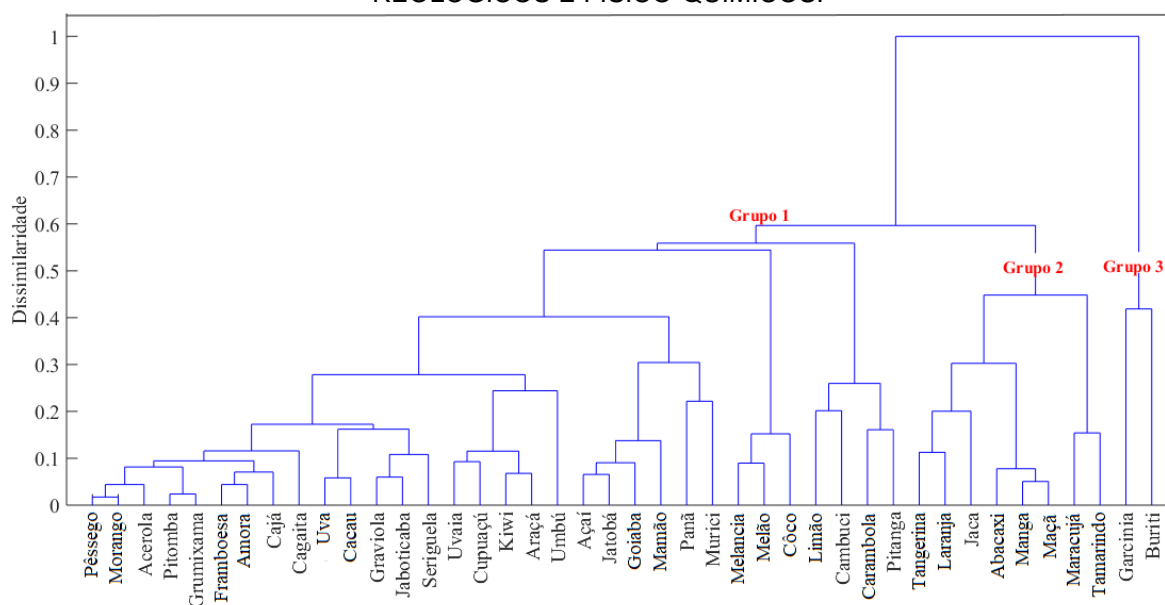


A análise CCSWA distribui as amostras em um espaço bidimensional, de acordo com características semelhantes, dando igual importância a todas as tabelas de dados. Assim, este método destaca-se entre outros métodos existentes de análise estatística multivariada, conforme demonstrado por Bouhleb et al. (2018) e Kassouf et al. (2013), que avaliaram diferentes tipos de métodos, como análise de componentes principais e análise de componentes independentes. A CCSWA foi recentemente utilizado no campo da Engenharia de Alimentos e mostrou-se eficaz na discriminação de amostras de acordo com as características mais relevantes (BOUHLEL et al., 2018; RAMPAZZO et al., 2018). Além disso, informações pertinentes foram extraídas da matriz de dados, com base em um método de critério de otimização original, para produzir resultados complementares aos obtidos a partir da análise (BOUHLEL et al., 2018; RAMPAZZO et al., 2018).

A análise de agrupamento com dados reológicos e físico-químicos foi representada em um dendrograma construído a partir da matriz de dissimilaridades dos componentes (Figura 19). As amostras foram agrupadas em três grupos principais de acordo com suas semelhanças. O grupo 1, que contém a maioria das amostras, não conseguiu uma boa separação de acordo com as características, pois representam as polpas com valores intermediários de todos os parâmetros avaliados. O grupo 2 associou as amostras com sólidos solúveis elevados (12,0 a 24,0 °Brix), que também apresentaram baixas concentrações de pectina ($3,15 \times 10^{-6}$ - $8,95 \times 10^{-6}$

M). O grupo 3 apresentou uma diferença de 100% quando comparado com os demais grupos, corroborando com a análise de CCSWA, conforme demonstrado pelos escores CC1 e CC2 (Fig. 3B e 3D), pois essas amostras apresentaram alto teor de sólidos solúveis e tensão limite de escoamento. Ao analisar outras subdivisões, é possível destacar alguns agrupamentos, como as amostras de pessegueiro e morango, que mostraram pontuações semelhantes na análise do CCSWA.

FIGURA 19 - ANÁLISE HIERÁRQUICA DE AGRUPAMENTOS (HCA) APLICADA A DADOS REOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS.



O uso de análise estatística multivariada por método multi-bloco e HCA permite uma melhor visualização de possíveis correlações entre as análises, contribuindo para melhorar os processos industriais. Além disso, a abordagem pode ser adaptada a vários tipos de materiais, o que é de suma importância quando se lida com matérias-primas que apresentam variações substanciais, como as polpas de frutas.

4. CONCLUSÕES

Este estudo forneceu informações criteriosas sobre características importantes para processos industriais por meio de análises físico-químicas realizadas em 42 polpas de frutas, incluindo amostras não relatadas na literatura, como as frutas nativas brasileiras. Essas características podem influenciar o comportamento reológico das polpas de frutas, conforme verificado pela análise estatística. Os atributos reológicos relatados podem servir como diretriz para o dimensionamento de equipamentos e tubulações responsáveis pelo processamento desses materiais.

Foi evidenciada uma relação entre o teor de sólidos solúveis e a tensão limite de escoamento, representada pelas amostras de garcinia e buriti, que apresentaram escores semelhantes na análise de CCSWA e foram separadas das outras polpas pela análise de HCA. Assim, o teor de sólidos solúveis é a propriedade físico-química que mais influenciou os parâmetros reológicos. No entanto, embora a análise de pectina não tenha tido uma influência marcante na distribuição estatística, também foi observada uma relação entre o teor de pectina e a viscosidade.

A análise CCSWA é ainda uma análise recente utilizada para discriminar dados obtidos por análises laboratoriais em engenharia de alimentos. Contudo, mostrou-se eficiente para o objetivo proposto. Essa abordagem pode ser promissora para trabalhos que possuem uma grande matriz de dados, na qual características relevantes que podem ser usadas para agrupar e classificar amostras são desejadas.

**CAPÍTULO 4: ESTUDO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS, ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE, ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E DIGESTÃO *IN VITRO* DE
10 POLPAS DE FRUTAS NATIVAS E EXÓTICAS**

RESUMO

As polpas de frutas são muito consumidas e possuem diversas aplicações na indústria de alimentos. Consequentemente, estudos sobre seus potenciais antioxidantes, bioacessibilidades e atividades antimicrobianas dos compostos bioativos presentes nas polpas vem crescendo nos últimos anos. Esta pesquisa teve o objetivo de avaliar a concentração fenólica, capacidade antioxidante e microbiana de dez extratos liofilizados de polpas de frutas, como também verificar a bioacessibilidade das amostras por meio da análise de digestão *in vitro*. Para isso, foi determinado a concentração de compostos fenólicos totais (CFT), atividade antioxidante, utilizando ensaios da atividade sequestrante do radical livre por DPPH[•] e ABTS^{•+}, e o ensaio de potencial redutor de ferro por FRAP, além do perfil dos extratos por UPLC-QToF-MS^E. As polpas apresentaram altas concentrações de CFT, variando entre 3604,54 ± 55,45 a 3890,90 ± 254,57 mg EAG/100 g, como também, apresentaram elevada atividade antioxidante nos diferentes métodos, DPPH (108,66 ± 2,26 e 727,85 ± 6,23 μmol TE/g), ABTS (137,01 ± 1,81 e 958,20 ± 8,20 μmol TE/g) e FRAP (161,29 ± 1,00 e 1257,27 ± 1,09 μmol TE/g). Na caracterização dos extratos por UPLC-QToF-MS^E foram identificados uma série de compostos, destacando-se a presença dos ácidos cítrico e quínico, identificados na maioria das amostras. Em geral, a digestão simulada teve um efeito redutor na bioacessibilidade dos compostos superior à 80% em todas as amostras. Com relação a concentração mínima inibitória (CMI), os extratos apresentaram inibição tanto para bactérias gram positivas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*) quanto para gram negativas (*Escherichia coli* e *Salmonella enteritidis*). Embora as polpas de frutas apresentarem elevado potencial antioxidante e antimicrobiano, após a digestão *in vitro* foi verificado que grande parte dos compostos são perdidos neste processo, o que instiga novas pesquisas a buscarem alternativas para melhorar a absorção desses nutrientes no organismo.

Palavras-chave: metabólitos secundários, cromatografia, concentração mínima inibitória, bioacessível.

1 INTRODUÇÃO

O crescimento da conscientização sobre a saúde e a demanda por alimentos nutritivos de alta qualidade como consequência da busca por uma vida mais saudável, vem aumentando nos últimos anos. Muitos estudos se concentraram no conteúdo fenólico e na capacidade antioxidante em espécies de plantas, com o objetivo de compreender seu papel no valor nutricional dos produtos, sua valorização comercial e sua associação à prevenção de doenças degenerativas causadas, principalmente, pelo estresse oxidativo (NEVES et al., 2015).

O consumo frequente de frutas tem sido correlacionado à menor existência e menores taxas de mortalidade de câncer em humanos (DRAGSTED et al., 1993). A prevenção de inflamações, doenças cardiovasculares e distúrbios relacionados ao envelhecimento também podem ser associadas com a ingestão de frutas que são ricas em compostos fenólicos e vitaminas (WILLET, 2001).

Embora a atividade antioxidante de frutas seja amplamente discutida, existe a necessidade de estudos que investiguem o efeito da digestão gastrointestinal nos compostos bioativos. Durante o processo digestivo, apenas uma fração dos compostos presentes na matriz alimentar é extraída e solubilizada, constituindo a fração bioacessível. Daí a importância de testes como a digestão *in vitro*, capaz de simular as condições fisiológicas do processo digestivo humano, incluindo estômago e intestino (JARA-PALACIOSA et al., 2018).

Além de sua atividade antioxidante, os compostos fenólicos existentes nas plantas também podem possuir atividade antimicrobiana (YAKHLEF et al., 2018; PETROPOULOS et al., 2018). Apesar de existir diversos estudos sobre a capacidade antioxidante das frutas, suas propriedades antimicrobianas são pouco abordadas. A capacidade antimicrobiana de uma fruta (ou seus extratos) é de extrema importância, pois apesar de grande quantidade de técnicas de preservação disponíveis, a deterioração dos produtos alimentares por microrganismos ainda é um problema que não foi totalmente controlado (PAZ et al., 2015).

A utilização de polpas de fruta na fabricação de sucos e demais derivados se caracteriza como uma fonte de alto valor nutricional e funcional na dieta (JEDDOU et al., 2017). Desta forma, é de interesse que pesquisas demonstrem o potencial das mesmas em vários aspectos, desde propriedades químicas à antimicrobianas. Até

onde se sabe, nenhum trabalho contemplou todas estas informações em uma mesma pesquisa das polpas utilizadas.

Com base neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar 10 polpas de frutas comerciais, por meio da avaliação da capacidade antioxidante e concentração de fenólicos totais, como também detalhar os compostos fenólicos e ácidos orgânicos por meio da análise em UPLC-QToF-MS^E. Além disso, a atividade antimicrobiana dos extratos fenólicos foi avaliada contra algumas bactérias patogênicas. Para que houvesse uma estimativa da bioacessibilidade das polpas no organismo humano, a análise de digestão *in vitro* foi realizada.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATÉRIA- PRIMA

Neste estudo foram utilizadas 10 espécies de polpas de frutas que apresentaram maiores concentrações de compostos fenólicos totais, de acordo com os resultados mostrados no capítulo 2. Sendo as polpas de açaí (*Euterpe oleracea*), acerola (*Malpighia emarginata*), araçá (*Psidium guineenses*), cambuci (*Paivaea Langsdorffii*), carambola (*Averrhoa carambola*), jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), murici (*Byrsonima verbascifolia*), morango (*Fragaria sp.*), panã (*Annona crassiflora*), e pitanga (*Eugenia uniflora*).

As polpas de frutas foram adquiridas da empresa “Polpa Norte”, localizada na cidade de Campo Mourão (Paraná, Brasil), e do “Sítio do Bello”, em Paraibuna (São Paulo, Brasil). Todas as polpas foram liofilizadas para as análises posteriores.

2.2 PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

As amostras das polpas de frutas foram extraídas na proporção 1:20 (m/v), no qual 1 grama de polpa liofilizada foi transferida para erlenmeyers e adicionados 20 mL

de uma solução álcool etílico P.A. e água destilada, 40:60 (v/v), respectivamente. Em seguida, os erlenmeyers foram colocados em uma incubadora de agitação (Shaker SL 222 - Solab, Piracicaba, SP, Brasil) à 130 rpm por 120 min em 25 °C. Após a extração, as soluções foram transferidas para tubos de falcão e centrifugada a 5000 rpm durante 10 minutos. As frações de sobrenadantes (extratos) foram transferidas para o frascos âmbar e armazenadas sob refrigeração a 5 °C até as análises posteriores.

2.3 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT)

A quantificação dos compostos fenólicos nos extratos foram realizadas conforme o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton e Rossi (1965), com algumas modificações. Em balões volumétricos de 10 mL, foram pipetados 7 mL de água ultrapura, 0,1 mL de extrato de fruta e 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos, foram adicionados 1,5 mL de carbonato de sódio a 20% e o volume foi aferido para 10 mL com água ultrapura. As leituras foram realizadas com um espectrofotômetro (UV M51, BEL Engineering, Monza, MB, Itália) a 765 nm. O ácido gálico foi utilizado em diferentes concentrações (0-500 mg/L) para construir a curva de calibração. Os resultados foram expressos em mg EAG/100 g de polpa seca.

2.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

2.4.1 Atividade sequestrante de radicais livres por DPPH

A determinação da atividade antioxidante nos extratos pelo método DPPH foi baseado no método de Brand-Williams et al. (1995) com algumas modificações. Foram adicionados em tubos de ensaio, 2,75 mL de etanol P.A., 1,75 mL de solução de DPPH e 0,5 mL de extrato, logo após foram mantidos no escuro por 30 minutos.

