



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**



**CASCAS LIOFILIZADAS DE MANGA TOMMY ATKINS: TEOR DE
FITOQUÍMICOS BIOATIVOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE**

Recife, 2012

CRISTIANE RODRIGUES DE ARAÚJO

**CASCAS LIOFILIZADAS DE MANGA TOMMY ATKINS: TEOR DE
FITOQUÍMICOS BIOATIVOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE**

Dissertação submetida à Coordenação
do Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos, da
Universidade Federal Rural de
Pernambuco, como requisito para
obtenção do Grau de Mestre em
Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADORA: Profa. Dr^a. Enayde de Almeida Melo
Departamento de Ciências Domésticas/ UFRPE

Recife, 2012

Ficha Catalográfica

A663c Araújo, Cristiane Rodrigues de
 Casca liofilizadas de Tommy Atkins: teor de fitoquímicos
 bioativos e potencial antioxidante / Cristiane Rodrigues de
 Araújo – Recife, 2012.
 133 f. : il.

 Orientadora: Enayde de Almeida Melo.
 Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de
 Alimentos) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,
 Departamento de Ciências Domésticas, Recife, 2012.
 Inclui referências e apêndice

 1. Antioxidantes 2. Casca 3. Carotenóides
 4. Composição centesimal 5. Minerais 6. Planejamento
 experimental 7. Polifenóis 8. Perfil fitoquímico I. Melo,
 Enayde de Almeida, orientadora II. Título

CDD 574.192

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

**CASCAS LIOFILIZADAS DE MANGA TOMMY ATKINS: TEOR DE
FITOQUÍMICOS BIOATIVOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE**

Por: Cristiane Rodrigues de Araújo

Esta dissertação foi julgada para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em 31/08/2012 pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, em sua forma final.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a Enayde de Almeida Melo - Presidenta da Banca
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof^a. Dr^a Andrelina Maria Pinheiro Santos – Membro Externo
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a Nonete Barbosa Guerra – Membro Interno
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a Samara Alvachian Cardoso Andrade – Membro Interno
Universidade Federal de Pernambuco

DEDICATÓRIA

A Deus pela força concedida; a minha mãe, irmãos e Paulo por acreditarem em mim. A Enayde Melo pela dedicação e carinho em todos os momentos.

***“O Senhor é quem vai diante
de ti, ele será contigo, não te
deixará, nem te desampará; não
temas, nem te atemorizes”.***

Deuteronômio 31, vs 8

AGRADECIMENTOS

A Deus por me proporcionar esta realização.

A minha mãe por me guiar a sempre procurar o melhor para minha vida. Ao acreditar e sempre me incentivar;

A minha orientadora que sempre me deu força, ensinamentos e carinho. Um exemplo que irá ficar sempre na minha vida;

A meu noivo pelo companheirismo, afeto e dedicação;

Aos meus irmãos por estarem sempre ao meu lado e confiarem em mim;

A professora Samara Alvachian, por contribuir de forma significativa na conclusão deste trabalho;

A professora Patricia Azoubel por conceder o material (cascas liofilizadas de manga) utilizado neste trabalho;

Aos membros do programa de Pós-graduação em Ciência Tecnologia de Alimentos/UFRPE, pelos ensinamentos e, em especial, a professora Maria Inês Sucupira Maciel, por sempre me incentivar a seguir carreira acadêmica;

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, por proporcionar minha formação acadêmica;

Ao Departamento de Ciências Domésticas por conceder a infraestrutura para execução dos experimentos;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo;

A agroindústria Liofruit, por fornecer as cascas manga Tommy Atkins e proceder a liofilização das mesmas;

A Bunge S/A por ter gentilmente, cedido o óleo de soja para as análises;

As minhas amigas (irmãs) Ana Carla, Rosilda, Diana, Ana Paula, Lidia, Thalita, Náira, Patrícia, Joana, Flavia Rodrigues e Rosana, pela amizade, grandes momentos vividos.

A Rita que foi meu braço direito nas análises. Além disso, considero-a, também, como uma irmã. Muito obrigada, pois sem você esse trabalho não teria sido concretizado;

A todos que torcem por mim e que contribuíram de forma direta ou indireta para conclusão deste sonho.

Muito Obrigada!

LISTA DE ABREVIATURAS

AAPH: Dicloreto de 2,2'-azobis 2-amidinopropano;

ABTS: Ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico;

BHA: Butil-hidroxianisol;

BHT: Butil-hidroxitolueno;

DCCR: Delineamento Compostos Central Rotacional;

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil;

EA: Atividade antirradical;

EAG: Equivalente em ácido gálico;

EC₅₀: Concentração mínima da substância antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do DPPH;

EROs :Espécies Reativas de Oxigênio;

Ext – 5: Extrato cinco;

Ext – 7: Extrato sete;

F_{calculado}: Distribuição dos valores de F calculado;

F1: Relação entre as tangentes das curvas cinéticas da solução-padrão ou teste e o controle entre 15 e 45 min;

F2: Relação entre as tangentes das curvas cinéticas da solução-padrão ou teste e o controle entre 75 e 105 min;

GL: Grau de liberdade;

H₂O₂: Peróxido de Hidrogênio;

HPLC: Cromatografia de liquida de alta eficiência;

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística;

L: linear;

MQ: Média quadrática;

MeOH: Metanol;

NS A: Não sequencial acetona 80%;

NS M: Não sequencial metanol 80%;

NS: Não significativos;

ORAC: Capacidade de absorção do radical oxigenio;

PG: Propil-galato;

Q: Quadrático;

ROO: radical peroxil;

RPM: Rotação por minutos;

R²: Coeficiente de determinação;

S A-M: Sequencial acetona 80% seguido de metanol 80%;

S M-A: Metanol 80% seguido de acetona 80%;

SQ: Soma quadrática;

TEAC: Capacidade antioxidante equivalente ao trolox;

t: Tempo (minutos);

T: Temperatura (°C);

TBHA – Terc-butilhidroquinona;

TROLOX – 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-acido carboxílico;

TR: Tempo de retenção;

VCT: Valor calórico total;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Área plantada e colhida no cultivo da nos Pólos Frutícola ano 2010	25
Figura 2	Produção em toneladas de manga nos Pólos Frutícola ano 2010	25
Figura 3	Valores financeiros (R\$) da produção de manga nos Polos Frutícolas - ano 2010	26
Figura 4	Manga Tommy Atkins	28
Figura 5	Farinhas de resíduos agroindustriais oriundos de polpas de frutas	30
Figuras 6	Estrutura básica dos flavonoides.	33
Figura 7	Estrutura química da mangiferina	34
Figura 8	Estrutura química dos derivados de ácidos benzóicos (a) e cinâmicos (b).	35
Figura 9	Estrutura Química de Alguns Carotenoides	37
Artigo 1		
Figura 1	Casca liofilizada de manga Tommy Atkins (A); Farinha da casca liofilizada de manga Tommy Atkins(B)	60
Figura 2	Cromatograma obtido por CLAE do β -caroteno (1) de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins, provenientes de cultivo orgânico	68
Artigo 2		
Figura 1.	Superfície de resposta em função do tempo e temperatura para extração de fenólicos (Processo de extração sequencial metanol 80% - acetona 80%).	89
Figura 2.	Superfície de resposta em função do Tempo e temperatura para percentual de sequestro do radical DPPH (Processo de extração sequencial metanol 80%-acetona 80%).	90
Figura 3.	Atividade Antioxidante de extratos de manga Tommy Atkins e do ácido gálico (concentração final de 100 μ g de fenólicos totais. ml ⁻¹), em sistema modelo da co-oxidação do β -caroteno/ ácido linoléico, aos 105 minutos de reação. (Valores referentes a médias de três determinações, colunas com letras iguais não	94

diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan $p < 0,05$).

Figura 4. Cinética da reação antioxidante de extratos de manga Tommy Atkins e ácido gálico (concentração final $100\mu\text{g}$ de fenólicos totais. ml^{-1}) em sistema modelo da co-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico. 95

Figura 5. Comportamento Antioxidante de extratos de manga Tommy Atkins e ácido gálico ($100\mu\text{g}/\text{ml}$) pelo método de Tiocianato Férrico. 97

Artigo 3

Figuras 1. Respostas do planejamento fatorial 2^2 completo com 4 pontos fatoriais, 3 pontos centrais e 4 pontos axiais ($\pm \alpha$): (a) Teor de fenólicos totais e (b) capacidade antioxidante dos extratos de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins. 117

Figura 2 Cromatograma dos extratos de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins por HPLC - DAD (ácidos fenólicos): (a) Ext-5: ácido gálico (1); 4-hidroxibenzóico (2); sirígico (3); sináptico (4); 3-hidroxicinâmico (5); salicílico (6); (b) Ext-7: ácido gálico (1); 4-hidroxibenzóico (2); sirígico (3) sináptico (4); 3-hidroxicinâmico (5); salicílico (6); Trimetoxicinâmico (7). 120

Figura 3 Cromatograma por HPLC de flavonóides em extrato de farinha de casca de manga Tommy Atkins. por HPLC - DAD (a) Ext-5: Mangiferina (1); taxofolina (2); Isoquercetina (3) Luteolina (4); (b) Ext-7: Mangiferina (1); taxofolina (2); Isoquercetina (3); mirecetina (4); Luteolina (5). 121

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Polifenóis em diferentes partes da manga	32
Artigo 1		
Tabela 1:	Composição Centesimal, atividade de água e pH de farinha da casca liofilizada de manga Tommy Atkins proveniente de cultivo orgânico	63
Tabela 2:	Minerais em farinha de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins provenientes de cultivo orgânico.	64
Tabela 3	Fitoquímicos bioativos em farinha de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins provenientes de cultivo orgânico	66
Artigo2		
Tabela 1	Matriz de planejamento fracionário 2 ² para obtenção de extratos com elevado teor de fenólicos totais e ação antioxidante relevante (níveis codificados e decodificados das variáveis)	82
Tabela 2	Teor de fenólicos totais de farinha de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins, submetido a planejamento fatorial DCCR 2 ² com 4 pontos axiais e 3 pontos centrais.	87
Tabela 3	Efeitos do tempo e da temperatura sobre o teor de Fenólicos nos quatro tipos de extrações.	88
Tabela 4	Capacidade antioxidante de extratos de farinha de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins	91
Tabela 5	Parâmetros cinéticos de extratos de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins, determinados em sistema modelo da co-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico	96
Tabela 6.	Efeito da adição de extrato da farinha de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins sobre a produção de peróxidos (meq.kg-1) em óleo de soja armazenados em estufa a 60°C	98
Tabela 7.	Efeito da adição de extrato da farinha de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins sobre formação de dienos conjugados (% ácidos dienólicos) em óleo de soja armazenados em estufa a 60°C	99
Artigo 3		
Tabela 1.	Perfil quantitativo de ácidos fenólicos em extratos de cascas liofilizadas de manga Tommy Atinks.	118
Tabela 2	Perfil quantitativo de flavonóides em extratos de cascas liofilizadas de manga Tommy Atinks.	121
Tabela 3	Atividades Antioxidantes de extratos purificados de Cascas Manga	123

SUMÁRIO

1.	Resumo	17
2.	Abstract	18
3.	Introdução	19
	Capítulo I	22
4.	Revisão Bibliográfica	23
4.1	Manga (<i>Mangifera indica L.</i>)	24
4.2	Resíduos Agroindústrias como Fontes de Compostos Bioativos	28
4.3	Compostos Bioativos	31
4.4	Polifenóis	32
4.5	Carotenóides	35
4.6	Efeito dos Antioxidantes Sobre os Radicais Livres	37
4.7	Referência Bibliográfica	40
5.0	Objetivos	52
5.1	Geral	53
5.2	Específico	53
	Capítulo II	54
6.0	Artigo 1: Caracterização Físico-Química de Cascas Liofilizadas de Manga Tommy Atkins	55
6.1	Resumo	56
6.2	Abstract	57
6.3	Introdução	58
6.4	Material e Métodos	59
6.5	Resultado e Discussão	62
6.6	Conclusão	68
6.7	Referências Bibliográficas	68
	Capítulo III	75
7.0	Artigo 2: Casca Liofilizada de Manga Tommy Atkins: Processo de	76

Extração de Polifenóis e capacidade antioxidante

7.1	Resumo	77
7.2	Abstract	78
7.3	Introdução	79
7.4	Material e Métodos	80
7.5	Resultado e Discussão	87
7.6	Conclusão	99
7.7	Referências Bibliográficas	100
8.0	Capítulo IV	107
8.1	Artigo 3: Identificação e Quantificação de Fenólicos e Capacidade Sequestradora de Radical Livre do Resíduo de Manga (<i>Mangifera indica</i> L.) Variedade Tommy Atkins	108
8.2	Resumo	109
8.3	Abstract	110
8.4	Introdução	111
8.5	Material e Métodos	112
8.6	Resultado e Discussão	116
8.7	Referências Bibliográficas	123
9.0	Conclusões Gerais	129

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo caracterizar cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins, provenientes de um cultivo orgânico, quanto à composição centesimal, de minerais, de fitoquímicos bioativos, e o potencial antioxidante além de definir as condições ideais para obtenção de extratos com elevado teor de polifenóis. As cascas liofilizadas foram trituradas, e a farinha submetida às determinações analíticas empregando-se técnicas titulométricas, espectrofotométricas e cromatográficas. Para definição das condições ideais de processo (tempo de agitação; temperatura e tipo de processo) aplicou-se o planejamento fatorial 2^2 , tendo como variáveis independentes: temperatura de 25 a 50°C e tempo de agitação de 30 a 90 min; e como resposta o teor de fenólicos e a capacidade de sequestrar o radical DPPH. O planejamento foi aplicado aos seguintes tipos de processo: a) Extração sequencial-solução hidroacetônica (80%), seguida da solução hidrometanólica (80%); b) Extração sequencial-solução hidrometanólica (80%), seguida da solução hidroacetônica (80%); c) Extração não sequencial-solução hidroacetônica (80%); d) Extração não sequencial-solução hidrometanólica (80%). Os extratos obtidos utilizando as condições ideais foram submetidos aos ensaios antioxidantes, de captura de radicais, em sistema modelo (DPPH; ABTS; ORAC) e aos ensaios antioxidantes em sistemas lipídicos (oxidação acoplada do B-caroteno/ácido linoléico; da peroxidação do ácido linoleico – método tiocianato férrico; e do teste acelerado em estufa), e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para identificação dos polifenóis. A farinha de manga apresentou elevados teores de carboidratos, potássio, sódio, cálcio e fósforo, fenólicos totais, ácido ascórbico e β -caroteno. O planejamento fatorial definiu como ideal a extração sequencial (metanol 80%, seguido por acetona 80%) e as seguintes condições de processo: temperatura de 37,5°C e 25°C e tempo de extração de 30 e 60min; cujos extratos apresentaram, respectivamente, maior teor de fenólicos totais ($2407,16\mu\text{g. mL}^{-1}$) (Ext-5), e maior capacidade de sequestro do radical DPPH (95%) (Ext-7). Os dois extratos exibiram expressiva capacidade antioxidante frente aos radicais livres ABTS, DPPH e ORAC; bem como em meio lipídico. A análise cromatográfica revelou a presença, nos dois extratos, de ácidos fenólicos (derivados do ácido benzóico e cinâmico), flavonóides e uma xantona, porém com diferenças quantitativas e qualitativas entre os perfis dos extratos. O ácido sirínico, ácido sináptico, a taxofolina, a isoquercetina e a mangiferina foram os constituintes majoritários nestes extratos. Assim, considerando a composição química e a ação antioxidante, o resíduo agroindustrial de manga Tommy Atkins surge como uma fonte potencial de antioxidante natural.