As leituras foram realizadas com um espectrofotômetro (UV M51, BEL Engineering, Monza, MB, Itália) a 517 nm de absorvância. Etanol P.A. foi utilizado como branco. A curva de calibração de trolox foi construída com concentrações variando de 0 a 400 $\mu\text{mol/L}$. Os resultados foram expressos em μmol de trolox equivalente por 1 g de polpa seca ($\mu\text{mol TE/g PS}$).

2.4.2 Atividade sequestrante de radicais livres por ABTS

A determinação da atividade de inibição do radical ABTS foi realizada conforme Re et al. (1999), com algumas modificações. Foram adicionados 4 mL de solução radical ABTS em 40 μL dos extratos. A mistura permaneceu em repouso no escuro durante 6 minutos à temperatura ambiente. Logo após, foi realizada a leitura em 734 nm. Uma curva padrão de trolox (0-1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$) foi plotada e os resultados foram expressos em μmol de equivalente de trolox por 1 g de polpa seca.

2.4.3 Potencial antioxidante redutor de ferro (ensaio FRAP)

O ensaio FRAP foi realizado de acordo com a metodologia de Thaipong (2006). O reagente FRAP foi preparado por uma mistura de tampão acetato (300 mmol/L, pH 3,6), 10 mmol/L de TPTZ (diluído em 40 mmol/L HCl) e 20 mmol/L de FeCl_3 (10/1/1, v/v/v). Em tubos de ensaio foram adicionados 150 μL do extrato das polpas e 2850 μL do reagente FRAP. Os tubos foram agitados e incubados durante 30 minutos à $37 \pm 1^\circ\text{C}$, e então a absorvância foi determinada a 594 nm. O potencial redutor foi expresso em unidades de μmol de trolox equivalente por 1 g de polpa seca, calculado a partir de uma curva padrão com a concentração variando de 0 a 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de trolox.

2.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A determinação da atividade antimicrobiana foi realizada com extratos fenólicos das polpas de frutas, que foram obtidos de acordo com Item 2.2 deste capítulo. Para as análises, o solvente (álcool etílico) foi evaporado dos extratos em um evaporador rotativo (Fisatom 802, São Paulo, SP, Brasil) sob pressão reduzida a 50 ± 2 °C. Os extratos rotoevaporados voltaram para sua concentração inicial com adição de água destilada e foram filtrados por membranas de 0,45 μm e armazenados em frascos âmbar sobre refrigeração até o momento da análise.

As concentrações mínimas inibitórias (CMIs) foram determinadas por ensaios de microdiluição, de acordo com a metodologia descrita por Wiegand, Hilpert e Hancock (2008). Os ensaios foram realizados em placas de 96 poços com 50 μL de caldo Mueller Hinton (MH) e 50 μL de extrato das polpas de frutas foram adicionados na primeira linha da placa e depois foram realizadas diluições seriadas (1:1) dos extratos em caldo MH. A faixa de concentração obtida para os extratos foi de 100 a 0,19 mg/mL. Em seguida, foram adicionados 50 μL da suspensão bacteriana a $1,0 \times 10^5$ UFC mL⁻¹ em caldo MH ao conteúdo dos poços. As microplacas foram incubadas à 37°C por 20 horas. Os microrganismos testados foram *taphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076).

O CMI foi definida como a menor concentração dos extratos testados que impediram o crescimento microbiano. As bioatividades foram registradas através da coloração rosa nos poços após o uso do corante 10 μL cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio a 0,5% (v/v) em álcool metílico, onde após 30 minutos de reincubação a 37 °C, a leitura foi realizada. Cada placa de teste incluiu controle de crescimento e controle de esterilidade. O antibiótico utilizado como referência foi a amoxicilina (concentração inicial de 64 mg/L).

2.6 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS POR UPLC-QTOF-MS^E

Os experimentos foram realizados em um sistema Acquity UPLC H-Class (Waters Corp., Milford, EUA) equipado com um amostrador automático (Sample Manager FTN, Waters Corp., Milford, EUA), mantido à temperatura ambiente. A coluna utilizada foi uma coluna Acquity UPLC® BEH C18 (50 x 2,1 mm, 1,7 µm), mantida a 40 °C. Um sistema de fase móvel constituído de água (A) e acetonitrila (B) (ambos contendo 0,1% de ácido fórmico e 3 mmol/L de formato de amônio) foi utilizado no modo de eluição gradiente, como se segue: 0- 5 min, 5% de B; 5-13 min, 5% a 95% de B; 17-17,10 min, 95% a 5% de B; 17,10-20 min, 5% B. A vazão utilizada para separação dos compostos foi de 0,4 mL/min e o volume de injeção foi de 5 µL.

O espectro de massa acoplado ao sistema UPLC foi um espectro de massa de quadrupolo-tempo de voo (Xevo G2-S, Waters, Milford, EUA), com uma fonte de ionização *electrospray* operada nos modos positivo e negativo. Os parâmetros da fonte de ionização foram estabelecidos da seguinte forma: tensão do cone: 40 V; voltagem capilar: 3,5 kV. A vazão de gás do cone e dessolvatação foi de 50 L/h e 800 L/h, respectivamente, usando nitrogênio de alta pureza como gás do cone e dessolvatação e argônio como gás de colisão. A temperatura da fonte foi estabelecida em 150 °C e a temperatura de dessolvatação foi ajustada em 500 °C. O procedimento MS^E (que obtém na mesma corrida analítica informações do íon precursor e dos seus respectivos fragmentos) foi conduzido com a energia de baixa colisão de 4 eV e a energia de alta colisão de 20 para 40 eV. Os dados de espectrometria de massa foram coletados em modo de resolução de m/z 50 a 1000. A aquisição de dados ocorreu no modo centroide, usando o software MassLynx™ NT4.1. Para assegurar a precisão da massa durante a experiência de MS^E foi utilizada leucina encefalina como o composto de referência ($[M + H]^+ = 556,2771$ e $[M-H]^- = 554,2615$).

2.7 SIMULAÇÃO DA DIGESTÃO GASTROINTESTINAL *IN VITRO*

As 10 amostras de polpas de frutas foram submetidas ao teste de simulação de digestão gastrointestinal *in vitro*, segundo o método proposto por Gawlik-Dziki et

al. (2009), com pequenas modificações. As amostras foram suspensas em etanol 40% (v/v) e um branco com a mesma solução de etanol também foi submetido ao teste, a fim de descontar possíveis interferências.

Primeiramente o ambiente simulado da etapa gástrica foi preparado ajustando-se o pH das amostras para 1,2 com solução de HCl 5 mol/L e após adicionando 30 mL do fluido gástrico para cada 10 mL de amostra, preparado com 3,2 g/L de pepsina em solução 0,03 mol/L de NaCl. A mistura foi agitada a 150 rpm durante 120 min sob proteção da luz. Posteriormente, para a etapa que simula o ambiente intestinal, ajustou-se o pH para 6,0 adicionando solução de NaHCO₃ 1 mol/L. Em seguida, foram adicionados 5 mL de NaCl 120 mmol/L, 5 mL de KCl mmol/L e 30 mL de fluido intestinal preparado pela dissolução de 0,05 g de pancreatina e 0,3 g de sais biliares para cada 35 mL de solução de NaHCO₃ 0,1 mol/L. A mistura final foi levada para agitação sob as mesmas condições citadas anteriormente, durante 60 min. Finalmente, as soluções foram centrifugadas a 6000 rpm durante 10 minutos e em seguida armazenadas à -20 °C até o momento das análises de CFT e atividade antioxidante por DPPH e ABTS.

As porcentagens de bioacessibilidade foram calculadas pela Equação 10, onde B_F é o valor da fração bioacessível de cada método (após digestão intestinal); T_C é o conteúdo inicial de cada análise (CFT, DPPH e ABTS) antes da digestão (LUCAS-GONZÁLEZ et al., 2018; VELDE et al., 2018).

$$\text{Bioacessibilidade (\%)} = \left(\frac{B_F}{T_C} \right) \times 100 \quad (10)$$

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A concentração de compostos fenólicos totais (CFT) e da capacidade antioxidante por diferentes métodos estão dispostos na Tabela 11.

TABELA 11 - FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE POLPAS DE FRUTAS.

Amostras	CFT (mg EAG/100g)	DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$)	ABTS ($\mu\text{mol TE/g}$)	FRAP ($\mu\text{mol TE/g}$)
Açaí	6166,36 \pm 6,36 ^b	168,89 \pm 6,03 ^d	348,40 \pm 2,44 ^d	321,89 \pm 0,50 ^d
Acerola	13890,90 \pm 254,54 ^a	727,85 \pm 6,23 ^a	958,20 \pm 8,20 ^a	1257,27 \pm 1,09 ^a
Araçá	3604,54 \pm 55,45 ⁱ	108,66 \pm 2,26 ^h	137,012 \pm 1,81 ^h	165,23 \pm 3,09 ^{h, i}
Cambuci	5189,09 \pm 47,27 ^d	229,56 \pm 13,90 ^c	371,60 \pm 6,40 ^c	425,13 \pm 1,77 ^c
Carambola	4983,63 \pm 12,72 ^e	124,55 \pm 6,99 ^g	196,62 \pm 6,21 ^e	202,09 \pm 1,10 ^f
Jabuticaba	5794,54 \pm 61,81 ^c	260,97 \pm 1,08 ^b	387,80 \pm 6,21 ^b	564,45 \pm 8,54 ^b
Morango	4307,27 \pm 61,81 ^g	130,81 \pm 0,72 ^{f, g}	179,21 \pm 0,42 ^f	212,29 \pm 3,74 ^e
Murici	3689,09 \pm 27,27 ⁱ	126,43 \pm 5,67 ^g	158,25 \pm 1,42 ^g	161,29 \pm 1,00 ⁱ
Panã	4558,18 \pm 78,18 ^f	150,13 \pm 0,91 ^e	184,81 \pm 7,61 ^f	178,29 \pm 0,54 ^g
Pitanga	3890,00 \pm 15,45 ^h	138,15 \pm 1,08 ^f	153,61 \pm 6,12 ^g	167,34 \pm 2,25 ^h

NOTA: Todos os valores são média \pm desvio padrão das triplicatas.

Valores na mesma coluna que não seguidos pela mesma letra são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

De maneira geral, os resultados seguiram uma tendência, na qual as amostras que apresentaram maiores concentrações de CFT também apresentaram maior potencial antioxidante. O conteúdo de fenólicos totais variaram de 3604,54 \pm 55,45 à 13890,90 \pm 254,54 mg EAG/100g.

Rufino et al. (2010), que avaliaram 18 frutas, observaram que a polpa de acerola também apresentou conteúdo superior de compostos fenólicos comparado à outras frutas avaliadas, apresentando valor de 10280,00 \pm 77,70 mg EAG/100g. Na mesma pesquisa, os autores quantificaram o conteúdo de vitamina C, onde foi verificado que a acerola possuiu uma quantidade significativamente maior que as demais frutas. Sabe-se que a vitamina C é um composto com grande capacidade antioxidante (Rufino et al., 2010), o que pode explicar o motivo da polpa de acerola ter se destacado, não apenas no conteúdo de CFT, como também nas análises de atividade antioxidante.

Valores superiores de CFT foram obtidos quando comparado à outros autores que avaliaram polpas de frutas em comum com esta pesquisa, como Rufino et al. (2010) que avaliaram as polpas de açaí (3268,00 \pm 527,00 mg EAG/100g), acerola (10280,00 \pm 77,70 mg EAG /100g), jabuticaba (3584,00 \pm 90,90 mg EAG/100g) e murici (2380,00 \pm 104,00 mg EAG/100g) e Paz et al. (2015) que avaliaram as polpas

de açaí ($1808,00 \pm 28,00$ mg EAG/100g) e acerola ($12466,00 \pm 1256,00$ mg EAG/100g). Silva et al. (2014), contudo, apresentou um valor superior para a acerola ($29093,47 \pm 799,68$ mg EAG/100g).

Esta variação de valores ocorre pois a análise de compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu detecta uma grande quantidade de compostos como fenóis, agentes redutores e possíveis quelantes de metais. No entanto, outros compostos interferentes podem ser detectados dependendo da matéria-prima utilizada, como ácido ascórbico, frutose, glicose e sulfitos, como também alguns aminoácidos e proteínas (MEDINA, 2011).

Com exceção das polpas de araçá e murici, as demais polpas apresentaram diferenças significativas entre si pela análise de CFT. No entanto, com base nos valores encontrados é possível verificar que todas as polpas são excelentes fontes de compostos fenólicos, de acordo com os níveis propostos por Vasco et al. (2008), que dividiram em três níveis de acordo com o valor de CFT: (i) baixo, quando o conteúdo de compostos fenólicos é abaixo de 500 mg EAG/100g; (ii) intermediário, quando os valores variam entre 500 e 2500 mg EAG/100g; e (iii) alto, quando os valores são maiores que 2500 mg EAG/100g.

Diferentes métodos de análise de potencial antioxidante devem ser empregados devido ao fato de que cada método responde e quantifica diferentes mecanismos de reação (PRIOR et al., 2005). Das análises realizadas, DPPH e ABTS, possuem o mesmo mecanismo de reação, por meio do sequestro de elétrons (NOIPA et al., 2011). Já na análise de FRAP, a capacidade antioxidante é avaliada a partir da habilidade que o antioxidante apresenta em reduzir o íon Fe (III) do complexo de 2,4,6-tripiridil-triazina-Fe(III) à Fe(II) (BENZIE; STRAIN, 1996).

Quanto à atividade antioxidante, os valores variaram entre $108,66 \pm 2,26$ e $727,85 \pm 6,23$ $\mu\text{mol TE/g}$ para a análise de DPPH, de $137,01 \pm 1,81$ à $958,20 \pm 8,20$ $\mu\text{mol TE/g}$ para ABTS e entre $161,29 \pm 1,00$ à $1257,27 \pm 1,09$ $\mu\text{mol TE/g}$ para FRAP. Nas três análises, a polpa de acerola foi a que apresentou o maior potencial antioxidante, o que corrobora com outras pesquisas que avaliaram diferentes tipos de polpas de fruta, como Rufino et al. (2010) e Paz et al. (2015).

Kang et al. (2012), apresentou valores de $133,40 \pm 11,20$ e $320,30 \pm 23,80$ $\mu\text{mol TE/g}$ na análise de DPPH para duas diferentes espécies de açaí, demonstrando que a espécie é um fator determinante na quantidade de antioxidantes presentes na matriz.

A análise de correlação de Pearson (r) foi realizada entre os resultados obtidos de CFT e capacidade antioxidante. Foi verificado que todas as correlações foram altamente positivas, onde a correlação entre CFT e DPPH apresentou o $r= 0,97$, $p\leq 0,001$; CFT e ABTS com $r= 0,97$, $p\leq 0,001$; CFT e FRAP com $r= 0,93$, $p\leq 0,001$; DPPH e ABTS com $r= 0,97$, $p\leq 0,001$; DPPH e FRAP com $r= 0,96$, $p\leq 0,001$ e ABTS e FRAP com $r= 0,97$, $p\leq 0,001$. Rufino et al. (2010) também apresentou correlações positivas entre CFT ($p\leq 0,05$) e ABTS ($r= 0,92$) e FRAP ($r= 0,89$). Almeida et al. (2011) demonstrou correlação positiva ($p\leq 0,001$) entre as análises de DPPH e ABTS ($r= 0,92$), como também entre as análises de CFT e ABTS (0,94) e DPPH (0,88).

3.2 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS POR UPLC-QTOF-MS^E

Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa de alta resolução tem sido amplamente utilizada para identificar compostos, pois oferece vantagens em termos de sensibilidade e resolução. Apesar da maioria dos compostos presentes nos extratos terem melhor ionização no modo negativo (por exemplo, compostos fenólicos contêm grupos hidroxila e/ou ácido carboxílico adequados à desprotonação), algumas antocianidinas são identificadas principalmente no modo positivo. Desta forma, a análise foi realizada em ambos os modos. Os extratos foram caracterizados quimicamente por UPLC-QToF-MS^E e os resultados estão apresentados na Tabela 12. Além disso, os compostos nos extratos foram identificados de acordo com o comportamento cromatográfico, a precisão da massa e os fragmentos obtidos em alta energia.

Dentre os compostos identificados na acerola, o cianidina 3-ramnosídeo e o pelargonidina 3-ramnosídeo, já foram relatados em estudos anteriores (DELVA; GOODRICH, 2010; RIBEIRO et al., 2018). Estes compostos são representantes de antocianinas, que são reconhecidas por sua atividade antioxidante (RIBEIRO et al., 2018). Os mesmos podem ter sido responsáveis pelo fato desta polpa ser a que apresentou maior conteúdo de CFT e atividade antioxidante. Outro composto pertencente aos flavonóis, a catequina, foi identificada nesta polpa, no entanto os estudos prévios destacam apenas a cianidina 3-ramnosídeo e pelargonidina 3-ramnosídeo como principais compostos identificados nesta matriz.

TABELA 12 - CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS DE POLPAS DE FRUTAS POR UPLC-QTOF-MS^E.

Ordem	TR (min)	Massa exata	m/z (íon precursor)	Íon	m/z (íon fragmentado)	Fórmula elementar de íons prováveis	Erro de massa (mDa)	Identificação	Amostras
1	13,73	180,0422	181,0500	[M+H] ⁺	163,0369; 135,0431	C ₉ H ₈ O ₄	4,9710; -2,7616; 0	Ácido cafeico	Açaí; Araçá; Pitanga
2	8,70	287,0556	287,0556	[M] ⁺	84,9608; 149,0232; 213,0549	C ₁₅ H ₁₁ O ₆ ⁺	-2,4385; -1,0450; 2,7869	Cianidina	Açaí; Acerola; Morango
3	9,10	449,1084	449,1084	[M] ⁺	287,0531	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁ ⁺	0,4453; 0,4453; -0,2227	Cianidina 3-glicosídeo	Açaí; Jabuticaba; Pitanga
4	8,70	433,1129	433,1129	[M] ⁺	287,0518	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₀	-0,2308	Cianidina- 3 ramnosídeo	Acerola
5	10,37	595,1663	595,1663	[M] ⁺	449,1089; 287,0528	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₅ ⁺	4,5365	Cianidina 3-rutinosídeo	Açaí
8	13,70	194,0580	195,0658	[M+H] ⁺	177,1121; 149,0235	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	-3,0758; - 4,6138; -3,0759	Ácido ferúlico	Açaí; Araçá; Panã
9	9,40	271,0600	271,0600	[M] ⁺	-	C ₁₅ H ₁₁ O ₅ ⁺	1,84	Pelargonidina	Acerola
10	8,50	433,1129	433,1129	[M] ⁺	271,0600	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₀	-4,3868; 0,9235	Pelargonidina 3-glicosídeo	Açaí; Morango
11	9,40	417,1186	417,1193	[M] ⁺	271,0500	C ₂₁ H ₂₁ O ₉ ⁺	1,6781	Pelargonidina 3-ramnosídeo	Acerola

12	11,99	579,1709	579,1736	[M] ⁺	271,0600	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₄	4,6618	Pelargonidina 3-rutinosídeo	Açaí
13	9,20	609,1813	609,1821	[M] ⁺	301,0720	C ₂₈ H ₃₃ O ₁₅₊	1,3132	Peonidina 3-rutinosídeo	Açaí
14	7,80	302,0426	303,0503	[M+H] ⁺	229,6521	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	-0,3300; 2,7100	Quercetina	Cambuci
15	8,40	290,0790	289,0712	[M-H] ⁻	151,0374; 125,0251; 123,0436; 245,0812; 203,0696	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	2,4215; -1,0378; 1,0378; -0,6918; -1,7297	Catequina	Acerola; Araçá; Carambola; Morango; Panã
16	0,43	192,0270	191,0192	[M-H] ⁻	85,0289; 87,0083; 111,0080; 129,0185	C ₆ H ₈ O ₇	-0,5235; 0,5235; 2,6175; 0; 1,5705; 2,0940; 1,0470; 1,5705	Ácido cítrico	Açaí; Araçá; Cambuci; Carambola; Jaboticaba; Pitanga; Morango; Panã
17	7,70	326,1001	325,0937	[M-H] ⁻	145,0220	C ₁₅ H ₁₈ O ₈	4,3064	Coumaroil hexosídeo	Morango
18	9,67	302,0062	300,9984	[M-H] ⁻	199,0031; 175,0031; 257,0107	C ₁₄ H ₆ O ₈	0; -1,3289; -0,9967; - 2,3256; -0,3322	Ácido elágico	Araçá; Cambuci; Jaboticaba; Pitanga; Morango
19	9,40	434,0485	433,0407	[M-H] ⁻	300,9966	C ₁₉ H ₁₄ O ₁₂	-1,8474	Ácido elágico pentose	Jaboticaba
20	9,50	448,0641	447,0563	[M-H] ⁻	300,9970	C ₂₀ H ₁₆ O ₁₂	-0,8900	Ácido elágico ramnosídeo	Morango

21	0,80	170,0215	169,0137	[M-H] ⁻	111,0075; 125,0235	C ₇ H ₆ O ₅	-1,7750; - 1,1833; 0,5917; -0,5917; 0	Ácido gálico	Araçá; Cambuci; Jabuticaba; Pitanga; Murici;
22	10,10	448,1005	447,0927	[M-H] ⁻	285,0395	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	0; -2,9076; 0	Caempferol 3- glicosídeo	Jabuticaba; Morango; Murici
23	8,58	594,1584	593,1520	[M-H] ⁻	285,0538	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	2,3603	Caempferol 3- rutinosídeo	Açaí
24	10,60	302,0426	301,0348	[M-H] ⁻	151,0086; 178,8406	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	-0,9966; - 0,3322; -2,3253	Quercetina	Araçá; Pitanga; Murici
25	9,5	478,0747	477,0669	[M-H] ⁻	301,0345	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	-2,1000	quercetina glicoronídeo	Morango
26	9,55	464,0954	463,0877	[M-H] ⁻	301,0327	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₂	-1,9435; 1,2956; 0,8637; 0,8637	Quercetina 3- glucosídeo	Açaí; Acerola; Pitanga; Murici;
27	10,00	448,1005	447,0927	[M-H] ⁻	301,0330	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	-1,5657; -0,8947	Quercetina- ramnosídeo	Jabuticaba; Pitanga
28	9,30	464,0954	463,0866	[M-H] ⁻	301,0327	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	-2,1594	Quercimeritrina	Jabuticaba
29	0,34	192,0634	191,0556	[M-H] ⁻	85,0290; 92,9279; 123,0398	C ₇ H ₁₂ O ₆	0; -3,6639; -1,0468; 0; -4,0826; 0; 1,0468; -2,6170	Ácido quínico	Açaí; Araçá; Cambuci; Carambola; Jabuticaba; Pitanga; Morango; Murici; Panã

30	8,6	448,1005	447,0927	[M-H] ⁻	357,0455	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	4,4733	Orientina	Açaí
31	7,70	578,1424	577,1346	[M-H] ⁻	407,0768; 425,0836; 289,0708	C ₃ H ₂₆ O ₁₂	-0,1732	Procianidina	Carambola
32	9,60	610,1534	609,1456	[M-H] ⁻	463,0874; 301,0356	C ₂₇ H ₃₀ O ₆	-0,3283	Rutina	Murici

Destacaram-se nesta pesquisa, o ácido cítrico e quínico, que foram os compostos identificados na maior parte das frutas, ambos identificados nas polpas de açaí, araçá, cambuci, carambola, jabuticaba, pitanga, morango e panã, sendo que o ácido quínico ainda foi identificado na polpa de murici. Após os compostos citados acima, catequina, ácido elágico e ácido gálico seguem como os compostos mais identificados entre as polpas.

Entre os compostos que vem ganhando cada vez mais atenção dos pesquisadores quanto às suas atividades benéficas a saúde, o ácido elágico destaca-se por ter demonstrado em pesquisas que pode possuir entre outros efeitos, propriedades antimutagênicas, antivirais e antioxidantes (BARCH et al., 1996; PRIYADARCINI et al., 2002; TALCOTT; LEE, 2002).

A polpa de jabuticaba, sendo a segunda amostra que apresentou maior atividade antioxidante nas três análises, destacou-se pela quantidade de compostos identificados, entre eles: cianidina 3-glicosídeo, igualmente reportada no estudo de Morales et al. (2016), assim como o composto fenólico ácido elágico, o flavonoide quercetina 3-ramnosídeo e os ácidos orgânicos cítrico e quínico. Pertencente ao grupo de flavonóis, o caempferol hexosídeo também foi detectado. Calloni et al. (2015), mencionaram ser o primeiro trabalho a detectar a presença de caempferol na jabuticaba. Ácido gálico, composto também identificado nesta polpa, foi reportado pela primeira vez por Reynertson et al. (2006).

As cianidinas e compostos glicosilados fazem parte de uma importante classe dos compostos fenólicos, as antocianinas. Estes compostos foram identificados em diversas polpas como acerola, açaí, jabuticaba, morango e pitanga. Pesquisas tem demonstrado que vários efeitos benéficos à saúde tem sido relacionados a estes compostos, como efeitos no metabolismo de gorduras (TSUDA et al., 2006; GUO et al., 2012b), efeitos antidiabéticos (SASAKI et al., 2007; SCAZZOCCHIO et al., 2011) e até mesmo efeitos anticancerígenos (KATSUBE et al., 2003; DING et al., 2006).

3.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO*

As concentrações mínimas inibitórias (CMI) dos extratos fenólicos das polpas de frutas contra bactérias gram positivas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*) e

gram negativas (*Escherichia coli* e *Salmonella enteritidis*) estão apresentados na Tabela 13.

TABELA 13 - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE POLPAS DE FRUTAS AVALIADOS PELO MÉTODO DE MICRODILUIÇÃO, ATRAVÉS DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (CMI).

Amostras	CMI (mg/mL)			
	Gram-positiva		Gram-negativa	
	<i>S. aureus</i> ^a	<i>B. cereus</i> ^b	<i>E. coli</i> ^c	<i>S. enteritidis</i> ^d
Amoxicilina	0,25	4,00	12,5	1,00
Açaí	100	50	100	100
Acerola	6,25	12,5	25	12,5
Araçá	25	25	12,5	25
Cambuci	6,25	6,25	25	12,5
Carambola	6,25	6,25	25	12,5
Jaboticaba	6,25	6,25	25	25
Morango	6,25	12,5	12,5	12,5
Murici	50	25	25	50
Panã	25	12,5	50	100
Pitanga	6,25	6,25	25	12,5

NOTA: ^a*Staphylococcus aureus*, ^b*Bacillus cereus*, ^c*Escherichia coli*, ^d*Salmonella enteritidis*.

O controle positivo (amoxicilina) apresentou diferentes valores de CMI para as cepas bacterianas utilizadas no estudo, variando de 0,25 mg/L (*S. aureus*) a 12,50 mg/L (*E. coli*). Os extratos fenólicos das polpas de frutas mostraram atividade antimicrobiana contra as bactérias gram positivas e gram negativas testadas, com CMI variando de 6,25 à 100 e 12,5 à 100 mg/mL, respectivamente. O estudo realizado por Paz et al. (2015), também mostrou atividade antimicrobiana (10 a > 400 mg/mL) dos extratos obtidos de oito tipos de polpas de frutas (açaí, acerola, caixa, guava, graviola, manga, abacaxi e tamarindo), contra as bactérias *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* e *Salmonella sp.*

A atividade antimicrobiana de compostos fenólicos está associada com diversos mecanismos, como desestabilização e permeabilização da membrana celular, bloqueio de substratos para o crescimento microbiano através do processo de quelatação de metais e inibição enzimática causada pela ligação de grupamentos

hidroxila de fenólicos com sítios ativos de enzimas microbianas (principalmente ferro e zinco) (CUSHNIE et al., 2007).