Palavras chave: Atividade antioxidante, cascas liofilizadas de manga; HPLC; macronutrientes e micronutrientes; planejamento fatorial, resíduo agroindustrial.

ABSTRACT

This work had as objective to characterize of freeze-dried bark of mango Tommy Atkins, come from organic farming, and defining the conditions of the polyphenols extraction process. The peels were crushed and the flour was submitted to the determination of proximate composition, minerals and bioactive phytochemicals and antioxidant potential employing techniques titrimetric, spectrophotometric and chromatographic. To define the optimal conditions of the process was applied the of factorial design 2² as independent variables: temperature 25-50° C and time stirring 30 to 90 min), and as response the total phenolics concentration in the extract. This experimental design was applied in the following process types: a) Extraction sequentially- hydroacetic solution (80%), followed by hydromethanolic solution (80%); b) Extraction sequentially- hydromethanolic solution (80%), followed by hydroacetic solution (80%); c) Extraction non-sequential-hydroacetic solution (80%) and d) extraction non-sequential- hydromethanolic solution (80%). The extracts were submitted to antioxidant assays, capture radicals in model system (DPPH, ABTS, ORAC) and antioxidant assays in lipid systems (coupled oxidation of β -carotene-linoleic acid, peroxidation of linoleic acid - ferric thiocyanate method, and accelerated storage test in an oven) and high performance liquid chromatography analyses for identification of polyphenols. The mango flour showed high levels of carbohydrates, potassium, sodium, calcium and phosphorus, total phenolics, ascorbic acid and β -carotene. The factorial design defined as the ideal sequential extraction (80% methanol, followed by 80% acetone) and the following process conditions: temperature 37.5°C and 25°C; time stirring of 30 and 60 min, whose extracts showed, respectively, higher total phenolic content (2407.16 μ g. mL⁻¹) (Ext-5), and increased sequestration capacity DPPH (95%) (Ext-7). Both extracts exhibited significant antioxidant capacity against free radicals ABTS, DPPH and ORAC, and in lipid system. The chromatographic analysis revealed the presence in both extracts of the phenolic acids (benzoic acid and cinnamic acid derivatives), flavonoids and a xanthone, but with quantitative and qualitative differences between the profiles of the extracts. Synaptic acid, syringic acid, taxofoline, isoquercetine and mangiferin were the major constituents of these extracts. Thus, considering the chemical composition and antioxidant capacity, the agro-industrial waste of Tommy Atkins mango emerges as a potential source of natural antioxidant.

Keywords: Antioxidant activity; Freeze dried mango peels; HPLC; Macronutrients and micronutrients; Factorial design; Agro industrial waste.

INTRODUÇÃO

O Brasil em função de sua vasta extensão territorial e ampla variação climática possui uma das maiores diversidades de espécies frutíferas do mundo. As regiões Norte e Nordeste, em especial, produzem grande variedade de frutos tropicais, nativos e exóticos com boas perspectivas para exploração econômica (SACRAMENTO; SOUZA, 2000). Dentre as espécies frutíferas destaca-se a manga, umas das principais frutas tropicais cultivadas no mundo. No território brasileiro, a variedade Tommy Atkins encontra-se em 80% da área cultivada com manga, com plantio representativo no Estado de Pernambuco. Esta fruta, além de ser bastante apreciada em sua forma *in natura*, também é consumida como produtos industrializados, a exemplo da polpa congelada. No processo de beneficiamento deste fruto há o descarte do caroço e da casca, subprodutos que correspondem a 35-60% do peso dos frutos, a casca representa 15-20% desse peso (ALMEIDA, et al, 2001b; GENU e PINTO, 2002).

Vale ressaltar que algumas frutas podem potencialmente conter maior teor de compostos antioxidantes nas sementes e cascas do que na polpa, ou ainda, o perfil dos fitoquímicos antioxidante ser diferenciado nestas partes do vegetal (GUO et al., 2003). Como consequência, muitas vezes, a ação antioxidante desses subprodutos é superior à exibida pela porção comestível da fruta, como evidenciado por Soong e Barlow (2004) ao estudarem a ação antioxidante das sementes e porção comestível de abacate, jaca, manga e tamarindo.

Sabe-se que lipídeos, especialmente os insaturados, estão sujeitos a reações de oxidação que podem alterar, de modo indesejável, as características organolépticas e nutricionais do alimento. O desenvolvimento de odor e sabor desagradáveis torna os produtos alimentícios inaceitáveis pelos consumidores, além disso, há redução da vida útil do alimento, podendo, ainda, os produtos da oxidação lipídica desencadear a peroxidação *in vivo*, resultando em sérios problemas de saúde (HALLIWELL, 1995). A indústria de alimentos com a finalidade de inibir ou retardar esta reação empregam no processo antioxidante sintético, como aditivos alimentares. Entretanto, a inocuidade desses coadjuvantes vem sendo questionada, aliado ao fato de que

os consumidores têm demonstrado interesse por produtos naturais. Frente a estas constatações, atualmente, as pesquisas estão voltadas para a busca de compostos naturais que apresentem esta propriedade funcional.

Dentro deste contexto, a casca de manga, subproduto da agroindústria, apresenta-se como uma fonte natural, potencialmente promissora e barata de antioxidante (ALMEIDA, et al, 2001b; GENU e PINTO, 2002). Portanto, torna-se relevante investigar a capacidade antioxidante deste material frente à perspectiva de utilizá-lo como fonte de antioxidante natural a ser empregado como aditivo em produtos alimentícios. O aproveitamento desse material poderá constituir-se numa atividade econômica, social e ecológica interessante, uma vez que poderá permitir a ampliação dos lucros, geração de novos empregos e redução do lixo disposto no meio ambiente.

CAPITULO I

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Manga (*Mangifera indica* L.)

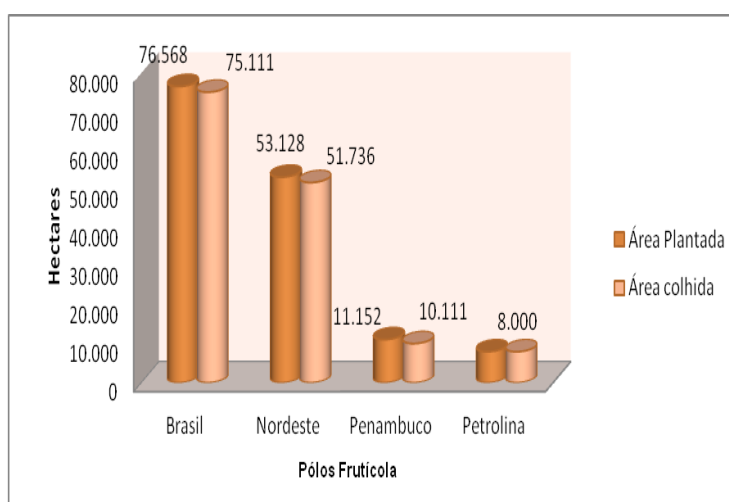
A mangueira, árvore frutífera, pertencente à família *Anacardiaceae* do gênero *Mangifera*, da classe dicotiledônea, com aparência frondosa, é uma árvore perene de médio a grande porte, podendo atingir até 30 metros de altura. Sua raiz é pivontante, permitindo uma boa sustentação da planta e sobrevivência em períodos de seca. Sua inflorescência é polígama, ou seja, apresenta flores hermafroditas e masculinas na mesma panícula, que dependendo da cultivar, pode produzir frutos com características distintas. Desta forma, o fruto poderá apresentar tamanho e peso variando de poucos gramas a 2kg, além de diferentes formatos (ovada, oblonga, arredondada), e casca com variações de cores (verde, amarelo e vermelho) (CASTRO NETO; CUNHA, 2000; GENÚ; PINTO, 2002).

O fruto da mangueira é uma drupa composta por exocarpo (casca), mesocarpo (polpa) e endocarpo (caroço), de aparência exótica. A casca é macia e envolve a polpa de coloração amarela, que pode apresentar-se fibrosa de acordo com a cultivar. No interior da polpa encontra-se o caroço que é fibroso, apresentando formas similares, mas de tamanhos diferenciados. Além de serem caracterizados em diversas variedades, os frutos podem ser divididos em dois grupos: o Indiano, monoembriônicas, fortemente aromáticas, de coloração atraente e suscetível à antracnose; e o indochinês, poliembriônicas, com caroços longos e achatados, pouco aromáticas e resistentes à antracnose (CASTRO NETO; CUNHA, 2000; GENÚ; PINTO, 2002).

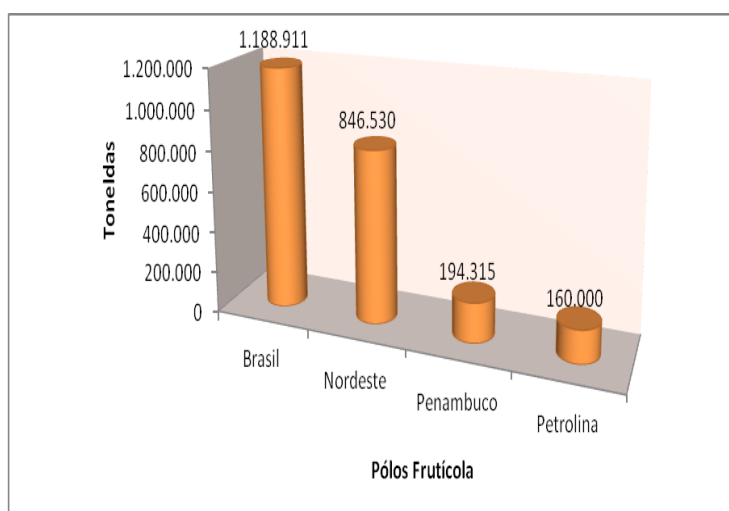
Do ponto de vista econômico, a região Nordeste, destaca-se por apresentar localização privilegiada em relação ao transporte destes frutos para mercados internacionais, como os Estados Unidos, contribuindo para que os produtores nordestinos tornem-se potenciais exportadores (ALMEIDA et al., 2001; CINTRA; BOTEON, 2008). Nesta região, o semiárido tem produzido frutos de alta qualidade, incrementando as exportações, conferindo destaque para a cidade de Petrolina - PE, localizada no Vale do São Francisco.

É interessante notar que nos polos frutícolas a área plantada não corresponde à área colhida, com exceção da cidade de Petrolina (Figura 1),

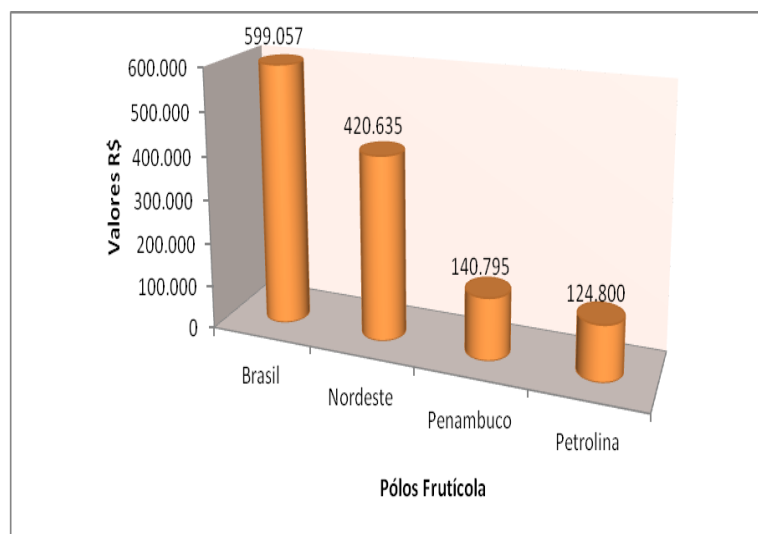
conforme dados do IBGE (2011). Quanto à produção de manga no ano de 2010, o Brasil atingiu 1.188.911 toneladas, sendo 846.530 toneladas produzidas na região Nordeste, das quais 20% (160.00 toneladas) foram produzidas em Petrolina (Figura 2). Consequentemente, a região nordeste contribuiu de forma significativa com o faturamento brasileiro, com destaque para Petrolina responsável por cerca de 20% e 90% do faturamento do País e do Estado de Pernambuco, respectivamente (Figura 3) (IBGE, 2011).



Figuras 1: Área plantada e colhida no cultivo da manga nos Polos Frutícolas - ano 2010.
(FONTE: IBGE, 2011)



Figuras 2: Produção em toneladas de manga nos Polos Frutícolas - ano 2010.
(FONTE: IBGE, 2011)



Figuras 3: Valores financeiros (R\$) da produção de manga nos Polos Frutícolas - ano 2010.

(FONTE: IBGE, 2011)

A escolha da variedade a ser cultivada é considerada um dos fatores econômicos mais importantes para o estabelecimento competitivo da mangicultura. As variedades mais indicadas são as que apresentam plantios com alta produtividade; frutos com cascas de coloração atraente, preferencialmente avermelhada, e polpa doce com pouca ou nenhuma fibra, além da resistência ao manuseio e ao transporte para mercados distantes. A regularidade da produção e a resistência a doenças como malformação floral e antracnose, além de baixa incidência de colapso interno do fruto são outras qualidades desejáveis (PINTO; MATOS; CUNHA, 2000). Costa e Santos (2004) ressaltam, ainda, as preferências do mercado consumidor como um dos principais fatores a ser considerada na escolha da variedade, a produtividade de uma determinada variedade para uma determinada região, levando em consideração do potencial de mercado, além das limitações fitossanitárias e de pós-colheita. Como a mangueira é uma planta com longo período juvenil, a escolha da variedade errada poderá ocasionar enormes prejuízos em curto prazo.