Como pode ser observado na Tabela 13, os resultados do CMI mostram que os extratos foram, em sua maioria, efetivos contra as bactérias gram-positivas, comparados aos resultados para a bactéria gram-negativa. De modo geral, as bactérias gram-negativas são mais resistentes aos antimicrobianos de origem vegetal devido à sua membrana externa de lipopolissacarídeo, que restringe a difusão de compostos hidrofóbicos, enquanto é permeável aos nutrientes (OH et al., 2013). Esta membrana tem sido responsável pela incapacidade da indústria farmacêutica de produzir tipos de compostos de amplo espectro, que são igualmente ativos contra bactérias gram-negativas e gram-positivas (OLIVEIRA et al, 2016).

Outros estudos demonstraram que os extratos hidroalcoólicos de plantas e vegetais possuem maior efeito inibitório em bactérias gram-positivas do que negativas (PIRES et al., 2018; TIAN et al., 2018), o que pode ser explicado pela composição de compostos bioativos dos extratos. Tian et al. (2018), reportaram que o número de grupos hidroxila das moléculas pode afetar na atividade antimicrobiana, e por isso, os extratos ricos em elagitaninos e protocianidinas obtiveram alta inibição as bactérias gram-positivas.

Em uma pesquisa realizada por Alves et al. (2013), foi demonstrado que a capacidade antibacteriana dos ácidos fenólicos, depende principalmente da presença do grupo carboxila. No entanto, o padrão de substituição do anel benzeno também poderia influenciar na atividade. Puupponen-Pimia et al. (2001), avaliaram a atividade antimicrobiana de diferentes berries, e demonstraram que os ácidos fenólicos foram mais efetivos sobre bactérias gram-negativas, o que poderia explicar o fato das polpas de morango e araçá terem apresentado alta inibição nesse tipo de bactéria, pois como obtido na análise de UPLC-QToF-MS^E, foram detectados nestas polpas a presença de alguns ácidos como os ácidos quínico, elágico, cítrico e gálico.

Ainda na pesquisa de Puupponen-Pimia et al. (2001), foi demonstrado que as antocianidinas apresentaram alta inibição à *E.coli*, o que também foi obtido pela polpa de morango, que possui em sua composição entre outros compostos, cianidina e pelargonidina 3-glucosídeo, o que pode ajudar a explicar o porquê desta polpa ter apresentado alta inibição em ambas as bactérias gram-negativas testadas.

A análise da atividade antimicrobiana contra ambos os tipos de bactérias gram pode indicar a presença, na composição das polpas de frutas, de um amplo espectro

de compostos bioativos com propriedades antimicrobianas (GULLON et al., 2016). A maioria dos estudos sobre atividades antimicrobiana e antioxidante atribui a atividade antimicrobiana ao conteúdo de fenólicos dos extratos e, assim, estabelece uma relação direta entre as duas atividades (BARBOSA-PEREIRA et al., 2014; BOUHLALI et al., 2016).

3.4 DIGESTÃO *IN VITRO*

As alterações na bioacessibilidade dos compostos fenólicos, como também a atividade antioxidante das polpas durante o teste de digestão *in vitro* também foram determinadas. Os valores obtidos das frações bioacessíveis das etapas gástrica e intestinal de cada análise são apresentados na Tabela 14.

TABELA 14 - FRAÇÕES BIOACESSÍVEIS DE CFT, DPPH E ABTS DAS ETAPAS GÁSTRICAS E INTESTINAL.

Amostras	CFT (mg EAG/100g)		DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$)		ABTS ($\mu\text{mol TE/g}$)	
	Depois da fase gástrica	Depois da fase intestinal	Depois da fase gástrica	Depois da fase intestinal	Depois da fase gástrica	Depois da fase intestinal
Açaí	4204,66 \pm 166,00	1055,50 \pm 56,50	110,31 \pm 1,81	4,20 \pm 0,02	844,80 \pm 4,26	40,53 \pm 5,86
Acerola	8305,33 \pm 406,66	2076,66 \pm 84,66	179,77 \pm 4,80	22,01 \pm 0,17	924,80 \pm 2,13	94,13 \pm 8,00
Araçá	1869,66 \pm 84,33	513,83 \pm 11,50	80,88 \pm 2,10	4,15 \pm 0,07	523,20 \pm 14,40	37,60 \pm 33, 86
Cambuci	2533,66 \pm 150,33	779,16 \pm 24,83	145,25 \pm 1,02	4,22 \pm 0,12	698,66 \pm 11,73	53,33 \pm 12,80
Carambola	2746,00 \pm 23,33	790,16 \pm 1,83	89,30 \pm 0,02	4,37 \pm 0,09	685,33 \pm 0,53	21,86 \pm 19,20
Jabuticaba	3300,00 \pm 286,00	911,83 \pm 108,16	114,27 \pm 0,56	4,28 \pm 0,03	601,06 \pm 154,13	71,73 \pm 8,26
Morango	1978,00 \pm 76,66	722,83 \pm 58,16	103,52 \pm 0,17	4,73 \pm 0,68	644,26 \pm 54,40	42,93 \pm 7,73
Murici	1787,33 \pm 24,00	597,33 \pm 24,33	84,49 \pm 1,44	5,45 \pm 0,06	571,73 \pm 14,93	36,80 \pm 3,73
Panã	2165,66 \pm 27,66	548,83 \pm 31,66	76,67 \pm 3,66	5,44 \pm 0,01	453,33 \pm 64,00	28,00 \pm 25,33
Pitanga	1916,33 \pm 70, 33	641,16 \pm 83,33	99,62 \pm 1,85	3,84 \pm 0,28	598,40 \pm 2 5,60	30,66 \pm 29,06

Foi possível verificar pelos resultados apresentados que houve uma considerável redução dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante durante o processo de digestão, tanto na etapa gástrica quanto na intestinal.

A perda de compostos fenólicos durante a digestão simulada pode ter sido ocasionada principalmente por causa das condições alcalinas encontradas no intestino. O pH do ambiente intestinal e a ação dos sais biliares podem causar alterações nas estruturas químicas, resultando em novos compostos com diferentes biodisponibilidades e atividades biológicas (KOEHNLEIN et al., 2016). Esse fato já foi observado anteriormente, onde foi relacionado que a digestão *in vitro*, em particular a digestão pancreática, causou uma diminuição dos valores de antocianina e resveratrol em vinho tinto, uva vermelha, romãs, morangos e framboesas (PÉREZ-VICENTE et al., 2002; GIL-IZQUIERDO et al., 2002).

Outras possibilidades que justificariam as perdas de fenólicos seriam interações com outros compostos dietéticos como fibras, proteínas, carboidratos e minerais (LUCAS-GONZÁLEZ et al., 2018), como também reações químicas, principalmente oxidação e polimerização, proporcionando a formação de outros derivados fenólicos, tais como chalconas (GIL-IZQUIERDO et al., 2002) ou ainda, mudanças nas estruturas devido à ação enzimática e conseqüentemente na sua solubilidade (KROLL et al., 2003).

Na Tabela 15 é possível visualizar a bioacessibilidade de cada amostra; ou seja, o quanto os compostos estão disponíveis para serem absorvidos pelo intestino, após passar pelo processo de digestão, representado nesta pesquisa pelas análises de CFT e capacidade antioxidante por DPPH e ABTS.

TABELA 15 - PORCENTAGEM DE BIOACESSIBILIDADE DOS CFT, DPPH E ABTS.

Amostras	Bioacessibilidade (%)		
	CFT	DPPH	ABTS
Açaí	14,398	2,264	7,599
Acerola	13,742	2,973	8,356
Araçá	9,603	3,477	17,184
Cambuci	11,784	1,676	10,569
Carambola	12,490	3,209	3,972
Jabuticaba	12,842	1,496	14,872
Morango	12,889	3,328	16,114
Murici	11,646	4,011	14,376
Panã	8,362	3,376	7,545
Pitanga	12,172	2,511	10,813

Como observado, apenas uma parcela fica bioacessível ao final do processo. Os valores variaram entre 8,36 à 14,39% para CFT, 1,49 à 4,01% para DPPH e de 3,97 à 17,18% para ABTS.

A polpa de acerola, que foi a amostra com maior quantidade de CFT inicial, apresentou maiores valores comparados as demais nas etapas gástrica e intestinal. No entanto, a perda de compostos ao longo do processo também foi alta, o que fez com que a bioacessibilidade desta polpa ficasse em 13,74%, abaixo da polpa de açaí que apresentou a maior bioacessibilidade (14,39%). O mesmo ocorreu para capacidade antioxidante, onde a amostra de polpa de araçá apresentou bioacessibilidade superior (17,18%), comparado à acerola (8,35%) para a análise de ABTS.

Mesmo com estes valores, é importante salientar que a fração bioacessível dos compostos fenólicos após a fase intestinal continua tendo um valor significativamente alto, comparado à outras matrizes de frutas *in natura* como abacaxi ($197,87 \pm 45,96$ mg EAG 100 g^{-1} polpa seca), banana ($264,08 \pm 22,72$ mg EAG 100 g^{-1} de polpa seca), mamão ($325,97 \pm 64,46$ mg EAG 100 g^{-1} de polpa seca) e maracujá ($378,13 \pm 9,58$ mg EAG 100 g^{-1} de polpa seca) (MORAIS et al., 2015). Isso representa que as matrizes escolhidas nesta pesquisa possuem um alto valor biológico e mesmo após as perdas ocorridas pelo processo de digestão, elas ainda representam boas fontes de compostos bioativos.

Os compostos fenólicos não absorvidos, que permanecem na digestão intestinal, são transportados para o cólon, onde poderiam ser absorvidos pelo epitélio,

liberados e metabolizados pelas bactérias do cólon que poderiam transformar os polifenóis da dieta em compostos fenólicos simples, o que poderia resultar em metabolitos mais biologicamente ativos que os compostos originais (SELMA et al., 2009; CROZIER et al., 2010). Os compostos fenólicos não bioacessíveis, que não passam através da barreira do intestino, podem ter alguns efeitos antioxidantes no intestino delgado, uma vez que são, pelo menos em parte, solúveis no meio digestivo (SAURA-CALIXTO et al., 2007).

Rocchetti et al. (2017), estudaram as mudanças no perfil polifenólico de massas sem glúten após digestão gastrointestinal simulada *in vitro*, incluindo fermentação colônica. Os autores revelaram que a atividade metabólica da microbiota do intestino grosso resultou em grande modificação do perfil do composto fenólico, com degradação de várias classes químicas e formação paralela de novos metabólitos.

A perda dos compostos bioativos ao longo do processo de digestão é um processo natural, no entanto, pesquisas tem buscado alternativas para que haja proteção destes compostos por meio de bioincubação dos compostos em matrizes celulares, como demonstrado por Jilani et al. (2015), que apresentou um aumento superior a 100% na bioacessibilidade dos compostos bioativos de chás por meio da bioincubação em *Saccharomyces cerevisiae*. O mesmo foi obtido por Rubio et al. (2018) que avaliaram a bioincubação dos compostos bioativos do bagaço de uva em *Saccharomyces cerevisiae*, e verificaram um aumento de 21,92% na bioacessibilidade dos compostos após digestão.

Apesar dos testes *in vivo* serem a melhor forma de estimar a bioacessibilidade do alimento no organismo, estes demandam altos custos e longos períodos de observação, por isso, a simulação da digestão *in vitro* apresenta vantagens adicionais em comparação com ensaios *in vivo*, tais como a possibilidade de amostragem em diferentes momentos do processo de digestão, bem como o controle da variabilidade do organismo humano (HERAS et al., 2017).

4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no estudo confirmaram a relação entre compostos fenólicos e capacidade antioxidante. As polpas de açaí, acerola, cambuci e jaboticaba foram as que apresentaram maiores concentrações de compostos fenólicos e atividade antioxidante pelos métodos de DPPH, ABTS e FRAP. Os compostos fenólicos foram identificados através do UPLC-QToF-MS^E, e entre eles, sobressaíram a presença do ácido cítrico e quínico, estando presentes na maioria das polpas de frutas.

Através da simulação da digestão *in vitro* foi observada uma diminuição na quantidade de compostos fenólicos totais e na atividade antioxidante nas fases gástrica e intestinal, que pode ser causado por várias interações e reações no sistema gastrointestinal.

Por meio da atividade antimicrobiana foi possível visualizar que as polpas de frutas inibiram o crescimento das bactérias gram negativas e gram positivas nas devidas concentrações testadas.

Estes resultados suportam o potencial das polpas de frutas como fontes de compostos fenólicos com potencial bioativo, de alto potencial antimicrobiano, e que ainda apresentou uma grande variedade de compostos identificados de grande interesse para a indústria alimentícia. No entanto, pelas análises de digestão *in vitro* foi verificado que a bioacessibilidade destes compostos diminuiu ao longo da simulação do sistema gastrointestinal, o que estimula novas pesquisas a buscarem formas de aumentar a bioacessibilidade destes compostos, para que os mesmos possam exercer sua funcionalidade e serem absorvidos em maior proporção.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As diferentes polpas de frutas foram analisadas para avaliar o conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante. Foi possível verificar que as polpas panã, acerola, açaí e jabuticaba, em base úmida, apresentaram o maior conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante. A análise estatística de CCSWA confirmou a relação direta entre CFT e potencial antioxidante, e ainda, que a presença de catequina na polpas, foi um dos fatores mais importantes que influenciou na distribuição das amostras em relação às demais características avaliadas. Além disso, outras abordagens podem ser investigadas no futuro, por exemplo: atividade antioxidante das polpas através de outros métodos, como FRAP e ORAC, bem como o estudo dos compostos bioativos em modelos animais.

As características físico-químicas das polpas de frutas podem influenciar o comportamento reológico das mesmas, conforme foi averiguado pela análise de CCSWA. O teor de sólidos solúveis e a tensão inicial foram os fatores mais relevantes que influenciaram na distribuição das amostras. As amostras de garcinia e buriti se destacaram com relação as demais polpas de frutas, devido ao fato dos escores serem semelhantes na análise de CCSWA e também foram separadas das outras polpas pela análise de HCA. Desta forma, estas análises permitem que estudos posteriores possam utilizar dos dados apresentados para o dimensionamento de equipamentos e tubulações para as indústrias que utilizam polpas de frutas como matéria prima.