Enquanto o produtor busca variedades com boas características de cultivo, o consumidor valoriza a qualidade do fruto relacionada ao sabor,

rendimento e textura da polpa (PINTO, 2002). Assim, os parâmetros a serem usados na avaliação da qualidade da manga são aparência externa, sabor, odor, teor de fibras, textura, valor nutritivo, tamanho, massa e o formato do fruto. Entretanto, essas características de qualidade poderão variar muito, em função da variedade e do local de cultivo, além de ocorrer alterações sensíveis durante o processo de amadurecimento (ARAÚJO, 2004)

Vários plantios representativos de manga estão concentrados no Sudoeste baiano, no Norte de Minas Gerais, no Ceará, no Rio Grande do Norte, em Sergipe, na Bahia, em Pernambuco e em São Paulo. Os principais centros consumidores são as capitais das regiões Nordeste, Sul e Sudeste. Grande parte dos plantios comerciais é formada por variedades trazidas da Florida (EUA), porém originárias da Índia. Muitas destas variedades foram introduzidas no Brasil a partir da década de 60, e muitas delas representam a base da mangicultura brasileira para exportação. Dentre estas variedades destaca-se a cultivar Tommy Atkins, que surgiu em Fort Lauderdale, Florida (EUA), como uma progênie da variedade Haden, e é responsável pela grande fatia de produtos exportados da fruticultura brasileira (GENU, PINTO, 2002).

Em geral, a variedade Tommy Atkins apresenta maior produção e crescente consumo na região Nordeste, principalmente por suas agradáveis propriedades sensoriais. Vale ressaltar que a produção integrada desta fruta no Vale do São Francisco foi iniciada por meio da parceria entre a empresa Valexport, Embrapa Semiárido, devido à preocupação dos produtores por frutos que atendessem as exigências do mercado internacional (GENU, PINTO, 2001; CANUTO, 2009).

A manga Tommy Atkins apresenta tamanho médio a grande, formato oval e casca espessa com coloração laranja-amarelada, coberta com vermelho púrpura intensa (Figura 4). Caracteriza-se como um fruto de alta aceitação comercial, oferece suculência, firmeza e teor de fibra inferior a outras variedades. Além disso, apresenta resistência à antracnose, e é considerada precoce, por amadurecer bem, se colhida no estágio imaturo, além de ser resistente a processos tecnológicos, tornando-se a preferida dos agricultores brasileiros (ALMEIDA, et al, 2001).

A composição química da manga pode variar com as condições de cultura, variedade, estágio de maturação, mas, em geral, a fruta *in natura*, quando comparada a outras frutas, apresenta alto teor de sólidos solúveis totais. Algumas variedades, como a Tommy Atkins, podem apresentar valor de sólidos solúveis em torno de 12% logo no início da maturação, fato considerado normal, visto que há um alto teor de ácidos orgânicos presente nesta fase de maturação (COCOZZA, 2003; CHITARRA, CHITARRA, 2005). É, também, uma rica fonte de antioxidantes, incluindo os carotenoides (GODOY e RODRIGUEZ-AMAYA, 1989) e compostos fenólicos (BERARDINI, CARLE, SCHIEBER, 2004). Vale ressaltar, ainda, que a composição volátil da manga, responsável pelo aroma característico da fruta, também, é muito importante como atrativo comercial. Esta é considerada como uma das características relacionadas à qualidade que pode variar de acordo com as diferentes partes do fruto, como a casca e a polpa (LALEL; SINGH; TAN, 2003). Além de ser influenciado por diversos fatores como variedade, procedência geográfica, estágio de maturação, condições de conservação e o método de extração (HERIANUS; SINGH; TAN, 2003).



Figura 4: Manga Tommy Atkins
(FONTE: EMBRAPA, 2011)

Resíduos Agroindustriais Como Fontes de Compostos Bioativos

O consumo de frutos tem aumentado significativamente em todo mundo em função de uma sociedade moderna que busca, a cada dia, hábitos de vida mais saudáveis e naturais. A conveniência e a praticidade na hora de comprar

e consumir frutos tem levado os consumidores a demandar produtos prontos ou semi-pronto para o consumo (MORETTI, 2007). Neste contexto, encontram-se inseridas as polpas, sucos, doces e geléias de frutas. Resultantes do processamento para obtenção destes produtos estão os resíduos sólidos, constituídos pelas sementes e cascas, que na maioria das vezes são descartados, quando poderiam ser utilizados para minimizar o desperdício de alimentos (KOBORI, JORGE, 2005).

Estima-se que no processamento de frutos, como manga, acerola, maracujá e caju, 40% do peso dos mesmos sejam desprezados como resíduos agroindustriais, contribuindo, assim, para o agravamento do impacto ambiental gerado pelo lixo orgânico (LOUSADA Jr. et al., 2006). A composição dos resíduos gerados no processamento de alimentos é extremamente variada e depende tanto da natureza da matéria-prima como da técnica de produção empregada (MORETTI; MACHADO, 2006). A industrialização de produtos que utilizem a manga como matéria-prima pode ser uma alternativa para atenuar as perdas pelo aproveitamento das frutas fora do padrão de comercialização *in natura*. Porém, as cascas deste fruto, que apresentam em sua constituição, nutrientes e compostos bioativos, podem ser utilizadas na produção de alimentos saudáveis, pela incorporação de fibras e compostos com atividade antioxidante, promovendo a diminuição do descarte de resíduos orgânicos sólidos (DAMIANI, et al.2009).

A Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO) estima que o Brasil descarte, 26,3 milhões de toneladas de alimento, enquanto uma grande parcela de pessoas, composta de 15 milhões de brasileiros, não tem o que comer (ESTECHE, 2008). Sendo assim, a busca de utilizações viáveis e econômicas para o aproveitamento de resíduos das agroindústrias torna-se interessante, de modo que, sempre que possível, o resíduo final seja matéria prima para um novo produto, viabilizando o sustento de pequenos e médios agricultores.

Neste sentido, existem diversos estudos voltados ao aproveitamento de resíduos agroindustriais como matéria-prima para enriquecimento nutricional de rações de animais, realizada há décadas com o objetivo de aumentar a qualidade do produto final e/ou reduzir os custos da produção. Lousada Jr. et

al, (2006) relatam a utilização de resíduos de abacaxi, acerola, goiaba, maracujá e melão como fonte alimentar para ovinos. Alimentos como extrato de urucum, polpa de caju desidratada, farelo de resíduo de manga têm sido testados com bons resultados em rações para poedeiras e frangos de corte (SILVA, et al., 2005; RAMOS, et al., 2006; VIEIRA, et al, 2008).

Visando à redução do impacto ambiental e o desenvolvimento de tecnologias, resíduos agroindustriais vêm sendo utilizados em vários produtos. Damiani et al. (2009) produziram geleia de manga substituindo a polpa por cascas de manga, obtendo um produto nutricionalmente enriquecido. A inclusão de farelo de casca de maracujá na formulação de cereal matinal proporcionou a obtenção de um cereal de boa qualidade, com aproximadamente 11% de fibra alimentar (VERNANZA, CHANG, STELL, 2009). Abund e Narain (2009) elaboraram biscoitos utilizando, como enriquecedor nutricional, farinhas de resíduos de goiaba, maracujá, acerola e umbu (Figura 5).



Figura 5: Farinhas de resíduos agroindustriais oriundos de polpas de frutas

(Fonte: ABUND, NARAIN, 2009)

Geralmente os resíduos agroindustriais são utilizados como suplementos alimentares em animal ou humano na forma de farinha, por ser mais simples e fácil a sua incorporação no alimento, propiciando, conseqüentemente, sua aceitação. Para isso se faz uso de tecnologias que transformem a matéria orgânica úmida em matéria orgânica seca, para em seguida ser triturada. O

método de secagem mais utilizado é a desidratação que aplica calor sob condições controladas para remover, por evaporação, a maioria da água normalmente presente em um alimento (FELLOWS, 2005). Contudo, a utilização desta tecnologia pode, dependendo do alimento, promover mudanças em suas características sensoriais e principalmente nutricional. Outro método de secagem bastante utilizado é a liofilização que consiste em desidratar o alimento por sublimação. Esta técnica é empregada, principalmente, em alimentos que apresentam aromas delicados (suco de frutas, hortaliças), evitando severas perdas nutricionais (FELLOWS, 2005).

Para melhor aproveitamento de resíduos agroindustriais deve-se conhecer a sua composição bem como suas propriedades funcionais. (HOFFMANN-RIBANI, HUBER, RODRIGUEZ-AMAYA, 2009; GONDIM, et al, 2005). Nesta perspectiva, vários estudos vêm sendo realizados. Viera et al, (2009) caracterizaram o resíduo agroindustrial de manga da variedade Ubá, indicando ser esta matéria-prima uma rica fonte de nutrientes, podendo ser incluído na alimentação humana. Ação antioxidante foi constatada em sementes de citrus (BOCCO, et al. 1998); casca de maçã (WOLFE; WU; LIU, 2003), resíduo de vinicultura (CATANEO, et al, 2008) e em sementes de uvas (MIELINIK, et al. 2006), entre outros. Entretanto, estudos relacionados à atividade antioxidante de resíduos de frutas tropicais e subtropicais são escassos.

Compostos Bioativos

Evidências epidemiológicas têm demonstrado existir uma relação inversa entre a ingestão de vegetais e a incidência de doenças crônicas não transmissíveis. Desta forma, sugerem como ideal uma dieta rica em vegetais a fim de prevenir estas patologias. Os efeitos benéficos decorrentes da ingestão regular de vegetais, dentre eles frutas e derivados, estão associados à presença de fitoquímicos bioativos. (TIBOLA; FACHINELLO, 2004; AJILA, et al, 2007). O efeito protetor exercido por estes alimentos tem sido atribuído à presença de compostos, nutrientes ou não nutrientes, fisiologicamente ativos, denominados de compostos bioativos ou funcionais, muitos exibindo ação

antioxidante, dentre os quais se destacam os polifenóis e os carotenóides (RICE-EVANS; MILLER; PAGANDA, 1996). Dentre os frutos, a manga se ressaltar por apresentar considerável teor de fitoquímicos com reconhecida ação antioxidante e consequente efeito benéfico sobre a saúde (KIM, BRECHT, TALCOTT, 2007). Vários estudos vêm sendo desenvolvidos com o intuito de identificar e quantificar o teor de polifenóis em mangas de diferentes variedades e sua ação antioxidante (Tabela 1). Os dados demonstram que polifenóis estão presentes tanto na polpa, cascas e no caroço deste fruto.

Tabela 1: Polifenóis em diferentes partes da manga de várias espécies

Partes do fruto	Compostos quantificados	Referências
Polpa	Galotaninos; ácido gálico, ácido m-digálico; mangiferina	Saeed, Karamalla, Khattab (1976)
Cascas	Polifenóis totais	Larrauri <i>et al.</i> (1996)
Polpa	Polifenóis totais	Gorinstein <i>et al.</i> (1999)
Purê da polpa	Quercetina; Kampferol.	Schieber, Ullrich, Carle (2000)
Casca cozida	Polifenóis totais	Núñez-Sellés <i>et al.</i> (2002)
Caroço	Alto teor de fenólicos; alta ação antioxidante.	Soong, Barlow (2004)
Casca	Polifenóis	Berardini <i>et al.</i> (2005)
Polpa	Ácido gálico e elágico	Soong, Barlow (2006);
Casca e Polpa	Fenólicos totais e forte ação antioxidante	Melo, Araújo (2011)

Polifenóis

Os compostos fenólicos ou polifenóis, quimicamente, podem ser definidos como substâncias que possuem um anel aromático contendo um ou mais grupos hidroxílicos, incluindo os seus derivados funcionais. Possuem estrutura variável, constituindo um amplo grupo de substâncias, com mais de 8000 estruturas fenólicas conhecidas, que se encontram largamente

distribuídas no reino vegetal. Estes compostos são gerados no metabolismo secundário dos vegetais e são capazes de reagir com o radical livre, formando radical estável. Esse poder de neutralizar as estruturas radicalares decorre de sua estrutura química, constituída por, pelo menos, um anel aromático com grupamentos hidroxila. A intensidade da ação antioxidante está associada ao número e posição de hidroxilas presentes na molécula (GIADA; MANCINI FILHO, 2006; HEIM, TAGLIAFERRO; BOBYLLA, 2002; OU et al., 2001).

Dentre os compostos que integram este grupo destacam-se os flavonóides e os ácidos fenólicos. Os flavonóides são quimicamente constituídos por 15 átomos de carbono ($C_6 - C_3 - C_6$). As duas partes da molécula com seis carbonos são anéis aromáticos, denominados de anel A e B, unidos por três carbonos que formam um anel γ pirano, denominado de anel C (Figura 6). Os flavanóis, antocianidinas, flavonóis, flavonas, isoflavonas e flavanonas compreendem as principais classes dos flavonoides (FRANCKI; GOLLUCKE; PIMENTEL, 2005).

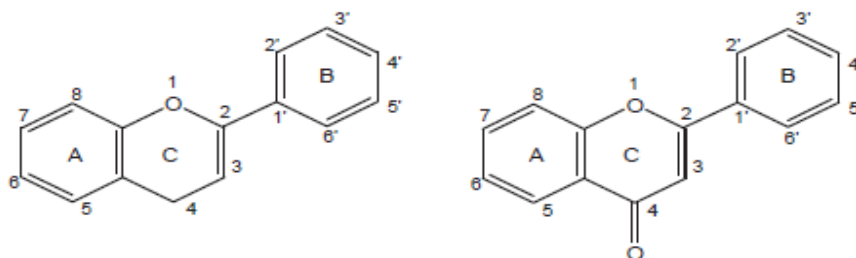


FIGURA 6: Estrutura básica dos flavonoides.

(FONTE: ÂNGELO; JORGE, 2007)

A atividade biológica dos flavonóides e de seus metabólitos depende da sua estrutura química e dos vários substituintes da molécula, uma vez que a estrutura básica pode sofrer uma série de modificações, tais como, esterificação, hidroxilação, entre outras alterações que irão modular a polaridade, toxicidade e direcionamento intracelular destes compostos. Os flavonoides, exceto as catequinas, são encontrados em plantas, principalmente, na forma glicosilada, ou seja, ligados a moléculas de açúcares. Geralmente são *o*-glicosídeos, com a molécula de açúcar ligada ao grupo

hidroxila na posição C3 ou C7. Menos frequentemente são encontrados isolados na forma de agliconas (OSZMIANSKI, WOJDYLO, LAMER-ZARAWSKA, 2007).

A *Mangiferina* é um flavonoide comumente presente em frutos da família *Anarcadeacea*, a exemplo da manga. Encontra-se, principalmente, nas cascas deste fruto, bem como, nas folhas da mangueira (YOSHIMI *et al.*, 2001). Este flavonoide, pertencente ao grupo das xantonas (C6-C1-C6) (Figura 7), composto derivado da C-glicosilxantona (NONG *et al.* 2005). Alguns estudos ressaltam que a mangiferina exibe múltiplas atividades biológicas, como por exemplo, excelente atividade antiviral (LEIRO *et al.*, 2004); ação antioxidante (MISHRA *et al.*, 2006) e imunoprotetora (LEIRO *et al.*, 2004). A bioatividade da mangiferina está relacionada com sua ação antioxidante, atuando como sequestrador de espécies radicalares e como quelante de metal (MURUNGANANDAN *et al.* 2005).

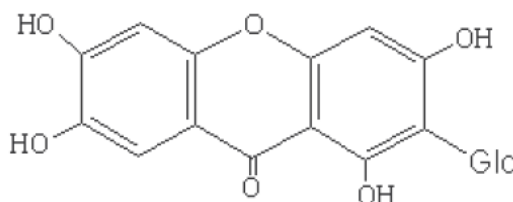


Figura 7. Estrutura química da mangiferina
(Fonte: NOTT; ROBERTS, 1967)

Os ácidos fenólicos caracterizam-se por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos hidroxila e/ou metoxila na molécula, estrutura que lhes confere propriedade antioxidante (SOARES, 2002). Estes compostos estão reunidos em dois grupos, a saber: derivados do ácido hidroxibenzóico e derivados do ácido hidroxicinâmico (Figura 8). No primeiro grupo os compostos apresentam sete átomos de carbono (C6-C1), constituído por um anel aromático e um grupo carboxílico ligado a este anel. O ácido gálico, p-hidroxibenzóico, protocatecuico, vanílico e siríngico são alguns compostos que integram este grupo. O segundo grupo reúne compostos com

nove átomos de carbono (C6-C3), formando um anel aromático com uma cadeia carbônica linear, constituída por 3 carbonos, ligada ao anel. O ácido caféico, ferúlico, p-cumárico e sináptico são os integrantes mais comuns deste grupo (BALASUNDRAM, SUNDRAM, SAMMAN, 2006; ANGELO; JORGE, 2007).

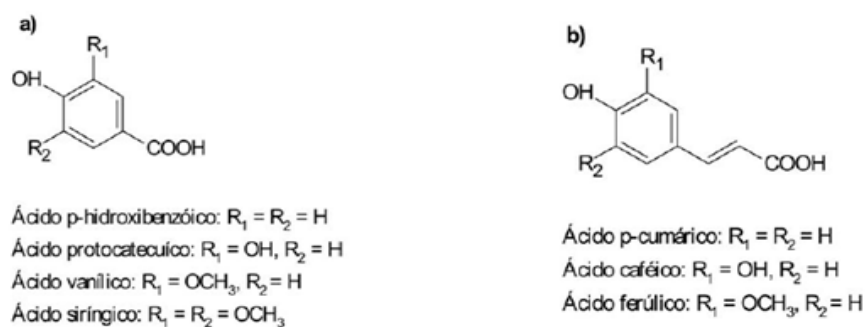


Figura 8: Estrutura química dos derivados de ácidos benzóicos (a) e cinâmicos (b).
 (FONTE: ÂNGELO; JORGE, 2007)

Estes compostos são substâncias capazes de prevenir ou reduzir os efeitos deletérios da oxidação por meio dos seguintes mecanismos: inibição da lipoperoxidação; sequestro de radicais livres e/ ou quelando íons metálicos. No entanto, os hidroxicinâmicos por apresentarem dupla ligação na cadeia carbônica lateral são antioxidantes mais ativos do que os derivados do ácido benzóico. Esta dupla ligação presente na molécula participa da estabilidade do radical por ressonância de deslocamento do elétron desemparelhado. (BALASUNDRAM, SUNDRAM, SAMMAN, 2006)

Carotenoides

Os carotenoides são pigmentos naturais responsáveis pela cor amarela, laranja ou vermelha de muitos alimentos, propriedade tecnologicamente importante uma vez que a cor é o atributo que mais influencia na aceitação dos alimentos. Aliado a isto, apresentam propriedades terapêuticas e biológicas, contribuindo para o combate de patologias crônicas, despertando interesse da comunidade científica no mundo inteiro (COSTA, et al, 2010). As atividades

biológicas relativas ao fortalecimento do sistema imunológico e a diminuição do risco de doenças degenerativas, como câncer, doenças cardiovasculares, degeneração macular e catarata, têm sido atribuídas aos carotenoides (RODIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Quimicamente, os carotenoides, em geral, são tetraterpenóides (C_{40}), formados pela união cauda-cabeça de oito unidades isoprenóides (C_5), exceto na posição central, onde a junção ocorre no sentido cauda-cauda, invertendo, assim, a ordem, e resultando em uma molécula simétrica. Os grupos metila centrais estão separados por seis carbonos, enquanto que os demais, por cinco. Como característica de maior destaque, apresentam um sistema extenso de duplas ligações conjugadas, denominado cromóforo, que lhes confere cor, quando reúne no mínimo 7 duplas ligações, e propriedade antioxidante, neutralizando espécies reativas de oxigênio, como o oxigênio singlete (RODIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Dependendo de sua estrutura química, os carotenoides classificam-se em carotenos ou xantofilas. Os primeiros são hidrocarbonetos poliênicos com variados graus de insaturação, e as xantofilas, sintetizadas a partir dos carotenos, por meio de reações de hidroxilação e epoxidação, apresentam oxigênio em sua molécula (Figura 9). Devido ao alto grau de instauração de sua molécula, estes compostos são extremamente susceptíveis as reações oxidativas. No entanto, a estrutura celular e a complexação com proteínas lhes conferem certa estabilidade (ALVES et al.; 2008). Porém, a estabilidade destes compostos varia ainda em função do tipo de processamento e estocagem, temperatura, disponibilidade de oxigênio, exposição à luz, atividade de água, acidez, e da presença de metais em alimentos (GODOY; RODRIGUES-AMAYA, 1998).

Em manga Tommy Atkins cultivada em Minas Gerais, Oliveira et al. (2011) identificaram na polpa deste fruto a presença de β -caroteno ($1557,1 \pm 180,2 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$).

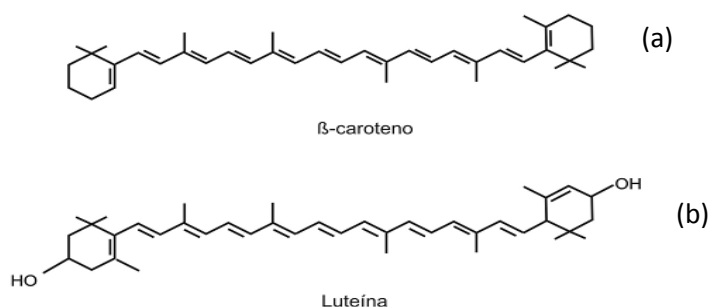


Figura 9: Estrutura química de caroteno (a) e xantofila (b)

(Fonte: AMBRÓSIO, CAMPOS, FARO, 2006)

Efeito dos Antioxidantes Sobre os Radicais Livres

Há evidências que a presença dos radicais livres em nosso organismo pode ocasionar danos às células, proporcionando patologias, tais como inflamação, doenças cardiovasculares e envelhecimento precoce. No entanto, recentes estudos indicam que o consumo freqüente de frutas está associado à menor risco de doenças crônicas, incluindo o câncer (WRIGHT et al, 2008). Este efeito protetor está relacionado à presença de compostos bioativos com potencial antioxidante, contidos nos vegetais (GOULART, et al, 2009)

Os radicais livres, também denominados de espécie reativas de oxigênio (EROs), são moléculas que possuem um ou mais elétrons desemparelhados em sua estrutura atômica. Estas espécies reativas produzidas constantemente pelo organismo têm origem endógena e exógena. Os primeiros provêm de reações bioquímicas fisiológicas, a exemplo da respiração aeróbica. Vale ressaltar que espécies reativas de oxigênio, especialmente os radicais hidroxilas e peroxilas, e o ânion superóxido, têm papel importante nas reações bioquímicas e fisiológicas do corpo humano. Os radicais de origem exógena provêm da exposição do organismo ao fumo, à dieta nutricionalmente desequilibrada, a ingestão de alimentos oxidados, a radiações ultravioletas e a poluição (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Os radicais livres nos seres vivos são estabilizados ou desativados por diversos compostos antioxidantes de origem endógena e/ou exógena. A dieta alimentar pode prover vários compostos antioxidantes, dentre os quais se destacam tocoferóis (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), polifenóis,

selênio e carotenoides. Entretanto, quando ocorre produção excessiva destes radicais durante os processos patofisiológicos e/ou a exposição do organismo a fatores ambientais adversos, e concomitantemente houver uma baixa disponibilidade de antioxidantes *in vivo*, poderão ocorrer danos à saúde do ser humano (MOLYNEUX, 2004). Nos últimos anos, evidências têm demonstrado que as espécies reativas de oxigênio (EROs) estão envolvidas no envelhecimento e na instalação de doenças crônicas não transmissíveis, tais como câncer, doenças cardiovasculares, declínio do sistema imune, entre outras (ATOUI et al., 2005).

A oxidação é uma reação que também ocorre nos alimentos promovendo a perda do seu valor nutritivo, pois há decomposição dos ácidos graxos e a formação de compostos que podem reagir com outros nutrientes, além de serem prejudiciais para o organismo humano (MARINOVA, YANISHILIEVA, 2003). Com o fim de inibir ou reduzir a velocidade da reação oxidativa nos alimentos, antioxidantes sintéticos são empregados, como aditivos alimentares, pela indústria alimentícia. Os compostos mais utilizados com esta finalidade são o butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxi-tolueno (BHT), *terc*-butil-hidroxi-quinona (TBHQ). A estrutura fenólica destes compostos permite a doação de hidrogênio a um radical livre, regenerando, assim, a molécula do acilglicerol e interrompendo o mecanismo de oxidação. Dessa maneira, os derivados fenólicos transformam-se em radicais livres, porém por serem mais estáveis não desencadeiam a oxidação (RAMALHO; JORGE, 2006).

No entanto, antioxidantes sintéticos promovem efeitos tóxicos. O Propilgalato (PG), por exemplo, quando em presença de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) reage com íons ferrosos formando espécies reativas de oxigênio, as quais podem posteriormente atacar alvos biológicos (GOULART, et al, 2009). Em animais, evidenciaram que a exposição aguda e prolongada promoveu o desenvolvimento de tumores de fígado, pâncreas e glândulas (HIROSE *et al.*, 1986), carcinogênese no estômago de ratos (ITO *et al.*, 1983) e adenomas e carcinomas em células hepáticas (WÜRTZEN e OLSEN, 1986). Diante destas evidências, iniciaram-se pesquisas na busca por antioxidantes naturais, frente

às constatações dos efeitos benéfico destes constituintes (BUB et al., 2003; SALLAM, ISHIOROSHI, SAMEJIMA, 2004; REEDY, UROOJ, KUMAR, 2005).

A estrutura química dos compostos naturais permite que atuem como redutores, desempenhando papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (CHUN, 2005).

Estas constatações motivaram o desenvolvimento deste trabalho com vistas a investigar o potencial antioxidante de cascas de manga, um subproduto da agroindústria.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUD, A. K. S.; NARAIN, N. Incorporação da farinha de resíduo do processamento de polpa de fruta em biscoitos: uma alternativa de combate ao desperdício. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.12, n.4, p.257-265, 2009.

AJILA, C. M; JAGANMOHAN RAO, L. PRASSADA RAO, U. J. S. Characterization of bioactive compounds from raw and ripe *Mangifera indica* L. peel extracts. **Food and Chemical Toxicology**, v.48, n.12, p.3405-3411, 2010.

ALMEIDA, C. O. SOUZA, J. S., MENDES, L. N.; PEREIRA, R. J. Tendências do Mercado Internacional de Manga. Documento Técnico- Científico. **Revista Econômica do Nordeste**, v.32, n.1, p.112-120, 2001.

ALVES, C. C. O., RESENDE, J. V., CRUVINEL, R. S. R., PRADO, M. E. T. Estabilidades da microestrutura e do teor de carotenóides de pó obtidos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) liofilizada. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.28, n.4, p.830-839, 2008.

AMBRÓSIO, C.L.B.; CAMPOS, F.A.C.S.; FARO, Z.P. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista de Nutrição**, v.19, n.2, p.233-243, 2006.

ANGELO PM, JORGE N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v66, n.1, p.232-240, 2007.

ARAÚJO, J.L.P. Mercado e comercialização da manga. In: MOUCO, M.A.C. **Cultivo da Mangueira**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, Sistemas de Produção, 2. Versão eletrônica, 2004.

ATOUI, A. K. MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: their antioxidant. Activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v.89, n.1, p. 27-39, 2005.

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, n.1, p.191-203, 2006.

BERARDINI, N., CARLE, R., SCHIEBER, A. Characterization of gallotannins and benzophenone derivatives from mango (*Mangifera indica* L. cv. “Tommy Atkins”) peels, pulp and kernels by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. **Rapid Communication in Mass Spectrometry**, v.18, n.19, p.2208-2216, 2004.

BERARDINI, N.; FEZER, R.; CONRAD, J.; BEIFUSS, U.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Screening of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars for their contents of flavonol O- and 161 xanthone C-glycosides, anthocyanins and pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.5, p.1563-1570, 2005.

BIANCHI M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v.12, n.2, p.123-130, 1999.

BOCCO, A.; CUVELIER, M-E; RICHARD, H.; BERSET, C. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, n.6, p.2123 – 2129, 1998.

CANUTO, K. M; SOUZA NETO, M. A; GARRUTI, D. A. Composição química volátil, em diferentes estádios de maturação, de manga ‘Tommy Atkins’ produzida no vale do São Francisco. **Química Nova**, v.32, n.9, p.2377-2381, 2009.