Por fim, foram avaliadas dez polpas de frutas em peso seco, das quais as polpas de açaí, acerola, cambuci e jabuticaba apresentaram o maior conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante. Foi evidenciada a presença do ácido cítrico e quínico na maioria das polpas de frutas, através da análise de UPLC-QToF-MS^E. A capacidade antimicrobiana das polpas de frutas foi confirmada através da exposição à bactérias gram positivas e gram negativas. Já com a simulação da digestão *in vitro* foi possível observar um decréscimo no conteúdo dos compostos fenólicos e na atividade antioxidante ao final das etapas da digestão. Sendo assim, recomenda-se para estudos futuros a utilização de técnicas que sejam capazes de proteger os compostos bioativos, como a biossorção. Além de estudos exploratórios, como a digestão em modelos animais.

Por fim, os resultados dessa pesquisa ressaltam a importância de estudos que demonstram a riqueza dos compostos presentes em polpas de frutas e as suas características físicas e químicas, com o objetivo de complementar a dieta humana e enriquecê-la nutricionalmente; uma vez que as polpas de frutas vem ganhando o interesse dos consumidores e das indústrias, devido a qualidade nutricional, em especial, sua composição fenólica.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, T. M.; SABAA-SRUR, A. U. O.; SMITH, R. E. Study of Grumixama (*Eugenia Brasiliensis*, Lam) Fruit Pulp and Development of a Jelly: Rheological, Sensorial and Colorimetric Evaluation. **The Natural Products Journal**, v. 6 (2), p. 142–151, 2016.
- AHMED, J.; SHIVHARE, U. S.; RAGHANVAN, G. S. V. Rheological characteristics and kinetics of color degradation of green chili puree. **Journal of Food Engineering**, v. 44, p. 239- 244, 2000.
- AGOURRAM, A.; GHIRARDELLO, D.; RANTSIOU, K.; ZEPPA, G.; BELVISO, S.; ROMANE, A.; OUFDOU, K.; GIORDANO, M. Phenolic content, antioxidant potential and antimicrobial activities of fruit and vegetable by-product extracts. **International Journal of Food Properties**, v.16, p.1092-1104, 2013.
- ALI, S. S.; KASOJU, N.; LUTHRA, A.; SINGH, A.; SHARANABASAVA, H.; SAHU, A.; BORA, U. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. **Food Research International**, v. 41, p. 1-15, 2008.
- ALMEIDA, M. M. B.; SOUSA, P. H. M.; ARRIAGA A. M. C.; PRADO, G. M.; MAGALHÃES, C. E. C.; MAIA, G. A.; LEMOS, T. L. F. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2155–2159, 2011.
- ALVES, M. J.; FERREIRA, I.C.F.R.; FROUFE, H.J.C.; ABREU, R. M. V.; MARTINS, A.; PINTADO, M. Antimicrobial activity of phenolic compounds identified in wild mushrooms, SAR analysis and docking studies. **Journal of Applied Microbiology**, v. 115, p. 346-357, 2013.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução CNNPA, nº 12** de 1978.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 8**, de 06 de março de 2013.
- AOAC. (2000). **Official Methods of Analysis** (15th edn.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- ARON, P. M.; KENNEDY, J. A. Flavan-3-ols: Nature, occurrence and biological activity. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 52, p. 79-104, 2008.
- AUGUSTO, P. E. D.; IBARZ, A.; CRISTIANINI, M. Effect of high pressure homogenization (HPH) on the rheological properties of tomato juice: Time-dependent and steady-state shear. **Journal of Food Engineering**, v. 111 (4), p. 570–579, 2012.
- AWUAH, G.B.; RAMASWAMY, H.S.; SIMPSON, B.K. Surface heat transfer coefficients associated with heating of food particles in CMC solutions. **Journal of Food Process Engineering**, v.16, p. 39-57, 1993.

AYALA-ZAVALA, J. F.; VEGA-VEGA, V.; ROSAS-DOMINGUEZ, C.; PALAFOX-CARLOS, H.; VILLA-RODRIGUEZ, J. A.; SIDDIQUI, M. W.; DÁVILA-AVIÑA, J.E.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. **Food Research International**, v. 44, p.1866–1874, 2011.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191–203, 2006.

BALMFORTH, N. J.; FRIGAARD, I. A.; OVARLEZ, G. Yielding to Stress: Recent Developments in Viscoplastic Fluid Mechanics. **Annual Review of Fluid Mechanics**, v. 46 (1), p. 121–146, 2014.

BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **J. of Pharmaceutical Analysis**, v. 6, n. 2, p. 71–79, 2016.

BAYOD, E.; MÅNSSON, P.; INNINGS, F.; BERGENSTÅHL, B.; TORNBERG, E. Low shear rheology of concentrated tomato products. Effect of particle size and time. **Food Biophysics**, v.2, p. 146-157, 2007.

BARBOSA-PEREIRA, L.; BILBAO, A.; VILCHES, P.; ANGULO, I.; LLUIS, J.; FITÉ, B.; PASEIRO-LOSADA, P.; CRUZ, J. M. Brewery waste as a potential source of phenolic compounds: Optimisation of the extraction process and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities. **Food Chemistry**, v. 145, p. 191–197, 2014.

BARCH, D. H.; RUNDHAUGEN, L. M.; STONER, G. D.; PILLAY, N. S.; ROSCHE, W. A. Structure-function relationships of the dietary anticarcinogen ellagic acid. **Carcinogenesis**, v. 17 (2), p. 265-269, 1996.

BARNES, H. A. The yield stress – a review. **Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics**, v. 81, p.133-178, 1999.

BARROS, R. G. C; ANDRADE, J. K. S.; DENADAI, M.; NUNES, M. L.; NARAIN, N. Evaluation of Bioactive Compounds Potential and Antioxidant Activity in Some Brazilian exotic fruits residues. **Food Research intenational**, v. 102, p. 84-92, 2017.

BARROS, L.; DUEÑAS, M.; FERREIRA, I. C.F.R.; BAPTISTA, P.; SANTOS-BUELGA, C. Phenolic acids determination by HPLC–DAD–ESI/MS in sixteen different Portuguese wild mushrooms species. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, p.1076–1079, 2009.

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, p. 70-76, 1996.

BERTO, A.; RIBEIRO, A. B.; SOUZA, N. E.; FERNANDES, E.; CHISTÉ, R. C. Bioactive compounds and scavenging capacity of pulp, peel and seed extracts of the Amazonian fruit *Quararibea cordata* against ROS and RNS. **Food Research International**, v. 77, p. 236–243, 2015.

BHATTACHARYA, S.N. **Rheology: fundamentals and measurements**. Australia: Royal Melbourne Institute of Technology. 1997.

BIRD, R.B.; STEWART, W. E.; LIGHTFOOT, E. N. **Fenomena Transport**. Editorial Reverté, S.A; 1960.

BLANCAS-BENITEZ, F. J.; MERCADO, G. M.; QUIRÓS-SAUCEDA, A. E.; GONZÁLEZ, E. M.; AGUILAR, G. A. G.; AYERDI, S. G. S. Bioaccessibility of polyphenols associated with dietary fiber and in vitro kinetics release of polyphenols in Mexican „Ataulfo” mango (*Mangifera indica* L.) by-products. **Food & Function**, v. 6, p. 859–868, 2015.

BOBBIO, P. A; BOBBIO, F. O. **Química do Processamento de Alimentos**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, p. 232, 1983.

BOUAYED, J.; DEUßER, H.; HOFFMANN, L.; BOHN, T. Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following in vitro digestion vs. their native patterns. **Food Chemistry**, v. 131, p. 1466–1472, 2012.

BOUHLALI, E. D. T.; BAMMOU, M.; SELLAM, K.; BENLYAS, M.; ALEM, C.; FILALI-ZEGZOUTI, Y. Evaluation of antioxidant, antihemolytic and antibacterial potential of six Moroccan date fruit (*Phoenix dactylifera* L.) varieties. **Journal of King Saud University – Science**, v. 28, p. 136-142, 2016.

BOURNE, M. C., **Food texture and viscosity: concept and measurement**. New York: Academic Press, p.325, 1982.

BOURNE, M. C. **Food texture and viscosity: concept and measurement**. 2. Ed. London: Academic Press, 2002.

BOUVERESSE, D.; PINTO, R. C.; SCHIMIDTKE, L. M.; LOCQUET, N.; RUTLEDGE, D. N. Identification of significant factors by an extension of ANOVA-PCA based on multi-block analysis. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 106, p. 173-182, 2011.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa n. 1, de 7 de janeiro de 2000. Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 jan. 2000.

BRIONES-LABARCA, V.; VENEGAS-CUBILLOS, G.; ORTIZ-PORTILLA, S.; CHACANA-OJEDA, M.; MAUREIRA, H. Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on bioaccessibility, as well as antioxidant activity, mineral and starch contents in Granny Smith apple. **Food Chemistry**, v. 128, p. 520–529, 2011.

BRODKEY, R. S. **The Phenomena of fluid motions** – Dover Publications, Inc.-New York, 1967.

BROOKFIELD ENGINEERING LABORATORIES. **More Solutions to Sticky Problems**, 1994.

BURRIS, K. P.; HIGGINBOTHAM, K. L.; STEWART JR, C. N. Aqueous extracts of yerba mate as bactericidal agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a microbiological medium and ground beef mixtures. **Food Control**, v. 50, p. 748-753, 2015.

BURSAL, E.; KÖKSAL, E.; GÜLÇİN, I.; BILSEL, G.; GÖREN, A. C. Antioxidant activity and polyphenol content of cherry stem (*Cerasus avium* L.) determined by LC–MS/MS. **Food Research International**, v. 51, p. 66–74, 2013.

CAI, Y.; LUO, Q.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life Sciences**, v. 74, p. 2157-2184, 2004.

CALLONI, C.; AGNOL, R. D.; MARTINEZ, L. S.; MARCON, F. S.; MOURA, S.; SALVADOR, M. Jaboticaba (*Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel) fruit reduces oxidative stress in human fibroblasts cells (MRC-5). **Food Research International**, v. 70, p. 15-22, 2015.

ÇAM, M.; HISIL, Y.; DURMAZ, G. Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. **Food Chemistry**, v.112, p. 721–726, 2009.

CANTU-LOZANO, D.; RAO, M. A.; GASPARETTO, C. A. Rheological properties of noncohesive apple dispersion with helical and vane impellers: Effect of concentration and particle size. **Journal of Food Process Engineering**, v.23, p. 373–385, 2000.

CASTRO, A. G. DE; COVAS, J. A.; DIOGO, A. C. **Reologia e suas aplicações industriais**. Lisboa: Ciência e Técnica/Instituto PIAGET, p.462, 2001.

CHAICOUSKI, A.; SILVA, J. E.; TRINDADE, J. L. F.; CANTERI, M. H. G. Determination of the amount of phenolic compounds present in liquid and dry extracts of yerba mate (*Ilex paraguariensis*). **Brazilian Journal of Agro-industrial Products**, v. 16, p. 33-41, 2014.

CHAN, S. Y.; CHOO, W. S.; YOUNG, D. J.; LOH, X. J. Pectin as a rheology modifier: Recent reports on its origin, structure, commercial production and gelling mechanism. **RSC Polymer Chemistry Series**, v. 161, p. 118–139, 2017.

CHANG, C.; YANG, M.-H.; WEN, H.-M.; CHERN, J.-C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 10, p. 178-182, 2002.

CHOI, Y.H.; YOO, B. Characterization of time-dependent flow properties of food suspensions. **International Journal of Food Science and Technology**, v.39, p.801-805, 2004.

CLAEYS-BRUNO, M.; BÉAL, A.; RUTLEDGE, D.N.; SERGENT, M. Use of the common components and specific weights analysis to interpret supersaturated designs M. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 152, p. 97–106, 2016.

CLSI. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically**, Approved Standard, 9th ed., CLSI document M07-A9. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 2012.

CONCEIÇÃO, M. C.; FERNANDES, T. N.; PRADO, M. E. T.; DE RESENDE, J. V. Effect of sucrose and pectin addition on physical, chemical, thermal and rheological properties of frozen/thawed pineapple pulps. **Korea Australia Rheology Journal**, v. 24 (3), p. 229–239, 2012.

COOK, N. C.; SAMMAN, S. Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **Journal Nutritional Biochemistry**, v. 7, p. 66-76, 1996.

CROZIER, A.; DEL RIO, D.; CLIFFORD, M. N. Bioavailability of dietary flavonoids and phenolic compounds. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 31, p. 446-467, 2010.

CRUZ, F.; CHEVOIR, F.; BONN, D.; COUSSOT, P. Viscosity bifurcation in granular materials, foams, and emulsions. **Physical Review E**, v. 66, 051305, 2002.

CUSHNIE, T.P.T.; HAMILTON, V. E. S.; CHAPMAN, D.G.; TAYLOR, P.W.; LAMB, A. J. Aggregation of *Staphylococcus aureus* following treatment with the antibacterial flavonolgalangin. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103 (5), p. 1562-1567, 2007.

DAGLIA, M. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 23, p. 174-181, 2012.

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. **Molecules**, v.15, p. 7313-7352, 2010.

DARMANYAN, A.P., GREGORY, D.D., GUO, Y., JENKS, W.S., BUREL, L., ELOY, D., JARDON, P. Quenching of singlet oxygen by oxygen- and sulfur-centered radicals: evidence for energy transfer to peroxy radicals in solution. **Journal of the American Chemical Society**, v.120, p.396–403, 1998.

DAS, K.; TIWARI, R. K. S.; SHRIVASTAVA, D. K. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 2, p. 104–111, 2010.

DESHPANDE, A. P.; KRISHNAN, J. M.; SUNIAL KUMAR, P. B. **Rheology of Complex Fluids**. New York: Springer, 2010.

DICKIE, A. M.; KOKINI, J. L. Use of the Bird-Leider equation in food rheology. **Journal of Food Process Engineering**, v. 5, p. 157-184, 1982.