CASTRO NETO, M. T., CUNHA, G. A. P. Aspectos botânicos. In: **Manga Produção: aspectos técnicos**. Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas – BA). Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência da Tecnologia, 2000, 15-16p.

CATANEO, C. B.; CALIARI, V.; GONZAGA, L. V; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Semina: Ciências Agrárias**, v.29, n.1, p.93-102, 2008.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 783p.

CHUN, S.-S.; VATEM, D. A.; LIN, Y.-T.; SHETTY, K.; Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. **Process Biochemistry**, v.40, n.2, p.809 – 816, 2005.

CINTRA, R. F.; BOTEON, M. **Avaliação do desempenho regional dos principais pólos produtores de manga no Brasil**, 2008 Disponível em: http://cepea.esalq.usp.br/pdf/Manga_Sober.doc. Acesso em 10/10/2011

COCOZZA F. D. M. **Maturação e conservação de manga 'Tommy Atkins' submetida à aplicação pós-colheita de 1metilciclopropeno**. Campinas: UNICAMP, 2003, 198p. (Tese doutorado)

COSTA, J. G.; SANTOS, C. A. F. Cultivares. In: MOUCO, M.A.C. **Cultivo da Mangueira**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, Sistemas de Produção, 2. Versão eletrônica, 2004.

COSTA, T. S. A; WONDRACEK, D. C; LOPES, R. M; VIEIRA, R. F; FERREIRA, F. R. Composição de carotenóides em canistel (*Pouteria campechiana* (Kunth) Baheni). **Revista Brasileira de. Fruticultura**, v.32, n.3, p. 903 – 906, 2010

DAMIANI, C.; VILAS BOAS E. V. B.; SOARES JUNIOR M. S.; CALIARI, M.; PAULA M. L.; ASQUIERI, E. R. Avaliação química de geléias de manga formuladas com diferentes níveis de cascas em substituição à polpa. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.1, p.177-184, 2009.

EMBRAPA- Semiárido, Sistemas de Produção, 2 ISSN 1807-0027 Versão Eletrônica, disponível em <http://www.cpatsa.embrapa.br>, acesso em 15/11/11

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2º Ed, 2006, 602 p.

FRANCKI, V.M; GOLLUCKE, A. P. B; PIMENTEL, C. V. M. **Alimentos Funcionais: Introdução as principais substâncias bioativas em alimentos**. São Paulo, Editora Varela. 2005, p.31-34.

GENU, P. J.; PINTO, A. C. Q. **A cultura da mangueira**. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 2002. 454p.

GIADA, M. L. R.; MANCINI FILHO, J. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. **Publicação UEPG Ciência Biológicas e da Saúde**, v.12, n.4, p.7-15, 2006.

GODOY, H. T.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoids composition of commercial mangoes from Brazil. **Food Science Technology**, v.22, n.3, p.100–103, 1989.

GODOY, H. T.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Composição de carotenóides em nectarina (*Prunus persica*) brasileira. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.57, n. 1, p.73-79, 1998.

GONDIM, J. A. M.; MOURA, M. F. V.; DANTAS, A. S.; MEDEIROS, R. L. S.; SANTOS, K. M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.825-827, 2005.

GORISTEIN, S.; ZEMSER, M.; HARUENKIT, R.; CHUTHAKORN, R.; GRITAUER, F.; MARTIN-BELLOSO, O.; TRAKHTENBERG, S. Comparative content of total polyphenols and dietary fiber in tropical fruits and persimmon. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.10, n.6, p.367-371, 1999.

GOULART, M. O. F.; VALETIM, I. B.; OLIVEIRA, A. C.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v.32, n.3, p.689-702, 2009.

GUO, C.; YANG, J.; WEI, J.; LI, Y.; XU, J.; JIANG, Y. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. **Nutrition Research**, v.23, n.12, p.1719-1726, 2003.

HALLIWEL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition**, v.16, p.33-50, 1996.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.; The definition and measurement of antioxidants in biological systems. **Free Radicals in Biology and Medicine**, v. 18, n.1, p.125-126, 1995.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure – activity relationship. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.13, n.10, p.572-584, 2002.

HERIANUS J.D.L.; ZORA SINGH.; SOON CHYE TAN. Glycosidically-bound aroma volatile compounds in the skin and pulp of 'Kensington Pride' mango fruit at different stages of maturity. **Postharvest Biology and Technology**, v.29, n.2, p.205-218, 2003.

HIROSE, M.; HAGIWARA, A.; HASUI,; INOVE, K.; ITO, N. Combined effects of BHA and other antioxidants in induction of fore stomach lesions in rats. **Cancer Letter**, v.30, n.2, p.169-174, 1986.

HOFFMANN-RIBANI, R.; HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Flavonols in fresh and processed Brazilian fruits. **Journal Food Composition and Analysis**, v.22, n.4, p.263-268, 2009.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - Produção Agrícola Municipal, disponível em: <http://sidra.ibge.gov.br>, acesso 15/11/11

ITO, N.; FUKUSHIMA, S.; HAGIWARA, A.; SHIBATA, M.; OGISO, T. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F 344 rats. **Journal of National Cancer Institute**, v.70, n.2, p.343- 352, 1983.

KIM, Y.; BRECHT, J. K.; TALCOTT, S. T. Antioxidant phytochemical and fruit quality changes in mango (*Mangifera indica* L.) following hot water immersion and controlled atmosphere storage. **Food Chemistry**, v.105, n.4, p.1327-1334, 2007.

KOBORI, C. N.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. **Ciência Agrotécnica**, v.29, n.5, p.1008-1014, 2005.

LALEL, H. J. D.; SINGH, Z.; TAN, S. C.; J. Distribution of aroma volatile in different parts of mango fruit. **The journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 78, n.2, p.131-138, 2003.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; BORROTO, B.; SAURA-CALIXTO F. Mango peels as a new tropical fiber: preparation and characterization. **Food Science Technology**, v.29, n.8, p.687-670, 1996.

LAUFENBERG, G.; KUNZ, B.; NYSTROEM, M. Transformation of vegetable waste into value added products. **Bioresource Technology**, v.87, n.2, p.167-198, 2003.

LEIRO, J.; GARCIA, D.; ARRANZ, J. A.; DELGADO, R.; SANMARTÍN, M. L.; ORALLO, F. An Anacardiaceae preparation reduces the expression of inflammation-related genes in murine macrophages. **International Immunopharmacology**, v.4, n.7, p.991-1003, 2004.

LIMA, K. C.; LIMA, A. L. S.; FREITAS, L. C.; DELLA – MODESTA, R. C.; GODOY, R. L. Efeito de baixas doses de irradiação nos carotenóides Majoritários em cenouras prontas para o consumo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.2, p.183-193, 2004.

LOUSADA JR, J. E.; COSTA, J. M.C.; NEIVA, J.N.M.; RODRIGUEZ, N.M. Caracterização físico-química de subprodutos obtidos do processamento de frutas tropicais visando seu aproveitamento na alimentação animal. **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.1, p.70-76, 2006.

MARINOVA, E.M.; YANISHILIEVA, N.V. Antioxidant activity and mechanisms of action of some phenolic acids at ambient and high temperatures. **Food Chemistry**, v.81, n.2, p.189-197, 2003.

MELO, E. A; ARAÚJO, C. R. Mangas das variedades espada, rosa e Tommy Atkins: compostos bioativos e potencial antioxidante. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, n.4, p.1451-1460, 2011.

MIELINIK, M. B.; OLSEN, E.; VOGT, G.; ADELINE, D.; SKREDE, G. Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold stored turkey meat. **Food Science and Technology**, v.39, n.3, p.191-198, 2006.

MISHRA, B.; INDIRA-PRİYADARSINI, K.; SUDHEERKUMAR, M.; UNNIKRISHNAN, M. K.; MOHAN, H. Pulse radiolysis studies of mangiferin: A *C-glycosyl* xanthone isolated from *Mangifera indica*. **Radiation Physics and Chemistry**, v.75, n.1, p.70-77, 2006.

MOLINEX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin **Journal of Science and Technology**, v.26, n.2, p.211-219, 2004.

MOREIRA, A. V. B.; MANCINI FILHO, J. Efeito dos compostos fenólicos de especiarias sobre lípidos polinsaturados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.39, n.3, p.130-133, 2003.

MORETTI, C. L. **Manual de processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças** – Brasília: Embrapa Hortaliças e SEBRAE, 2007, 531p.

MORETTI, C. M.; MACHADO, C. M. M. Aproveitamento de resíduos sólidos do processamento mínimo de frutas e hortaliças. 4, 2006, São Pedro. In: **Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Palestras, Resumos, Fluxogramas e Oficinas... Piracicaba: USP/ESALQ, 2006. p.25 – 32.

NONG, C.; HE, W.; FLEMING, D.; PAN, L.; HUANG, H. capillary electrophoresis analysis of mangiferin extracted from *Mangifera indica* L. bark and *Mangifera persiciformis* leaves. **Journal of Chromatography B**, v.826, n. 1-2, p.226-231, 2005

NOTT, P. E.; ROBERTS, J. C. The structure of mangiferin. **Phytochemistry**, v.6, n.5, p.741-747, 1967.

NÚÑEZ-SELLÉS A. J.; VELEZ-CASTRO, H. T.; AGÜERO-AGÜERO, J. GONZALEZGONZALEZ, J.; NADDEO, F.; DE SIMONE, F.; RASTELLI, L.

Isolation and quantitative analysis of phenolic antioxidants, free sugars, and polyols from mango (*Mangifera indica* L.) stem bark aqueous decoction used in Cuba as nutritional supplement. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.4, p.762-766, 2002.

OLIVEIRA, D.S.; AQUINO, P.P.; RIBEIRO, S.M.R.; ROENÇA, R.P.C.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M. Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da CEASA do estado de Minas Gerais, **Acta Scientiarum Health Sciences**, v.33, n.1, p.89-98, 2011.

OSZMIANSKI J, WOJDYLO A, LAMER-ZARAWSKA E, SWIADER K. Antioxidant tannins from *Rosaceae* plant roots. **Food Chemistry**, v.100, n.2, p.579-583, 2007.

OU, B. HAMPSCH – WOODILL, M.; PRIOR, R. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of the Agricultural and Food Chemistry**, v.49, n.10, p.4619-4626, 2001.

PELIZER, L. H.; PONTIRRI, M. H.; MORAES, I. O. Utilização de resíduos agro-industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, v.2, n.1, p.118-127, 2007.

PINTO, A. C. de Q. A produção, o consumo e a qualidade da manga no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.3, 2002, p.597.

PINTO, A. C. Q.; MATOS, A. P.; CUNHA, G. A. P. Variedades. In: MATOS, A. P. (Org.). **Manga: produção** - aspectos técnicos. Brasília, DF: Embrapa Transferência de Tecnologia; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2000. cap. 6, p. 19-20.

POTT, I.; BREITHAUPT, D. E CARLE, R. Detection of unusual carotenoid esters in fresh mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Kent'). **Phytochemistry**, v.64, n.4, p.825–829, 2003

RAMALHO, C. V.; JORGE, E. N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v.29, n.4, p.755-760, 2006

RAMOS, L.S.N.; LOPES, J.B.; FIGUEIREDO, A.V. Polpa de caju em rações para frangos de corte na fase final: desempenho e características de carcaça. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.35, n.3, p.804-810, 2006.

RICE-EVANS, C. A; MILLER, N. J; PAGANDA, G. Structure antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acid. **Free Radical Biology & Medicine**, v.20, n.7, p.933-956, 1996.

RODRIGUEZ – AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; FARFAN – AMAYA, J. **Fontes brasileiras de carotenóides**: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos. Brasília: MMA/SBF, 2008, 100p.

SACRAMENTO, C.K.; SOUSA, F.X. **Cajá (*Spondias mombin* L.)**. Série Frutas Nativas, FUNEP, 2000, n. 4, 52p.

SAEED, A. R.; KARAMALLA, K. A.; KHATTAB, A. H. Polyphenolic compounds in pulp of *Mangifera indica* L. **Journal of Food Science**, v.41, n.4, p.959-960, 1976.

SALLAM, K.H.; ISHIOBOROSHI, M.; SAMEJIMA, K. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v.37, n.8, p.849- 855, 2004.

SCHIEBER, A.; ULLRICH, W.; CARLE, R. Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detection. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.1, n.2, p.161-166, 2000.

SILVA, J.H.V.; SILVA, E.L.; JORDÃO FILHO, J. Efeitos da inclusão do resíduo da semente de urucum (*Bixa Orellana* L.) na dieta para frangos de corte: desempenho e características de carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.5, p.1606-1613, 2005.

SOARES S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p. 71-81, 2002.

SOONG, Y. Y.; BARLOW, P. J. Quantification of gallic acid and ellagic acid from longan (*Dimocarpus longan* Lourr.) seed and mango (*Mangifera indica* L.) kernel and their effects on antioxidant activity. **Food Chemistry**, v.97, n.3, p.524-530, 2006.

SOONG, Y-Y.; BARLOW, P.J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**, v. 88, n.3, p. 411-417, 2004

TIBOLA, C. S. e FACHINELLO, J. C. Tendências e estratégias de mercado para a fruticultura. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.10, n.2, p.145-150, 2004.

VERNAZA. M. G.; CHANG, Y. K.; STEEL, C. J. Efeito do teor de farelo de maracujá e da umidade e temperatura de extrusão no desenvolvimento de cereal matinal funcional orgânico. **Brazilian Journal Food Technology**, v.12, n.2, p.145-154, 2009.

VIEIRA, P. A. F.; QUEIROZ, J. H.; ALBINO, L. F. T.; MORAES, G. H. K.; BARBOSA, A. A.; MÜLLER, E. S.; VIANA, M. T. S. Efeitos da inclusão de farelo do resíduo de manga no desempenho de frangos de corte de 1 a 42 dias. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.37, n.12, p.2173-2178, 2008.

VIEIRA, P. A.; QUEIROZ, J. H.; VIEIRA, B. C.; MENDES, F. Q.; BARBOSA, A. A.; MULLER, E. S.; SANT'ANA, R. C. O.; MORAES, G. H. Caracterização química do resíduo do processamento agroindustrial de manga (*Mangifera indica* L.) Var. Ubá. **Alimentos e Nutrição**, v.20, n.4, p.617- 623, 2009.

WEEKS, W. W. **Biogenesis of Aromas**; Parliament, T. H.; Croteau, R., eds.; American Chemical Society: Washington D. C., 1986, cap. 12

WRIGHT, M. E., PARK, Y., SUBAR, A. F., FREEDAMAN, N. D., ALBANES, D., HOLLENBECK, A., LEITZMANN, M. F., SCHATZKIN, A. Intakes of fruit, vegetables, and specific botanical groups in relation to lung cancer risk in the

NIH-AARP diet and health study. **American Journal of Epidemiology**, v. 168, n.9, p. 1024–1034, 2008.

WOLFE, K.; WU, X.; LIU, R. H. Antioxidant activity of apple peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.3, p.609-614, 2003.

WÜRTZEN, G.; OLSEN, P. Chronic study on BHT in rats. **Food Chemistry and Toxicology**, v.24, n.10-11, p.1121-1125, 1986.

YOSHIMI, N.; MATSUNAGA, K.; KATAYAMA, M.; YAMADA, Y.; KUNO, T. QIAO, Z.; HARA, A.; YAMAHARA, J.; MORI, H. The inhibitory effects of mangiferin, a naturally occurring glucosylxanthone, in bowel carcinogenesis of male F344. **Cancer Letters**, v. 166, n.2, p.163-170, 2001.

OBJETIVOS

GERAL

Caracterizar a farinha da casca liofilizada de manga Tommy Atkins quanto a sua composição química e seu potencial antioxidante.

ESPECÍFICOS

1. Caracterizar físico-quimicamente a farinha de cascas liofilizadas de Manga Tommy Atkins;
2. Definir as condições de processo para a obtenção de extratos contendo polifenóis;
3. Determinar a capacidade antioxidante dos extratos;
4. Identificar e quantificar os polifenóis presentes nos extratos.

CAPITULO II

ARTIGO I

Caracterização Físico-Química de Cascas Liofilizadas de Manga Tommy Atkins

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo caracterizar cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins. As cascas foram trituradas e a farinha obtida submetida à determinação da composição centesimal, de minerais e de fitoquímicos bioativos. A farinha apresentou em sua constituição quantidades expressivas de carboidratos, potássio, sódio, cálcio e fósforo, fenólicos totais, ácido ascórbico e β -caroteno. Assim, considerando a sua composição química, o resíduo agroindustrial de manga Tommy Atkins apresenta forte potencial para uso em formulação de produtos alimentícios, bem como para a extração de polifenóis, β -caroteno e ácido ascórbico que poderão ser empregados na indústria de alimentos como aditivos ou suplemento alimentar.

Palavras - chave: Fitoquímicos bioativos; casca de manga; composição centesimal.

ABSTRACT

This study aimed to characterize freeze-dried peel from Tommy Atkins mango. The peels were crushed and the flour was subjected to the determination of proximate composition, minerals and bioactive phytochemicals. The flour showed in its constitution carbohydrates, potassium, sodium, calcium and phosphorus, total phenolics, ascorbic acid and β -carotene. Thus, considering its chemical composition, the agro industrial waste from mango Tommy Atkins has a strong potential for use in the formulation of food products, as well as for the extraction of polyphenols, β -carotene and ascorbic acid may be employed in the food industry as additives or food supplement.

Keywords: mango peel; bioactive phytochemical, proximate composition

INTRODUÇÃO

A manga (*Mangifera indica* L.), fruto pertencente à família da *anarcadeaceae*, é uma drupa (fruto com uma só semente), de casca macia que envolve a polpa de coloração amarela, que pode apresentar-se fibrosa de acordo com a variedade. No interior da polpa encontra-se o caroço que é fibroso, apresentando formas similares, mas de tamanhos diferenciados (CASTRO NETO; CUNHA, 2000). As variedades de importância econômica mais indicada são as que apresentam plantios com alta produtividade; frutos de coloração atraente, polpa doce e pouco fibrosa, além da resistência ao manuseio e ao transporte para mercados distantes. Do ponto de vista econômico, a região do nordeste brasileiro, destaca-se por apresentar localização privilegiada e ambiente favorável em relação ao transporte destes frutos para mercados internacionais, bem como para o seu cultivo (ALMEIDA *et al.*, 2001; CINTRA; BOTEON, 2008; PINTO; MATOS; CUNHA, 2000).

Dentre as cultivares, a Tommy Atkins, bastante apreciada por seus agradáveis atributos sensoriais, como o aroma e sabor, apresenta maior produção na região Nordeste (CANUTO, 2009). Basicamente seu consumo ocorre na forma *in natura*, no entanto, a elevada atividade de água, aliada a alta respiração celular, que as tornam suscetíveis à deterioração, impõe a aplicação de tecnologias para a elaboração de produtos como polpa congelada, sucos concentrados, néctares, sorvete, frutos desidratados, entre outros (KOBORI; JORGE, 2005). No entanto, estima-se que no processamento para a produção de derivados, 40% do peso de fruto, como manga, acerola, maracujá e caju, sejam desprezados como resíduos agroindustriais. Estes resíduos sólidos, constituídos por compostos naturais, são considerados lixo orgânico, que na maioria das vezes são desprezados, contribuindo para o agravamento do impacto ambiental (LOUSADA Jr. *et al.*, 2006).

Os resíduos agroindustriais são fonte promissora de compostos naturais, como fibras alimentares, antioxidantes, minerais, antimicrobiano, entre outros, que podem ser reincorporado em produtos alimentícios. No entanto, para aproveitá-los adequadamente há a necessidade de conhecer sua composição, suas propriedades tecnológicas, nutricionais e funcionais (HOFFMANN-

RIBANI, HUBER, RODRIGUEZ-AMAYA, 2009; GONDIM, et al, 2005). Neste sentido, diversos estudos vêm sendo desenvolvidos. Viera et al, (2009) apontam o resíduo agroindustrial de manga da variedade Ubá como rica fonte de nutriente; Melo e Araújo (2011) fazem referência a presença de compostos bioativos em mangas das variedades Espada, Rosa e Tommy Atkins. Resíduos de outras frutas também têm apresentado fitoquímicos bioativos, a exemplo de sementes de citrus, casca de maçã, resíduo de vinicultura e sementes de uvas (BOCCO, et al. 1998; CATANEO, et al, 2008; MIELINIK, et al. 2006; WOLFE; WU; LIU, 2003).

Na perspectiva de empregar as cascas de manga Tommy Atkins, provenientes de cultivo orgânico, na elaboração de produtos e/ou na extração de antioxidante natural, este trabalho teve como objetivo caracterizá-las quanto à composição centesimal, de minerais e de fitoquímicos bioativos.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

As cascas de mangas da variedade Tommy Atkins, provenientes de cultivo orgânico foram liofilizadas. utilizando temperatura inicial de -4°C, e temperatura final de -49°, com tempo de 11h55min, a pressão de 2 mm/Hg em uma indústria processadora de frutas (LioFruit), localizada na cidade de Petrolina - PE. As cascas liofilizadas foram embaladas a vácuo, em sacos plásticos, e transportadas ao Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos do Departamento de Ciências Domésticas/UFRPE. Em seguida, as cascas foram trituradas em moinho de faca refrigerado (modelo TE – 631/2; marca Tecnal), para obtenção de uma farinha (Figura 1), que foi acondicionada em sacos plásticos de polietileno, e armazenada sob congelamento (-18°C), para realização das determinações analíticas.



Figuras 1: Cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins (A); Farinha das cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins(B).

Metodologia Analítica

- a) **Umidade, Lipídeos, Proteínas e Cinzas:** Determinados segundo métodos do Instituto Adolfo Lutz (2005). Os resultados foram expressos em g.100g^{-1} .
- b) **Carboidratos:** Calculados por diferença ($100\text{g} - \text{gramas totais de umidade} + \text{proteína} + \text{lipídios} + \text{cinzas}$) e o resultado expresso em g.100g^{-1} (Ascar, 1985).
- c) **Atividade de água:** Determinação utilizado o analisador de atividade de água, marca Aqualab 4TE Decagon Devices, à 25°C .
- d) **pH:** mensuração realizada em pH-metro (Tec-3MP, Tecnal) após a diluição das amostras, na proporção de 1:10 (p/v), em água destilada.
- e) **Composição de minerais:** potássio, cálcio, cobre, sódio, ferro, zinco, magnésio e fósforo foram quantificados por absorção atômica segundo metodologia descrita por USEPA (1996).

Determinação dos Principais fitoquímicos bioativos:

Polifenóis: 5g da farinha de manga foi mantida sob agitação permanente, a temperatura ambiente ($24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), por 20 minutos, em acetona a 80%, na proporção de 1:2 (p/v), e em seguida, centrifugada a 4000 rpm, por 10 minutos, em centrífuga refrigerada (CT-6000 R-CIENTEC). Após transferência do sobrenadante, o precipitado foi novamente submetido ao processo de extração

por mais dois ciclos de 20 minutos, e os sobrenadantes resultantes combinados. Alíquotas do extrato foram submetidas às seguintes determinações: a) fenólicos totais, utilizando reagente Folin-Ciocalteu (Merck) e curva de padrão de ácido gálico (WETTASINGHE; SHAHIDI, 1999). Os resultados foram expressos em mg de fenólicos totais em equivalente de ácido gálico por grama da amostra; b) flavonóides totais, utilizando cloreto de alumínio a 5% em metanol e curva padrão de catequina (DEWANTO, et al , 2002). Os resultados foram expressos em mg de flavonóides totais em equivalente de catequina por 100g da amostra; c) taninos condensados, segundo metodologia descrita por Tiitto-Julkunen (1985), e os resultados expressos em mg de taninos condensados em equivalente de catequina por 100 gramas da amostra.

Ácido ascórbico: determinado por método titulométrico, utilizando 2,6 diclofenol indofenol (AOAC, 2002), e os resultados expressos em $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$

Clorofila: determinada por espectrofotometria, segundo método descrito por Arnon (1949).

Carotenóides: Para extração dos pigmentos, 2g de farinha foram acrescidas 20ml de etanol a 95%, e a suspensão submetida a ação do ultrassom (Unique, USC-1600^a), a temperatura ambiente, por 10 minutos. Em seguida, a suspensão foi filtrada em papel de filtro n° 41 (Whatman), e o solvente totalmente evaporado sob vácuo, utilizando rota-evaporador em temperatura inferior a 40°C. Para retirada dos interferentes, o filtrado foi solubilizado em 1ml da solução de acetonitrila/diclorometano grau HPLC (MERCK) (1:1, v/v) e aplicado em cartucho de extração fase sólida C₁₈ (SPE), antecipadamente condicionado com 20 ml de água ultra pura (MilliQ) e 20ml de metanol (MERCK) grau cromatográfico, separadamente. Após a passagem do extrato pelo cartucho, 20 mL de água ultra pura (MilliQ) foram aplicados para a retirada de interferentes. Logo em seguida foram aplicado 5ml da solução de metanol:diclorometano (45:55, v/v) para retirada do analíto de interesse (carotenoides), e o solvente totalmente evaporado a vácuo, empregando temperatura < 40°C. Na sequência foram retirados 10mg do extrato seco que

solubilizados em 1ml de acetonitrila/diclorometano (1:1, v/v) e filtrados em membrana de nylon de 0,45µm para HPLC – DAD.

A identificação do pigmento foi efetuada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizado cromatógrafo SHIMADZU, equipado com detector de arranjo de diodos (CLAE – DAD Modelo SPD-M20A), forno para coluna (CTO-20A), bomba quartenária de baixa pressão (Modelo LC-20AT), sistema desgaseificador “on line” (Modelo DGU -20AS), injetor “Rheodyne” com loop de 20µl e software de processamento e aquisição de dados LC Solution. Os carotenoides foram separados em coluna C₁₈ (15cm x 4,6 de diâmetro, Shimadzu), com pré coluna Shim-pack, utilizando como fase móvel acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10, v/v/v), com fluxo de 1mL/ min, e temperatura do forno de 29°C (SILVA; MERCADANTE, 2002). A identificação da amostra foi efetuada comparando com o padrão β-caroteno (SIGMA). Assim como a amostra, o padrão β- caroteno (SIGMA), também, foi filtrado em membrana de nylon de 0,45µm para HPLC – DAD. Todos os solventes utilizados foram previamente filtrados a vácuo, com membrana para solvente orgânico de 0,45µm e a água utilizada foi obtida pelo sistema de purificação e filtração Milli-Q (Millipore).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Os dados referentes à composição centesimal, atividade de água e pH da farinha da casca liofilizada de manga Tommy Atkins encontram-se na Tabela 1. O baixo teor de umidade e de atividade de água, característico de um alimento desidratado, propicia melhor conservação do material uma vez que as reações químicas e microbiológicas que promovem a deterioração são interrompidas ou têm sua velocidade reduzida. O pH abaixo da neutralidade, também, propicia maior estabilidade do produto. O teor de carboidratos foi significativamente alto, além disso, merece destacar também que a fração lipídica foi superior a da fração protéica, confirmando o que usualmente ocorre nos resíduos de frutos, como cascas e sementes ou caroços, que concentram elevados teores de lipídeos (GONDIM et al., 2005).

Casca fresca de manga Tommy Atkins contém 12,89g.100g⁻¹ de carboidratos; 0,99g.100g⁻¹ de cinzas; 0,18g.100g⁻¹ de lipídeos e 1,24g.100g⁻¹

de proteínas (MARQUES et al., 2010). Estes valores, exceto o de proteína, foram menores do que os encontrados para as cascas liofilizadas neste estudo, porém, estas discrepâncias podem ser justificadas pelo fato do processo de liofilização ter promovido a concentração dos constituintes. Além disso, as mangas cujas cascas foram liofilizadas provieram de cultivo orgânico, fato que também pode ter influenciado o teor dos constituintes. Quando comparada à farinha da casca de maracujá, a liofilizada de manga Tommy Atkins, ainda se destaca no teor de carboidratos e lipídeos. Souza, Vieira e Ferreira (2008), relatam valores, em base seca, de $77,07\text{g } 100\text{g}^{-1}$ de carboidratos totais e de $1,75\text{g } 100\text{g}^{-1}$ de lipídeos em farinha de casca de maracujá.

Tabela 1: Composição Centesimal, atividade de água e pH de farinha da casca liofilizada de manga Tommy Atkins proveniente de cultivo orgânico

Componentes	Teores
Umidade e Substâncias Voláteis ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	$2,50 \pm 0,28$
Cinzas ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	$2,96 \pm 0,25$
Lipídeos ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	$2,52 \pm 0,17$
Proteínas ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	$0,80 \pm 0,36$
Carboidratos ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	$91,22 \pm 4,67$
Atividade de Água	$0,20 \pm 0,01$
pH	$4,36 \pm 0,14$

Médias de três determinações mais desvio padrão.