DIMITRIOU, C. J.; MCKINLEY, G. H.; VENKATESAN, R. Rheo-PIV Analysis of the Yielding and Flow of Model Waxy Crude Oils. **Energy & Fuels**, v. 25 (7), p. 3040–3052, 2011.

DING, M.; FENG, R.; WANG, S. Y.; BOWMAN, L.; LU, Y.; QIAN, Y.; CASTRANOVA, V.; JIANG, B.; SHI, X. Cyanidin 3-glucoside, a natural product derived from blackberry, exhibits chemopreventive and chemotherapeutic activity. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 281, p. 17359-17368, 2006.

DIVOUX, T.; GRECARD, V.; MANNEVILLE, S. Rheological hysteresis in soft glassy materials. **Physical Review Letters**, v. 110, p. 018304, 2013.

DORTA, E.; GONZÁLEZ, M.; LOBO, M. G.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; ANCOS, B. Screening of phenolic compounds in by-product extracts from mangoes (*Mangifera indica* L.) by HPLC-ESI-QTOF-MS and multivariate analysis for use as a food ingredient. **Food Research International**, v. 57, p. 51–60, 2014.

DRAGSTED, L. O.; STRUBE, M.; LARSEN, J. C. Cancer-protective factors in fruits and vegetables: biochemical and biological background. **Pharmacology Toxicology**, v. 72, n.1, p. 116-135, 1993.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2. p. 446-52, 2006.

DURING, A.; HARRISON, E. An in vitro model to study the intestinal absorption of carotenoids. **Food Research International**, v. 38, p. 1001–1008, 2005.

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

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

FAOSTAT-FAO (2018). Statistical Database. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <www.fao.org> Acesso em: 19/05/2018.

FATTOUCH, S.; CABONI, P.; CORONEO, V.; TUBEROSO, C. I. G.; ANGIONI, A.; DESSI, S.; MARZOUKI, N.; CABRAS, P. Antimicrobial Activity of Tunisian Quince (*Cydonia oblonga* Miller) Pulp and Peel Polyphenolic Extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 963–969, 2007.

FERNANDES, R. R.; ANDRADE, D. E. V.; FRANCO, A. T.; NEGRÃO, C. O. R. The yielding and the linear-to-nonlinear viscoelastic transition of an elastoviscoplastic material. **Journal of Rheology**, v. 61 (5), p. 893–903, 2017.

FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O. Quimiometria I. Calibração Multivariada, um tutorial. **Química Nova**, v. 22, p. 724-731, 1999.

FERREIRA, M. C. M.; SANTOS, P. M.; RAMPAZZO, V.; BONA, E.; SANCHEZ, J. L.; MACIEL, G. M. Common components and specific weights analysis for the discrimination and evaluation of vegetable oil quality. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 52 (9), p. 1995-2005, 2017.

FU, L.; XU, B. T.; XU, X. R.; GAN, R. Y.; ZHANG, Y.; XIA, E. Q.; LI, H. B. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry**, v. 129, p. 345–350, 2011.

GARCÍA-RUIZ, A.; BARTOLOMÉ, B.; MARTÍNEZ- RODRIGUES, A.J.; PUEYO, E.; ALVAREZ, P.J.M.; MORENO-ARRIBAS. Nuevas perspectivas de la aplicación de los polifenoles como antimicrobianos en enología, **ACE: Revista de enología**, n. 83, 2007.

GAWLIK-DZIKI, U.; DZIKI, D.; BARANIAK, B.; LIN, R. The effect of simulated digestion *in vitro* on bioactivity of wheat bread with Tartary buckwheat flavones addition. **Food Science and Technology**, v. 42, p. 137-143, 2009.

GENOVESE, D. B.; RAO, M. A. Components of Vane Yield Stress of Structured Food Dispersions. **Journal of Food Science**, v. 70 (8), p. 498-504, 2005.

GENOVESE, D. B.; YE, A.; SINGH, H. High methoxyl pectin/apple particles composite gels: Effect of particle size and particle concentration on mechanical properties and gel structure. **Journal of Texture Studies**, v.41 (2), p. 171–189, 2010

GIÃO, M.S.; GOMES, S.; MADUREIRA, A.,R.; FARIA, A.; PESTANA, D.; CALHAU, C.; PINTADO, M.E.; AZEVEDO, I.; MALCATA, X. Effect of *in vitro* digestion upon the antioxidant capacity of aqueous extracts of Agrimonia eupatoria, Rubus idaeus, Salvia sp. and Satureja montana. **Food Chemistry**, v. 131, p. 761–767, 2011.

GIL-IZQUIERDO, A., ZAFRILLA, P., TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Na *in vitro* method to simulate phenolic compound release from the food matrix in the gastrointestinal tract. **European Food Research & Technology**, v. 214, p. 155-159, 2002.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc, 2001.

GONÇALVES, A. E. S. S.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Chemical Composition and Antioxidant/Antidiabetic Potential of Brazilian Native Fruits and Commercial Frozen Pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 4666–4674, 2010.

GONÇALVES, G. A. S.; RESENDE, N. S.; CARVALHO, E. E. N.; RESENDE, J. V.; VILAS BOAS, E. V. B. Physicochemical and volatile profile alterations in pasteurized and frozen strawberry pulp during storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 42, p. 1-1, 2018.

GRANATO, D.; CASTRO, I.A.; KATAYAMA, F.U. Assessing the association between phenolic compounds and the antioxidant activity of Brazilian red wines using chemometrics. **LWT-Food Science and Technology**, v. 43, p. 1542-1549, 2010.

GRANATO, D.; SANTOS, J. S.; ESCHER, G. B.; FERREIRA, B. L.; MAGGIO, R. M. Use of principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) for multivariate association between bioactive compounds and functional properties in foods: A critical perspective. **Trends in Food Science and Technology**, v. 72, p. 83–90, 2018.

GULLON, B.; PINTADO, M. E.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; VIUDA-MARTOS, M. Assessment of polyphenolic profile and antibacterial activity of pomegranate peel (*Punica granatum*) flour obtained from co-product of juice extraction. **Food Control**, v. 59, p. 94-98, 2016.

GUO, X.; HAN, D.; XI, H.; RAO, L.; LIAO, X.; HU, X.; WU, J. Extraction of pectin from navel orange peel assisted by ultra-high pressure, microwave or traditional heating: a comparison. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, p. 441-448, 2012a.

GUO, H.; XIA, M.; ZOU, T.; LING, W.; ZHONG, R.; ZHANG, W. Cyanidin 3-glucoside attenuates obesity-associated insulin resistance and hepatic steatosis in high-fat diet-fed and *db/db* mice via the transcription factor FoxO1. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, p. 349-360, 2012b.

HALLIWELL, B. Antioxidants: the basics-what they are and how to evaluate them. **Advances in Pharmacology**, v.38, n.3-20, 1997.

HALLIWELL, B.; AESCHBACH, R.; LOLIGER, J.; ARUOMA, O. I. The characterization on antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, p. 601-617, 1995.

HAMINIUK, C. W. I. **Comportamento reológico e fracionamento péctico das polpas integrais de araçá (*Psidium cattleianum sabine*) e amora-preta (*Rubus spp*)**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, p.85, 2005.

HAMINIUK, C. W. I.; SIERAKOWSKI, M. R.; VIDAL, J. R. M. B.; MASSON, M. L. Influence of temperature on the rheological behavior of whole araçá pulp (*Psidium cattleianum sabine*). **LWT- Food Science and Technology**, v. 39(4), p. 426–430, 2006.

HAMINIUK, C. W. I.; SIERAKOWSKI, M. R.; BRANCO, I. G.; MACIEL, G. M.; MASSON, M. L. Rheological study of ternary mixtures and pectic gels of red fruit pulps. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 42, p. 629–639, 2007.

HAMINIUK, C. W. I; PLATA-OVIEDO, M. S. V.; GUEDES, A. R.; STAFUSSA, A.P.; BONA, E.; CARPES, S.T. Chemical, antioxidant and antibacterial study of Brazilian fruits. **International Journal Food Science Technology**, v. 46, p. 1529–153, 2011.

HAMINIUK, C.; PLATA-OVIEDO, M. S.; MATTOS, G.; CARPES, S. T.; BRANCO, I. G. Extraction and quantification of phenolic acids and flavonols from *Eugenia pyriformis* using different solvents. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, p. 2862-2866, 2014.

HAO, Y.; GAO, R.; LIU, D.; HE, G.; TANG, Y.; GUO, Z. Selective extraction and determination of chlorogenic acid in fruit juices using hydrophilic magnetic imprinted nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 200, p. 215–222, 2016.

HEANEY, R.P. Factors influencing the measurement of bioavailability, taking calcium as a model. **Journal of Nutrition**, v. 131, n. 4, p. 1344-1348, 2001.

HEIM, K.E., TAGLIAFERRO, A.R., BOBILYA, D.J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure–activity relationships. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, p. 572–584, 2002.

HELENO, S. A.; MARTINS, A.; QUEIROZ, M. J. R. P.; FERREIRA, I. C. F. R. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. **Food Chemistry**, v. 173, p. 501–513, 2015.

HERAS, R. M.; PINAZO, A.; HEREDIA, A.; ANDRÉS, A. Evaluation studies of persimmon plant (*Diospyros kaki*) for physiological benefits and bioaccessibility of antioxidants by in vitro simulated gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 214, p. 478-485, 2017.

HERNANDEZ, E.; CHEN, C. S.; JOHNSON, J.; CARTER, T. D. Viscosity changes in orange juice after ultra-filtration and evaporation. **Journal of Food Engineering**, v.25, p.387- 396, 1995.

HOLDSWORTH, S. D. Applicability of rheological models to the interpretation of flow and processing behaviour of fluid food products. **Journal of Texture Studies**, v.2, p.393- 418, 1971.

HOLDSWORTH, S. D. Rheological models used for the prediction of the flow properties of food products: A literature review. **Transactions of the Institution of Chemical Engineers**, v. 71C, p. 139–179, 1993.

HOLLMAN, P. C.; KATAN, M. B. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. **Food & Chemical Toxicology**, v. 37, p. 937–942, 1999.

IBARZ, A., GONÇALVES, C., EXPLUGAS, S. Rheology of clarified passion fruit juices. **Fruit Processing**, v.6, p. 330-333, 1996.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, I. A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1821-1835, 2011.

ILICALI, D. R. C. Correlation for the consistency coefficients of apricot and pear purees. **Journal of Food Engineering**, v. 8, p. 47–51, 1985.

ITOH, A.; ISODA, K.; KONDOH, M.; KAWASE, M.; WATARI, A.; KOBAYASHI, M.; ET AL. Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on CCl₄-induced liver injury. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 33, p. 983–987, 2010.

JARA-PALACIOSA, M. J.; GONÇALVES, S.; HERNANZ, D.; HEREDIA, F. J.; ROMANO, A. Effects of in vitro gastrointestinal digestion on phenolic compounds and antioxidant activity of different white winemaking byproducts extracts. **Food Research International**, v. 109, p. 433-439, 2018.

JAYAPRAKASHA, G.K.; MANDADI, K. K.; POULOSE, S. M.; JADEGOUD, Y.; NAGANA GOWDA, G. A.; PATIL, B. S. Inhibition of colon cancer growth and antioxidant activity of bioactive compounds from *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 4923-4932, 2007.

JEDDOU, K. B.; BOUAZIZA, F.; ZOUARI-ELLOUZIA, S.; CHAARIA, F.; ELLOUZ-CHAABOUNIA, S.; ELLOUZ-GHORBELA, R.; NOURI-ELLOUZC, O. Improvement of texture and sensory properties of cakes by addition of potato peel powder with high level of dietary fiber and protein. **Food Chemistry**, v. 217, p. 668-677, 2017.

JILANI, H.; CILLA, A.; BARBERÁ, R.; HAMDÍ, M. Biosorption of green and black tea polyphenols into *Saccharomyces cerevisiae* improves their bioaccessibility. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 11–21, 2015.

KANATT, S. R.; CHANDER, R.; SHARMA, A. Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf-life of chicken products. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 45, n .2, p. 216-222, 2010.

KANCHEVA, V.D. Phenolic antioxidants – radical-scavenging and chainbreaking activity: a comparative study. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 111, p. 1072– 1089, 2009.

KANG, J.; THAKALI, K. M.; XIE, C.; KONDO, M.; TONG, Y.; OU, B.; JENSEN, G.; MEDINA, M. B.; SCHAUSS, A. G.; WU, X. Bioactivities of açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. **Food Chemistry**, v. 133 (3), p. 671-677, 2012.

KASSOUF, A.; MAALOULY, J.; CHEBIB, H.; RUTLEDGE, D. N.; DUCRUET, V. Chemometric tools to highligh non-intentionally added substances (NIAS) in polyethylene terephthalate (PET). **Talanta**, v.115, p. 928-937, 2013.

KATSUBE, N.; IWASHITA, K.; TSUSHIDA, T.; YAMAKI, K.; KOBORI, M. Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51 (1), p. 68-75, 2003.

KAULMANN, A.; JONVILLE, M.-C.; SCHNEIDER, Y.-J.; HOFFMANN, L.; BOHN, T. Carotenoids, polyphenols and micronutrient profiles of Brassica oleraceae and plum varieties and their contribution to measures of total antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 155, p. 240–250, 2014.

KOEHNLEIN, E. A.; KOEHNLEIN, E. M.; CORREA, R. C. G.; NISHIDA, V. S.; CORREA, V. G.; BRACHT, A.; PERALTA, R. M. Analysis of a whole diet in terms of

phenolic content and antioxidant capacity: effects of a simulated gastrointestinal digestion. **Food Composition and Analysis**, v. 67, p. 614-623, 2016.

KONG, J. M.; CHIA, L. S.; GOH, N. K.; CHIA, T. F. Brouillard, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 64, p. 923-933, 2003.

KROLL, J.; RAWEL, H. M.; ROHN, S. Reactions of plant phenolics with food proteins and enzymes under special consideration of covalent bonds. **Food Science and Technology**, v. 9, p. 205-218, 2003.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 726–732, 2005.