A composição de minerais das cascas da manga Tommy Atkins encontra-se na Tabela 2. Evidenciam-se elevadas concentrações de cálcio, sódio e potássio neste material, e quantidades bastante significativas dos demais minerais. Nogueira et al. (2007), também, verificaram altas concentrações de minerais em bagaços oriundos da industrialização de sucos de frutas. Assim, constata-se que no descarte de partes não comestíveis de vegetais, há consideráveis quantidades de nutrientes, conforme afirmam Marques et al (2008).

Os teores de minerais detectados neste estudo são muito mais elevados do que os relatados por Felipe et al. (2006) para cascas desidratadas de manga da mesma variedade, provenientes de uma indústria de polpa congelada de frutas na cidade de Fortaleza-CE. Nesse resíduo os autores encontraram 39,80; 72,22; 205,79; 0,41; 3,93 e 13.49mg.100g⁻¹ para cálcio, sódio, potássio, cobre, ferro e zinco, respectivamente. Em cascas de manga fresca foram determinados fósforo (17,53 mg 100g⁻¹), potássio (176,75mg 100g⁻¹), cálcio (74,06 mg 100g⁻¹) e sódio (37,47 mg 100g⁻¹) (MARQUES et al (2010). Constata-se que independente do tipo de cultivo, das condições do plantio e de processamento, fatores que alteram a composição de nutrientes em vegetais, o cálcio, sódio e potássio são os minerais majoritários em cascas de manga. Desta forma, considerando que a quantidade de mineral necessária às atividades biológicas do organismo humano é pequena quando comparada com a de outros nutrientes, as cascas liofilizadas de manga Tommy podem contribuir significativamente com o aporte dietético de minerais.

Tabela 2: Minerais em farinha de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins provenientes de cultivo orgânico.

Minerais	Teores (mg.100g ⁻¹)
Cobre	3,0 ± 0,26
Zinco	2,0 ± 0,2
Ferro	63,0 ± 1,73
Magnésio	250,0 ± 5,0
Fósforo	515,0 ± 2,64
Cálcio	605,0 ± 1,52
Sódio	685,0 ± 2,081
Potássio	759,0 ± 2,64

Média de três determinações e desvio padrão

Os minerais além de desempenharem funções essenciais ao organismo, como reguladores das atividades de algumas enzimas, manutenção do equilíbrio ácido/base e da pressão osmótica, alguns deles também são

importantes na ação antioxidante (ANDRADE et al., 2003; FENECH e FERGUSON, 2001). Vale mencionar que o metabolismo e reparo do DNA são diretamente dependentes de substratos oriundos da ingestão dietética, dentre eles estão os micronutrientes, os minerais, que estão envolvidos na estabilidade genômica, reduzindo risco de câncer (BULL; FENECH, 2008; FENECH et al., 2005).

Evidências baseadas em estudos *in vivo* e *in vitro* demonstraram que o cálcio reduz a proliferação celular, induzindo a diferenciação de células, além de ocasionar a apoptose de células tumorais (LAMPRECHT; LIPKIN, 2001; LAMPRECHT; LIPKIN, 2003; SERGEEV, 2004). O magnésio diminui a peroxidação e potencializa a ação antioxidante no organismo humano, além de sua deficiência promover a redução da integridade e função das membranas celulares, ocasionando doenças cardiovasculares (AMORIM e TIRAPAGUI, 2008; NILSEN e LUKASKI, 2006). Segundo Powell (2000) e Maret (2000), o zinco possui papel protetor, pois sua deficiência pode provocar lesões oxidativas relacionadas a espécies reativas de oxigênio, além de apresentar efeito antagônico à formação de radicais livres.

Os teores dos principais fitoquímicos antioxidantes apresentados na Tabela 3 revelam uma elevada quantidade de polifenóis, com destaque para o teor de fenólicos totais, superior ao relatado por outros autores. Em farinha de casca de manga de variedade não especificada, Ajila et al (2010) relatam teor de fenólicos totais de 54.67mg EAG. 100g⁻¹, enquanto que Melo e Araújo (2011) relatam 1.305,02 mg.100g⁻¹ para farinha de cascas de manga Tommy Atkins. Outros resíduos agroindustriais também apresentam teor de fenólicos, porém em quantidades mais reduzidas, a exemplo dos resíduos secos de uva das variedades Couderc 13 e Pinot Gris, proveniente da produção de vinho, com 109,64 a 207,80mg EAG.100g⁻¹ e de 370,17 e 420,61 mg EAG. 100g⁻¹, respectivamente (CATANEO et al., 2008), e da farinha da casca de umbu maduro com 454,21mg EAG.100g⁻¹ (MELO; ANDRADE, 2010).

Tabela 3: Fitoquímicos bioativos em farinha de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins provenientes de cultivo orgânico.

Fitoquímicos	Teores
Fenólicos Totais (mg EAG 100g ⁻¹)	1.835,39 ± 4,31
Taninos condensados (mg EC. 100g ⁻¹)	1.673,70 ± 5,19
Flavonoides Totais (mg EC. 100g ⁻¹)	9,36 ± 0,83
Clorofila Tota; (µg.g ⁻¹) I	1,77 ± 0,14
Ácido Ascórbico (mg.100g ⁻¹)	96,32 ± 2,08

Médias de três determinações independentes. EAG= equivalente em ácido gálico; EC= equivalente em catequina.

Taninos condensados, denominados proantocianidinas, é uma classe de polifenóis, oligômeros e polímeros de flavan-3-ol (catequina) e/ou flavan-3,4-diol (leucocianidina), que se encontram presentes na farinha de manga em quantidade elevada. Além dos taninos, outros flavonoides, quantificados como flavonóides totais (9,36mg.100g⁻¹) compõem a constituição química deste material.

O ácido ascórbico encontra-se na farinha de manga em teor relativamente elevado, valor semelhante ao encontrado por Melo e Araújo (2011) para o resíduo desidratado de manga da mesma variedade (99,94±6,82 mg. 100g⁻¹). Na polpa fresca de manga Tommy Atkins, procedente da CEASA de Minas Gerais, foi detectado 17,5±7,1mg. 100g de ácido ascórbico (OLIVEIRA, 2011). Desta forma, evidencia-se que o resíduo, ainda, apresenta quantidade significativa deste fitoquímico bioativos, que em decorrência do processo de desidratação encontra-se em maior concentração.

O perfil cromatográfico do pigmento extraído da farinha de manga é característico do β-caroteno (Figura 2), cujo tempo de retenção (25,69 minutos) e o espectro de absorção no comprimento de onda de 454nm foi o mesmo do padrão. Silva e Mercadante (2002), utilizando a mesma fase móvel (acetonitrila 75%; metanol 15% e acetato de etila 10%), identificaram β-caroteno em polpas de maracujá, com tempo de retenção entre 27 e 30min e espectro de absorção de 454nm. A análise do cromatograma permite evidenciar um pequeno pico (ombro) alocado na base do pico do β-caroteno. É possível que o mesmo seja

resultante da degradação desse caroteno, promovida pelo uso do ultrassom na etapa da extração do pigmento ou durante o processamento da amostra, por ação da luz e do oxigênio, embora cuidados tenham sido tomados para minimizar a geração de artefatos. Sun et al. (2010) relatam que a aplicação de ultrassom, durante os vários ciclos de extração deu origem a produtos de degradação, como os isômeros 15-cis- β -caroteno e di-cis- β -caroteno. No cromatograma, além do pico do β -caroteno, podem-se observar outros picos, indicando a presença de outros carotenoides, porém não foi possível identificá-los.

Vale ressaltar que o uso do cartucho SPE no preparo da amostra foi eficaz para a eliminação de interferentes, facilitando a separação do componente de interesse. Além disso, reduziu o tempo de preparo da amostra tendo em vista que não houve necessidade da etapa de saponificação durante o processo de extração, evitando possível degradação do analito por longa exposição ao ambiente. Shen et al (2009), também, fazem referência a eficácia do SPE.

O β -Caroteno, composto que apresenta cromóforo com 11 duplas conjugadas, com duas destas duplas ligações localizadas em anéis β -ionona da molécula (SENTANIN; RODRIGUEZ-AMAYA, 2007), é o componente majoritários em mangas. Oliveira et. al. (2011) identificaram em manga Tommy Atkins, procedente da CEASA de Minas Gerais, β -caroteno ($15,57 \pm 180,2 \mu\text{g.g}^{-1}$) e Licopeno ($0,77 \pm 58,4 \mu\text{g g}^{-1}$). Em casca de manga Ubá o β -Caroteno encontrava-se em maior concentração, seguido pela violaxantina e luteína. (AJILA, JAGANMOHAN RAO, PRASADA RAO, 2010). Assim sendo, a farinha das cascas de manga Tommy Atkins, com $484.17 \mu\text{g.g}^{-1}$ de β -caroteno, pode, portanto, ser vista como uma fonte interessante deste fitoquímico, principalmente considerando que a agroindústrias de manga gera uma quantidade bastante elevada deste material. Portanto, a cada tonelada de cascas pode-se obter uma quantidade relevante de β -caroteno.

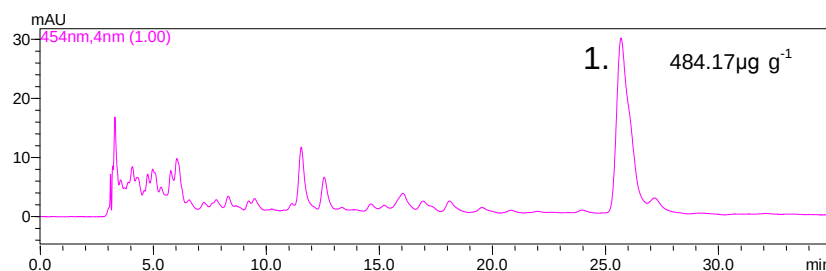


Figura 2: Cromatograma obtido por HPLC - DAD do β -caroteno (1) de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins, provenientes de cultivo orgânico.

CONCLUSÕES

A farinha de casca liofilizada de manga Tommy Atkins apresenta um significativo teor de micronutrientes, com destaque para o teor de potássio, sódio, cálcio e fósforo, carboidratos e de fitoquímicos bioativos. Assim, considerando a sua composição química, o resíduo industrial de manga Tommy Atkins apresenta um forte potencial para uso em formulação de produtos alimentícios, bem como para a extração de polifenóis, β -caroteno e ácido ascórbico que poderão ser empregados na indústria de alimentos como aditivos ou suplemento alimentar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGOSTINI-COSTA, T. S; LIMA, A; LIMA, M. V. Determinação de tanino em pedúnculo de caju: método da vanilina *versus* método do butanol ácido. **Química Nova**, v.26, n.5, p. 763-765, 2003.
- AJILA, C. M; JAGANMOHAN RAO, L. PRASSADA RAO, U. J. S. Characterization of bioactive compounds from raw and ripe *Mangifera indica* L. peel extracts. **Food and Chemical Toxicology**, v.48, n.12 p.3406-3411, 2010.
- AMORIM, A. G; TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais da relação entre exercício físico, estresse oxidativo e magnésio. **Revista de Nutrição**, v.21, n.5, p.563-575, 2008.

ANDRADE, E.C.B.; BARROS, A.M.; TAKASE, I. Avaliação da solubilidade de cobre e zinco em caldos de leguminosas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.3, n.3, p.386-388, 2003.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of analysis**, v.2, 17th, Arlington: AOAC, 2002

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. **Plant Physiology**, v.24, n.1, p.1-15, 1949.

ASCAR, J. M. **Alimentos**: Aspectos bromatológicos e legais. Análise percentual. São Leopoldo RS, Unisinos editora, v.1, 1985, p. 257 263.

BOCCO, A.; CUVELIER, M-E; RICHARD, H.; BERSET, C. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 6, p. 2123 – 2129, 1998.

BULL, C.; FENECH, M. Genome-health nutrigenomics and nutrigenetics: nutritional requirements or ‘nutriomes’ for chromosomal stability and telomere maintenance at the individual level. **Proceeding of the Nutrition Society**, v.67, n.2, p.146-156, 2008.

CANUTO, K. M; SOUZA NETO, M. A; GARRUTI, D. A.. Composição química volátil, em diferentes estádios de maturação, de manga ‘Tommy Atkins’ produzida no vale do São Francisco. **Química Nova**, v.32, n.9, p.2377 – 2381, 2009.

CHEN, J.P., TAI, C.Y., CHEN, B.H., Improved liquid chromatographic method for determination of carotenoids in Taiwanese mango (Mangifera Indica L.), **Journal of the Chromatography A**, p.1054, n.1-2, p.261 -268, 2004.

CINTRA, R. F.; BOTEON, M. **Avaliação do desempenho regional dos principais pólos produtores de manga no Brasil**, 2008 Disponível em: < http://cepea.esalq.usp.br/pdf/Manga_Sober.doc >. Acesso em 10/10/2011

CAETANO, A. C. S; ARAÚJO, C. R; LIMA, V. L. A. G; MACIEL, M. I. S; MELO, E. A. Evaluation of antioxidant activity of agro-industrial waste of acerola

(*Malpighia emarginata* D.C.) fruit extracts. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.31, n.3, p.769 – 775, 2011.

CASTRO NETO, M. T., CUNHA, G. A. P. Aspectos botânicos. In: **Manga Produção: aspectos técnicos**. Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas – BA). Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência da Tecnologia, 2000, 15 – 16p.

CATANEO, C. B.; CALIARI, V.; GONZAGA, L. V; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Semina: Ciências Agrárias**, v.29, n.1, p.93-102, 2008

DEWANTO, V.; WU, X.; ADOM, K. K.; LIU, R. H. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.10, p.3010- 3014, 2002.

FELIPE, E. M. F.; COSTA, J.M.C.; MAIA, G.A.; HERNANDEZ, F.F.H. Avaliação da qualidade de parâmetros minerais de pós-alimentícios obtidos de casca de manga e maracujá. **Alimentos e Nutrição**, v.17, n.1, p.79-83, 2006.

FENECH, M.; FERGUSON, L. R. Vitamins/minerals and genomic stability in humans. **Mutatation Research/ Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v.18, n.1 p.1-6, 2001

FENECH, M.; BAGHURST, P.; LODERER, W.; TURNER, J.; RECORD, S.; CEPPI, M.; BONASSI, S. Low intake of calcium, folate, nicotinic acid, vitamin E, retinol, beta-carotene and high intake of pantothenic acid, biotin and riboflavin are significantly associated with increased genome instability--results from a dietary intake and micronucleus index survey in South Australia. **Carcinogenesis**, v.26, n.5, p.991-999, 2005.