LAGE, G. A.; MEDEIROS, F. S.; FURTADO, W. L.; TAKAHASHI, J. A.; FILHO, J. D. S.; PIMENTA, L. P. S. The first report on flavonoid isolation from *Annona crassiflora* Mart. **Natural Product Research**, v. 28, p. 808–811, 2014.

LEITE, T. S.; AUGUSTO, P. E. D.; CRISTIANINI, M. Using High Pressure Homogenization (HPH) to Change the Physical Properties of Cashew Apple Juice. **Food Biophysics**, v. 10 (2), p. 169–180, 2014.

LI, F.; LI, S.; LIA, H.-B., DENG, G.-F.; LING, W.-H.; WU, S.; XU, X.R.; CHEN, F. Antiproliferative activity of peels, pulps and seeds of 61 fruits. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p.1298 – 1309, 2013.

LIN, S.D.; LIU, E.H.; MAU, J.L. Effect of different brewing methods on antioxidant properties of steaming green tea. **LWT- Food Science and Technology**, v. 41, p. 1616–1623, 2008.

LIRA, F. A. O. **Propriedades reológicas de alimentos fluidos**. In: ALVARADO, J. D.; AGUILERA, J. M. Métodos para medir propiedades físicas em indústrias de alimentos. Zaragoza: Acribia, p. 89-108, 2001.

LIU, R. H. Whole grain phytochemicals and health. **Journal of Cereal Science**, v.46, p.207-219, 2007.

LOPES, A. S.; MATTIETTO, R. D. A.; MENEZES, H. C.; HELENA, L.; PENA, S. Rheological behavior of Brazilian Cherry (*Eugenia uniflora* L) pulp at pasteurization temperatures. **Food Science and Technology**, v. 33 (1), p. 26–31, 2013.

LUCAS-GONZÁLEZ, R., VIUDA-MARTOS, M., ÁLVAREZ, J. A. P., FERNANDEZ-LÓPEZ, J. Changes in bioaccessibility, polyphenol profile and antioxidant potential of flours obtained from persimmon fruit (*Diospyros kaki*) co-products during *in vitro* gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 256, p. 252-258, 2018.

MAHATTANATAWEE, K.; MANTHEY, J. A.; LUZIO, G.; TALCOTT, S. T.; GOODNER, K.; BALDWIN, E. A. Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-grown tropical fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 7355–7363, 2006.

MAIEVES, H. A.; ZÜGE, L. C. B.; SCHEER, A. D. P.; RIBANI, R. H.; MORALES, P.; SÁNCHEZ-MATA, M. C. Physical Properties and Rheological Behavior of Pseudofruits of *Hovenia dulcis* Thunb. In Different Maturity Stages. **Journal of Texture Studies**, v. 48 (1), p. 31–38, 2017.

MALTA, L. G.; GHIRALDINI, F. G.; REIS, R.; OLIVEIRA, M. V.; SILVA, L. B.; PASTORE, G. M. In vivo analysis of antigenotoxic and antimutagenic properties of two Brazilian Cerrado fruits and the identification of phenolic phytochemicals. **Food Research International**, v. 49, p. 604–611, 2012.

MARTÍNEZ, R.; TORRES, P.; MENESES, M. A.; FIGUEROA, J. G.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; VIUDA-MARTOS, M. Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. **Food Chemistry**, v. 135, p. 1520–1526, 2012.

MATTA, V. M.; JUNIOR, M. F.; CABRAL, L. M. C.; FURTADO, A. A. L. **Polpa de fruta congelada**. Embrapa Informação Tecnológica, 2005.

MAZEROLLES, G.; HANAFI, M.; DUFOUR, E.; BERTRAND, D.; QANNARI, E. M. Common components and specific weights analysis : A chemometric method for dealing with complexity of food products. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 81, p. 41-49, 2006.

MCCLEMENTS, D. J. **Food emulsions: Principles, practice and techniques**. Boca Raton, FL: CRC Press Inc, 2006.

MEDINA, A. L.; HAAS, L. I. R.; CHAVES, F. C.; SALVADOR, M.; ZAMBIAZI, R. C.; SILVA, R. C.; NORA, L.; ROMBALDI, C. V. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v.128, p. 916–922, 2011.

MEDINA, M. Determination of the total phenolics in juices and superfruits by a novel chemical method. **Journal of Functional Foods**, v. 3, p. 79-87, 2011.

MELÉNDEZ, E.; ORTIZ, M. C.; SARABIA, L. A.; ÍNIGUEZ, M.; PURAS, P. Modelling phenolic and technological maturities of grapes by means of the multivariate relation between organoleptic and physicochemical properties. **Analytica Chimica Acta**, v. 761, p. 53–61, 2013.

MERKEN, H. M.; BEECHER, G. R. Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 577–599, 2000.

MEWIS, J.; WAGNER, N. J. **Colloidal Suspension Rheology**. Cambridge University Press., 2012..

MIN, D.B., BOFF, J.M. Chemistry and reaction of singlet oxygen in foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 1, p. 58–72, 2002.

MOELANTS, K. R. N.; CARDINAELS, R.; JOLIE, R. P.; VERRIJSSSEN, T. A. J.; VAN BUGGENHOUT, S.; VAN LOEY, A. M.; HENDRICKX, M. E. Rheology of Concentrated Tomato-Derived Suspensions: Effects of Particle Characteristics. **Food and Bioprocess Technology**, v.7 (1), p. 248–264, 2014.

MOO-HUCHIN, V. M.; ESTRADA-MOTA, I.; ESTRADA-LEÓN, R.; CUEVAS-GLORY, L.; ORTIZ-VÁZQUEZ, E.; VARGAS Y VARGAS, M. L.; BETANCUR-ANCONA, D.; SAURI-DUCH, E. Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food Chemistry**, v. 152, p. 508–515, 2014.

MORAIS, D. R.; ROTTA, E. M.; SARGI, S. C.; SCHMIDT, E. M.; BONAFE, E. G.; EBERLIN, M. N.; SAWAYA, A. C. H. F.; VISENTAINER, J. V. Antioxidant activity, phenolics and UPLC–ESI (–)–MS of extracts from different tropical fruits parts and processed peels. **Food Research International**, v. 77, p. 392–399, 2015.

MORALES, P.; BARROS, L.; DIAS, M. I.; SANTOS-BUELGA, C.; FERREIRA, I. C.; RAMIREZ ASQUIERI, E.; BERRIOS, J. J. Non-fermented and fermented jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Mart.) pomaces as valuable sources of functional ingredients. **Food Chemistry**, v. 208, p. 220-227, 2016.

MOSTAFA, A.A.; AL-ASKAR, A. A.; ALMAARY, K. S.; DAWOUD, T. M.; SHOLKAMY, E. N.; BAKRI, M. M. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, p. 361–366, 2018.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054 (1-2), p. 95-111, 2004.

NEGRÃO, C. O.R.; FRANCO, A. T.; ROCHA, L. V. A weakly compressible flow model for the restart of thixotropic drilling fluids. **Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics**, v. 166, p. 1369-1381, 2011.

NETZEL, M.; NETZEL, G.; KAMMERER, D. R.; SCHIEBER, A.; CARLE, R.; SIMONS, L.; BITSCH, I.; BITSCH, R.; KONCZAK, I. Cancer cell antiproliferation activity and metabolism of black carrot anthocyanins. **Innovate Food Science & Emerging Technologies**, v. 8, p. 365-372, 2007.

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

NIKI, E. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, p. 503-515, 2010.

NOGATA, Y.; SAKAMOTO, K.; SHIRATSUCHI, H.; ISHII, T.; YANO, M.; OHTA, H. Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 70, p. 178–192, 2006.

NOIPA, T.; SRIJARANAI, S.; TUNTULANI, T.; NGEONTAE, W. New approach for evaluation of the antioxidant capacity based on scavenging DPPH free radical in micelle systems. **Food Research International**, v. 44, p. 798-806, 2011.

OH, J.; JO, H.; CHO, A. R.; KIM, S.-J.; HAN, J. Antioxidant and antimicrobial activities of various leafy herbal teas. **Food Control**, v. 31, p. 403-409, 2013.

OLIVEIRA, I.; BAPTISTA, P.; MALHEIRO, R.; CASAL, S.; BENTO, A.; PEREIRA, J. A. Influence of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruit ripening stage on chemical composition and antioxidant activity. **Food Research International**, v. 44, p. 1401–1407, 2011.

OLIVEIRA, S.; SOUZA, G. A.; ECKERT, C. R.; SILVA, T. A.; SOBRAL, E. S.; FÁVERO, O. A.; FERREIRA, M. J. P.; ROMOFF, P.; BAADER, W. J. Evaluation of antiradical assays used in determining the antioxidant capacity of pure compounds and plant extracts. *Química Nova*, v. 37, n. 3, p. 497-503, 2014.

OLIVEIRA, D. A.; ANGONESE, M.; GOMES, C.; FERREIRA, S. R. S. Valorization of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) by-products: Sustainable recovery and biological activities. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 111, p. 55–62, 2016.

OLIVEIRA, A. I. T.; CABRAL, J. B.; MAHMOUD, T. S.; NASCIMENTO, G. N. L.; SILVA, J. F. M.; PIMENTA, R. S.; MORAIS, P. B. In vitro antimicrobial activity and fatty acid composition through gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) of ethanol extracts of *Mauritia flexuosa* (Buriti) fruits. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 11, p. 635-641, 2017.

PARK, Y.-S.; CVIKROVÁ, M.; MARTINCOVÁ, O.; HAM, K.-S.; KANG, S.-G.; PARK, Y.-K.; NAMIESNIK, J.; ROMBOLÀ, A. D.; JASTRZEBSKI, Z.; GORINSTEIN, S. In vitro antioxidative and binding properties of phenolics in traditional, citrus and exotic fruits. **Food Research International**, v. 74, p.37–47, 2015.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; DUNCAN, C. E.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatória*. **Food Chemistry**, v. 115, p. 1199–1205, 2009.

PARADA, J.; AGUILERA, J. M. Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. **Journal of Food Science**, v. 72, p. R21–R32, 2007.

PASQUEL, A. Gomas: Utilização e aspectos reológicos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, p. 86-97, 1999.

PAZ, M.; GÚLLON, P.; BARROSO, M. F.; CARVALHO, A. P.; DOMINGUES, V. F.; GOMES, A. M.; BECKER, H.; LONGHINOTTI, E.; DELERUE-MATOS, C. Brazilian fruits pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 172, p. 462-468, 2015.

PEREIRA, M. C.; STEFFENS, R. S.; JABLONSKI, A.; HERTZ, P. F.; RIOS, A. O.; VIZZOTTO, M.; FLÔRES, S. H. Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of three Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and**

Analysis, v. 29, p. 19–24, 2013.

PEREIRA, C. G.; RESENDE, J. V.; GIAROLA, T. M. O. Relationship between the thermal conductivity and rheological behavior of acerola pulp: Effect of concentration and temperature. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58 (2), p. 446–453, 2014.

PÉREZ-VICENTE, A., GIL-IZQUIERDO, A., GARCÍA-VIGUERA, C. In vitro gastrointestinal digestion study of pomegranate juice phenolic compounds, anthocyanins and vitamin C. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 2308-2312, 2002.

PETROPOULOS, S.; FERNANDES, A.; BARROS, L.; CIRIC, A.; SOKOVIC, M.; FERREIRA, I. C. F. R. Antimicrobial and antioxidant properties of various Greek garlic genotypes. **Food Chemistry**, v.245, p. 7-12, 2018.

PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1035–1042, 2000.

PINGRET D.; FABIANO-TIXIER, A.-S.; LE BOURVELLEC, C.; RENARD, C. M.G.C.; CHEMAT, F. Lab and pilot-scale ultrasound-assisted water extraction of polyphenols from apple pomace. **Journal of Food Engineering**, v. 111, p. 73–81, 2012.

PINTO T. J. A.; KANEKO T. M.; OHARA M. T. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. 2.ed. São Paulo: Atheneu Editora, p. 325, 2003.

PIRES, T. C. S. P.; DIAS, M. I.; BARROS, L.; CALHELHA, R. C.; ALVES, M. J.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; SANTOS-BUELGA, C.; FERREIRA, I. C. F. R. Edible flowers as sources of phenolic compounds with bioactive potential. **Food Research International**, v. 105, p. 580-588, 2018.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, p. 1–11, 2007.

POKORNY', J. Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants? **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, p. 629–642, 2007.

PRIOR, R.L, CAO, G. *In vivo* total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. **Free Radical Biology & Medicine**, v.27, p.1173-1181, 1999.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4290–4302, 2005.

PRIYADARSINI, K. I.; KHOPDE, S. M.; KUMAR, S. S.; MOHAN, H. Free radical studies of ellagic acid, a natural phenolic antioxidant. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 2200-2206, 2002.

PUUPPONEN-PIMIA, R.; NOHYNEK, L.; MEIER, C.; KAHKONEN, M.; HEINONEN, M.; HOPIA, A.; OKSMAN-CALDENTY, K. M. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. **Journal of Applied Microbiology**, v. 90, p. 494-507, 2001.

PYRZYNSKA, K. PEKAL, A. Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. **Analytical Methods**, v.5, p. 4288 - 4295, 2013.

QANNARI, E. M.; WAKELING, I.; MACFIE, H. J. H. A hierarchy of models for analysing sensory data. **Food Quality and Preference**, v.6 (4), p. 309–314, 1995.

QANNARI, E. M.; WAKELING, I.; COURCOUX, P.; MACFIE, H. J. H. Defining the underlying sensory dimensions. **Food Quality and Preference**, v. 11, p. 151–154, 2000.

QANNARI, E. M.; COURCOUX, P.; VIGNEAU, E. Common components and specific weights analysis performed on preference data. **Food Quality and Preference**, v. 12, p. 365–368, 2001.

QUEMADA, D. Rheological modelling of complex fluids: IV: Thixotropic and thixoelectric behaviour. Start-up and stress relaxation, creep tests and hysteresis cycles. **The European Physical Journal Applied Physics**, v. 5 (2), p. 191–207, 1999.

RAMPAZZO, V.; RIBEIRO, L. F.; SANTOS, P. M.; FERREIRA, M. C. M.; BONA, E.; MACIEL, G. M.; HAMINIUK, C. W. I. Multi-block analysis coupled with GC-FID and ATR-MIR for the evaluation of thermal degradation in vegetable oils. **Journal of Chromatography B**, v. 1081-1082, p. 118-125, 2018.

RAO, M. A. Rheology of liquid foods—a review. **Journal of Texture Studies**, v. 8, p. 135–168, 1977.

RAO, M.A.; ANANTHESWARAN, R.C. Rheology of fluids in food processing. **Food Technology**, v. 36, n. 2, p. 116, 1982.

RAO, M. A.; RIZVI, S. S. **Engineering properties of foods**. New York: Marcel Dekker, Inc., p. 398, 1986.

RAO, M. A. **Rheology of fluid and semisolid foods: principles and applications**. New York: Aspen Publishers, 1999.

RATNAM, D.; ANKOLA, D.; BHARDWAJ, V.; SAHANA, D; KUMAR M. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. **Journal of Controlled Release**, v. 113, p. 189-207, 2006.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

REYNERTSON, K. A.; WALLACE, A. M.; ADACHI, S.; GIL, R. R.; YANG, H.; BASILE, M. J.; D'ARMIENTO, J.; WEINSTEIN, I. B.; KENNELLY, E. J. Bioactive depsides and anthocyanins from jaborcaba (*Myrciaria cauliflora*). **Journal of Natural Products**, v. 69 (8), 1228-1230, 2006.

RIBEIRO, H. L.; OLIVEIRA, A. V.; BRITO, E. S.; RIBEIRO, P. R. V.; SOUZA FILHO, M.; AZEREDO, H. M. C. Stabilizing effect of montmorillonite on acerola juice anthocyanins. **Food Chemistry**, v. 245, p. 966-973, 2018.

RIMANDO, A.; KALT, W.; MAGEE, J.; DEWEY, J.; BALLINGTON, J. Resveratrol, pterostilbene, and piceatannol in vaccinium berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4713–4719, 2004.

ROBARDS, K.; PRENZLER, P. D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, v. 66, p. 401 – 436, 1999.

ROBBINS, R. J. Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 2866–2887, 2003.

ROCCHETTI, G.; CHIODELLI, G.; GIUBERTI, G.; MASOERO, F.; TREVISAN, M.; LUCINI, L. Evaluation of phenolic profile and antioxidant capacity in gluten-free flours. **Food Chemistry**, v. 228, p. 367-373, 2017.

RUBIO, F. T. V.; SILVA, M. V.; MACIEL, G. M.; GESSER, V. C.; PERALTA, R. M.; HAMINIUK, C. W. I. Enrichment of waste yeast with bioactive compounds from grape pomace as an innovative and emerging technology: Kinetics, isotherms and bioaccessibility. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 45, p. 18-28, 2018.

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

SAAVEDRA, M.J.; BORGES, A.; DIAS, C.; AIRES, A.; BENNETT, R. N.; ROSA, E. S.; SIMÕES, M. Antimicrobial Activity of Phenolics and Glucosinolate Hydrolysis Products and their Synergy with Streptomycin against Pathogenic Bacteria. **Medicinal Chemistry**, v. 6, p.174-183, 2010.

SAMPAIO, C. R. P.; HAMERSKI, F.; RIBANI, R. H. Antioxidant phytochemicals of *Byrsonima ligustrifolia* throughout fruit developmental stages. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 400–410, 2015.

SANTOS, P. H.; SILVA, L. H. M.; RODRIGUES, A. M. DA C.; SOUZA, J. A. R. Influence of temperature, concentration and shear rate on the rheological behavior of malay apple (*Syzygium malaccense*) juice. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 19, p. 1-9, 2016.

SARAVACOS, D. G.; MAROULIS, Z. B. **Transport properties of food**. New York: Marcel Dekker, Inc., p. 63-105, 2001.

SARAVANAN, S.; PARIMELAZHAGAN, T. In vitro antioxidant, antimicrobial and anti-diabetic properties of polyphenols of *Passiflora ligularis* Juss. fruit pulp. **Food Science and Human Wellness**, v. 3, p. 56–64, 2014.

SASAKI, R.; NISHIMURA, N.; HOSHINO, H.; ISA, Y.; KADOWAKI, M.; ICHI, T.; TANAKA, A.; NISHIUMI, S.; FUKADA, I.; AISHIDA, H.; HORIO, F.; TSUDA, T. Cyanidin 3-glucoside ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity due to downregulation of retinol binding protein 4 expression in diabetic mice. **Biochemical Pharmacology**, v. 74, p. 1619-1627, 2007.

SATO, A. C. K.; CUNHA, R. L. Effect of particle size on rheological properties of jaboricaba pulp. **Journal of Food Engineering**, v. 91 (4), p. 566–570, 2009.

SAURA-CALIXTO, F.; GOÑI, I. Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. **Food Chemistry**, v. 94, p. 442–447, 2006.

SAURA-CALIXTO, F.; SERRANO, J.; GONI, I. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. **Food Chemistry**, v. 101, p. 492-501, 2007.

SCAZZOCCHIO, B.; VARI, R.; FILESI, C.; D'ARCHIVIO, M.; SANTANGELO, C.; GIOVANNINI, C.; IACOVELLI, A.; SILECCHIA, G.; VOLTI, G. L.; GALVANO, F.; MASELLA, R. Cyanidin 3-O- β -Glucoside and protocatechuic acid exert insulin-like effects by upregulating PPAR γ activity in human omental adipocytes. **Diabetes**, v. 60, p. 2234-2244, 2011.

SCHIASSI, M. C. E. V., SOUZA, V. R., LAGO, A. M. T., CAMPOS, L. G., QUEIROZ, F. Fruits from the Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. **Food Chemistry** v. 245, p. 305–311, 2018.

SCHIJVENS, E. P. H. M.; VLIET, T. V.; DIJK, C. V. Effect of processing conditions on the composition and rheological properties of applesauce. **Journal of Texture Studies**, v. 29 (1972), p. 123–143, 1998.

SEBASTIANY, E.; REGO, E. R.; VITAL, M. J. S. Avaliação do processo produtivo de polpas de frutas congeladas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, p. 318-326, 2010.

SEBRAE. **Como montar uma fábrica de polpas de frutas**. Sebrae MG, 2014.

SELMA, M. V.; ESPIN, J. C.; TOMAS-BARBERÁN, F. A. Interaction between phenolics and gut microbiota: role in human health. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 6485-6501, 2009.

SHAHIDI, F., ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, v. 18, p. 757–781, 2015.

SHALABY, E. A.; SHANAB, S. M. M. Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v.7 (10), p. 528-

539, 2013.

SHARMA, S. K.; MULVANEY, S. J.; RIZVI, S. S. H. **Food processing engineering: theory and laboratory experiments**. United States of America: Wiley-Interscience, p. 348, 2000.

SHAW, J. D. **Introdução à Química dos colóides e das superfícies**. São Paulo: Maar, J. H., 1975.

SILVA, L. M. R.; FIGUEIREDO, E. A. T.; RICARDO, N. M. P. S.; VIEIRA, I. G. P.; FIGUEIREDO, R. W.; BRASIL, I. M.; GOMES, C. L. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 143, p. 398–404, 2014a.

SILVA, V. M.; SATO, A. C. K.; BARBOSA, G.; DACANAL, G.; CIRO-VELÁSQUEZ, H. J.; CUNHA, R. L. The effect of homogenisation on the stability of pineapple pulp. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45 (10), p. 2127–2133, 2010.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.

SOUZA, V. R.; PEREIRA, P. A. P.; QUEIROZ, F.; BORGES, S. V.; CARNEIRO, J. D. S. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food Chemistry**, v. 134, p. 381–386, 2012.

STALIKAS, C. D. Review Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. **Journal of Separation Science**. v. 30, p. 3268–3295, 2007.

STEFFE, J.F. **Rheological methods in food process engineering**. Michigan: Freeman Press, p. 428, 1996.

SUN, A.; GUNASEKARAN, S. Yield stress in foods: measurements and applications. **International Journal of Food Properties**, v. 12, p. 70-101, 2009.

TABILO-MUNIZAGA, G.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Rheology for the food industry. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 147–156, 2005.

TAGLIAZUCCHI, D.; VERZELLONI, E.; BERTOLINI, D.; CONTE, A. In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. **Food Chemistry**, v. 120, n. 2, p. 599–606, 2010.

TALCOTT, S. T.; LEE, J. Ellagic acid and flavonoid antioxidant content of muscadine wine and juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3186-3192, 2002.

TANGLERTPAIBUL, T.; RAO, M. A. Rheological properties of tomato concentrates as affected by particle size and methods of concentration. **Journal of Food Science**, v. 52, p. 141–145, 1987.

TANNER, R. I. **Engineering rheology**. Ed. Rev. New York: Oxford University Press, p. 451, 1988.

TATTERSALL, G. H.; BANFILL, P. F. G. **The rheology of fresh concrete**. London: Pitman, p. 347, 1983.

THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; HAWKINS, D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 669–675, 2006.

TIAN, Y.; PUGANEN, A.; ALAKOMI, H.; UUSITUPA, A.; SAARELA, M.; YANG, B. Antioxidative and antibacterial activities of aqueous ethanol extracts of berries, leaves, and branches of berry plants. **Food Research International**, v. 106, p. 291-303, 2018.

TOLEDO, R. T. **Fundamentals of Food Process Engineering**. New York: Chapman & Hall, p.602, 1991.

TOLENTINO, V. R.; GOMES, A. **Processamento de vegetais**. Frutas/polpa congelada. Manual Técnico, 12. Niterói-RJ, 2009.

TONON, R. V.; ALEXANDRE, D.; HUBINGER, M. D.; CUNHA, R. L. Steady and dynamic shear rheological properties of açai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Food Engineering**, v. 92, p. 425–431, 2009.

TSUDA, T.; UENO, Y.; YOSHIKAWA, T.; KOJO, H.; OSAWA, T. Microarray profiling of gene expression in human adipocytes in response to anthocyanins. **Biochemical Pharmacology**, v. 71 (8), p. 1184-1197, 2006.

ULTEE, A., BENNIK, M.H.J., MOEZELAAR, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the foodborne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, p.1561-1568, 2002.

URBICAIN, M. J.; LOZANO, J. E. Thermal and Rheological Properties of Foodstuffs. In: **Handbook of Food Engineering Practice**. Valentas, K. J.; Rotstein, E.; Singh, R. P. (Eds.), CRC Press Inc., cap. 11, p. 732, 1997.

VALDERRAMA, P. **Avaliação de figuras de mérito em calibração multivariada na determinação de parâmetros de controle em indústria alcooleira por espectroscopia no infravermelho próximo**. 135f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Setor de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

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

VELDE, F. V.; PIROVANI, M. E., DRAGO, S. R. Bioaccessibility analysis of anthocyanins and ellagitannins from blackberry at simulated gastrointestinal and colonic levels. **Food Composition and Analysis**, v. 72, p. 22-31, 2018.

VIEIRA, R. C. de C. **Atlas de mecânica dos fluidos**. São Paulo: Edgard Blucher, 1971.

VITALI, A. A.; ROIG, S. M.; RAO, M. A. Viscosity behaviour of concentrated passion fruit juice. **Confructu**, v. 19 (5), p. 201.

VITALI, A. A.; RAO, M. A. Flow properties of low-pulp concentrated orange juice: effect temperature and concentration. **Journal of Food Science**, v. 49, p. 882-888, 1984.

WANG, H. Q.; LI, D. L.; DU, Z. Y.; HUANG, M. T.; CUI, X. X.; LU, Y. J.; ZHANG, K. Antioxidant and anti-inflammatory properties of Chinese ilicifolius vegetable (*Acanthopanax trifoliatum* (L) Merr) and its reference compounds. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, p. 1131–1138, 2015.

WIEGAND, I.; HILPERT, K.; HANCOCK, R. E. W. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. **Nature protocols**, v. 3, n. 2, p. 163–75, 2008.

WILLET, W. C. *Eat, Drink, and be Healthy The Harvard Medical School Guide to Healthy Eating*; Simon and Schuster: New York, 2001.

WOOD, R. J. **Bioavailability: definition, general aspects and fortificants**. In: Caballero B, Prentice A, Allen L, editors. *Encyclopedia of human nutrition*. 2nd ed. Oxford: Elsevier Ltd., 2005.

XUE, J., DAVIDSON, P.M., ZHONG, Q. Thymol nanoemulsified by whey protein-maltodextrin conjugates: the enhanced emulsifying capacity and antilisterial properties in milk by propylene glycol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.61, p.12720-12726, 2013.

YAKHLEF, W.; ARHAB, R.; ROMERO, C.; BRENES, M.; CASTRO, A.; MEDINA, E. Phenolic composition and antimicrobial activity of Algerian olive products and by-products. **LWT - Food Science and Technology**, v. 93, p. 323-328, 2018.

YOO, B.; RAO, M. A. Effect of Unimodal Particle Size and Pulp Content on Rheological Properties of Tomato Puree. **Journal of Texture Studies**, v. 25 (4), p. 421–436, 1994.

ZHENG, W.; WANG, S.Y. Antioxidant activity and phenolics compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5165-5170, 2001.

ZIELINSKI, A. A. F.; HAMINIUK, C. W. I.; NUNES, C. A.; SCHNITZLER, E.; van RUTH, S. M.; GRANATO, D. Chemical composition, sensory properties, provenance, and bioactivity of fruit juices as assessed by chemometrics: a critical review and guideline. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p. 300-316, 2014a.

ZIELINSKI, A. A. F.; ÁVILA, S.; ITO, V.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G.; HAMINIUK, C. W. I. The association between chromaticity, phenolics, carotenoids, and in vitro antioxidant activity of frozen fruit pulp in Brazil: an application of chemometrics. **Journal of Food Science**, v. 79, p. 510-516, 2014b.