HOFFMANN-RIBANI, R.; HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Flavonols in fresh and processed Brazilian fruits. **Journal Food Composition and Analysis**, v.22, n.4, p.263-268, 2009.

GONDIM, A. M.; MOURA, V. M. F.; DANTAS, S.A.; MEDEIROS, R. L. S.; SANTOS, K. M. Composição Centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.825-827, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v.1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 3. ed. São Paulo: IMESP, 2005. p.21-22

KOBORI, C. N.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. **Ciência Agrotécnica**, v.29, n.5, p.1008-1014, 2005.

LAMPRECHT, S. A; LIPKIN, M. Cellular mechanisms of calcium and vitamin D in the inhibition of colorectal carcinogenesis. **Annals of the New York Academy of Science**, v.952, p.73-87, 2001.

LAMPRECHT, S. A.; LIPKIN, M. Chemoprevention of colon cancer by calcium, vitamin D and folate: molecular mechanisms. **Nature Reviews Cancer**, v.3, n.8, p.601-614, 2003.

LOUSADA JR, J. E.; COSTA, J. M.C.; NEIVA, J.N.M.; RODRIGUEZ, N.M. Caracterização físico-química de subprodutos obtidos do processamento de frutas tropicais visando seu aproveitamento na alimentação animal. **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.1, p.70-76, 2006

MARET, W. The function of zinc metallothionein: a link between cellular zinc and redox state. **The Journal of Nutrition**, v. 130, (supl), p. 1455 – 1458, 2000

MARQUES, A. CHICAYBAM, G. ARAUJO, M. T. MANHÃES, L. R. T. SABAA – SRUR, A. O. Composição centesimal e de minerais de casca e polpa de manga (*Mangifera indica* L.) CV. Tommy Atkins. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.4, p.1206 – 1210, 2010

MELO. E.A.; ANDRADE, R.A.M.S Compostos bioativos e potencial antioxidante de frutos do umbuzeiro. **Alimentos e Nutrição**, v.21, n.3, p.453-457, 2010.

MELO, E. A; ARAUJO, C. R. Mangas das variedades espada, rosa e Tommy Atkins: compostos bioativos e potencial antioxidante. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, n.4, p.1451-1460, 2011

MIELINIK, M. B.; OLSEN, E.; VOGT, G.; ADELINE, D.; SKREDE, G. Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold stored turkey meat. **Food Science and Technology**, v.39, n.3, p.191-198, 2006.

NASCIMENTO, R. J; ARAÚJO, C. R; MELO, E. A. Atividade antioxidante de extratos de resíduo Agroindustrial de goiaba (*psidium guajava* L.). **Alimentos e Nutrição**, v.21, n.2, p.209-216, 2010

NIELSEN FH, LUKASKI HC. Update on the relationship between magnesium and exercise. **Magnesium Research**, v.19, n.3, p.180-190, 2006.

NOGUEIRA, A.; TEIXEIRA, S. H.; DEMIATE, I. M.; WOSIACKI, G. Influência do processamento no teor de minerais em sucos de maçãs. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p. 259-264, 2007.

OLIVEIRA, D.S.; AQUINO, P.P.; RIBEIRO, S.M.R.; PROENÇA, R.P.C.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M. Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum Health Sciences**, v.33, n.1, p.89-98, 2011.

PINTO, C. A Q; MATOS, A. P.; CUNHA, G. A. P.. Variedades (cultivares). In: MATOS, A. P. (Org.). **Manga Produção: aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa, 2000

POWELL, S. R. The antioxidant properties of zinc. **The Journal of Nutrition**, v.130, (supl), p.1447-1454, 2000.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **A Guide to Carotenoids Analysis in Food**. Washington: ILSI Press, 1999; p 14-22

SERGEEV, I. N. Calcium as a mediator of 1,25-dihydroxyvitamin D₃-induced apoptosis. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular**, v. 89-90, n. 1-5, p. 419-425, 200

SHEN, Y; HU, Y. A; HUANG, K; YIN, S; CHEN, B; TAO, S. Solid-phase extraction of carotenoids. **Journal of Chromatography A**, v.1216, n.2, p.5763 – 5768, 2009

SILVA, S. R. MERCADANTE, Z. Composição de carotenóides em maracujá - amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*) in natura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22, n.3, p.254-258, 2002

SOUZA, M. W. S; FERREIRA, T. B. O; VIEIRA, I. F. R. Composição centesimal e propriedades Funcionais tecnológicas da farinha da casca Do maracujá. **Alimentos e Nutrição**, v.19, n.1, p. 33-36, 2008.

SUN, Y; MA, G; YE, X; KAKUDA, Y; MENG, R. Stability of all-*trans*- β -carotene under ultrasound treatment in a model system: Effects of different factors, kinetics and newly formed compounds. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 17, n.4, p. 654 – 661, 2010

USEPA – Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. **Method 3051A**, CD - ROM, 1996

VIEIRA, P. A.; QUEIROZ, J. H.; VIEIRA, B. C.; MENDES, F. Q.; BARBOSA, A. A.; MULLER, E. S.; SANT'ANA, R. C. O.; MORAES, G. H. Caracterização química do resíduo do processamento agorindustrial de manga (*Mangifera indica* L.) Var. Ubá. **Alimentos e Nutrição**, v.20, n.4, p. 617- 623, 2009

TIITTO – JULKUNEM, R. Phenolic constituents in the leaves of Northern Willows: Methods for the Analysis of certain phenolic. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.33, n.2, p.213-217, 1985.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free

radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, n.5, p.1801-1812, 1999.

WOLFE, K.; WU, X.; LIU, R. H. Antioxidant activity of apple peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 3, p. 609 – 614, 2003.

CAPITULO III

Artigo II:

**Casca Liofilizada de Manga Tommy Atkins: Processo de
Extração de Polifenóis e capacidade antioxidante**

RESUMO

Com o objetivo definir as condições ideais de processo para obtenção de extratos de com alto teor de fenólicos totais e elevada capacidade antioxidante foi aplicado o planejamento fatorial 2^2 (DCCR - Delineamento Compostos Central Rotacional), tendo como variáveis independentes o tempo de agitação (30 a 90 minutos) e temperatura do processo (25 a 50°C), e variáveis dependentes o teor de fenólicos totais e o percentual de sequestro do radical DPPH. O planejamento fatorial foi aplicado nos seguintes processos de extração, a saber: a) Extração sequencial-solução hidroacetônica (80%), seguida da solução hidrometanólica (80%); b) Extração sequencial-solução hidrometanólica (80%), seguida da solução hidroacetônica (80%); c) Extração não sequencial -solução hidroacetônica (80%); d) Extração não sequencial-solução hidrometanólica (80%). A melhor condição de processo de extração indicada pelo planejamento fatorial foi utilizada para obtenção de extratos que foram submetidos aos ensaios antioxidantes, de captura de radicais, em sistema modelo (DPPH; ABTS; ORAC) e aos ensaios antioxidantes em sistemas lipídicos (oxidação acoplada do B-caroteno/ácido linoléico; da peroxidação do ácido linoleico – método tiocianato férrico; e do teste acelerado em estufa). Com processo de extração sequencial (metanol 80%, seguido por acetona 80%) e as seguintes condições de processo: temperatura de 37,5°C e tempo de agitação de 30 minutos; e temperatura de 25°C e tempo de agitação de 60 minutos, os extratos obtidos apresentaram maior teor de fenólicos totais ($2407,16\mu\text{g. mL}^{-1}$) e maior capacidade de sequestro do radical DPPH (95%). Estes extratos exibiram expressiva capacidade antioxidante frente aos radicais livres ABTS, DPPH e ORAC; bem como em meio lipídico. Constatou-se, portanto, que as cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins apresentam forte potencial antioxidante, permitindo vislumbrar sua utilização como matéria prima para a extração de antioxidante natural.

Palavras – chave: Planejamento fatorial; potencial antioxidante, extração de polifenóis

ABSTRACT

As the aim of defining the conditions of the polyphenols extraction process from agro-industrial mango waste was applied to the fractional factorial design 2^2 . In this design were laid as dependent variables: time of shaking (30 to 90 min) and temperature (25 to 50 ° C), as response the total phenolics concentration in the extract. Four factorial designs were performed: a) Extraction sequentially-hydroacetic solution (80%), followed by hydromethanolic solution (80%); b) Extraction sequentially- hydromethanolic solution (80%), followed by hydroacetic solution (80%); c) Extraction non-sequential-hydroacetic solution (80%) and d) extraction non-sequential- hydromethanolic solution (80%). The extracts obtained in ideal condition were submitted to antioxidant assays, capture radicals in model system (DPPH, ABTS, ORAC) and antioxidant assays in lipid systems (coupled oxidation of β -carotene-linoleic acid, peroxidation of linoleic acid - ferric thiocyanate method, and accelerated storage test in an oven at 60°C for 28 days). The factorial design (DCCR) defined as the ideal sequential extraction (80% methanol, followed by 80% acetone) and the following process conditions: temperature 37.5°C and extraction time of 30 minutes, and temperature of 25°C and extraction time of 60 minutes, whose extracts showed, respectively, higher total phenolic content ($2407.16 \text{ g. mL}^{-1}$) (Ext-5), and increased sequestration capacity DPPH (95%) (Ext-7). Both extracts exhibited significant antioxidant against free radicals ABTS, DPPH and ORAC, and in lipid system. Thus, considering the chemical composition and antioxidant activity, the industrial waste of Tommy Atkins mango emerges as a source of bioactive phytochemical, with antioxidant potential, enabling use this material for the extraction of natural antioxidant.

Keywords: Factorial design; antioxidant potential, extraction of polyphenols

INTRODUÇÃO

Muitos consumidores, preocupados com a saúde, têm dado preferência a uma alimentação mais saudável, passando a incluir, de forma regular, frutas e hortaliças na dieta. Estes vegetais por conterem em sua composição compostos bioativos, como os flavonoides, ácidos fenólicos e carotenoides estão associados a uma menor prevalência de doenças crônicas não transmissíveis, atualmente consideradas como um dos males da sociedade moderna (AJILA, et al., 2007; GOULART, et al., 2009; WRIGHT et al., 2008).

Dentre os vegetais que compõem a dieta humana, encontram-se as frutas, cujo consumo é crescente em todo mundo. Entretanto, a sua elevada perecibilidade impõe o emprego de tecnologias visando ampliar o tempo de vida útil e reduzir as perdas pós-colheita. Neste contexto, novos produtos vêm sendo desenvolvidos, com destaque para a produção de polpa de frutas congeladas, com grande aceitação no mercado nacional uma vez que apresenta praticidade e preserva as características organolépticas das frutas.

Sendo assim, para atender a demanda do mercado, as agroindústrias vêm investindo no aumento de sua capacidade de processamento, em consequência são geradas grandes quantidades de resíduo sólido constituído, principalmente, por cascas e sementes que em muitos casos podem apresentar concentrações relevantes de compostos bioativos (DAMIANI, et al. 2009). Vários estudos indicam o resíduo agroindustrial como fonte de antioxidante natural, a exemplo do resíduo de mangas (MELO, ARAUJO, 2011), de goiaba (NASCIMENTO, ARAUJO, MELO, 2010), de acerola (CAETANO, et al., 2011), de uva (CATANEO, et al., 2008), de frutas cítricas (XU, et al, 2008).

Os compostos bioativos presentes neste material são de natureza química variada, portanto, apresentam polaridades similares ou distintas em função de suas estruturas. Esta característica influencia no processo de extração destes constituintes, logo, não pode ser único para todas as matérias primas, uma vez que as mesmas apresentam composição de fitoquímicos diferenciada. Assim, o rendimento da extração está intimamente ligado às condições de processo relacionadas ao solvente extrator, tempo e temperatura

de extração, entre outros. Em alguns casos, quanto maior a temperatura do processo, melhor o efeito extrator, no entanto quando a temperatura é associada a um maior tempo de extração pode ocorrer degradação dos compostos antioxidantes (GONZÁLEZ-MONTELONGO, LOBO, GONZÁLEZ, 2010; PINELO, et al, 2005; LI, et al, 2006; SHUI, LEONG, 2006; XU, et al, 2008). Desta forma, há a necessidade de selecionar criteriosamente o método de extração para cada fonte natural de antioxidante.

A definição das condições do processo de extração, visando à obtenção de extratos com elevado teor de fitoquímicos pode ser efetuada utilizando a técnica de planejamento experimental, ferramenta que auxilia na otimização do processo, minimizando custos e tempo, e maximizando o rendimento da extração. De acordo com Rodrigues e Lemma (2009), a metodologia de planejamento fatorial, associada à análise de superfície de resposta é considerada como ferramenta estatística que pode fornecer informações seguras a respeito do processo. Esta ferramenta já foi empregada, com bons resultados, no processo de extração de compostos antioxidantes de casca de amêndoas (PINELO, et al, 2004); sementes de uva (KARVELA, et al, 2009; KARVELA, et al, 2011), casca de banana (GONZÁLEZ-MONTELONGO, LOBO, GONZÁLEZ, 2010); cebola (KIASSOS, et al, 2009) e mangostão (CHEOK, et al, 2012).

Com isso, frente à presença de compostos antioxidantes em resíduos agroindustriais, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de estabelecer as condições de processo ideais para obtenção de extratos de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins, com alto teor de polifenóis e elevada capacidade antioxidante, empregando o planejamento experimental.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

A manga utilizada para obtenção das cascas foi oriunda de uma produção orgânica, localizada em Juazeiro-BA (Sitio do Bino – Estrada da Aduora de Caraíbas Metais – Km 25), colhidas no mês de novembro ano 2010. Estes frutos foram transportados para empresa Liofruit, localizada no distrito industrial de Petrolina – PE, onde foram descascados, e as cascas liofilizadas

utilizando no processo temperatura inicial de -4°C , e final de -49°C . O tempo estimado para liofilização foi de 11h55min, com pressão de 2 mm/Hg. Em seguida, as cascas foram acondicionadas em embalagem laminada a vácuo, e transportadas em temperatura ambiente ao Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos do PGCTA - Departamento de Ciências Domésticas/UFRPE.

Preparo das Amostras

As cascas das mangas liofilizadas foram trituradas de modo a obter farinha, a qual foi acondicionada em sacos plásticos de polietileno, selados e envolvidos em papel alumínio, a fim de inibir a fotooxidação, que foram armazenados sob congelamento (-18°C), até o momento das determinações analíticas:

Obtenção dos Extratos:

Os extratos foram obtidos utilizando quatro processos de extração, empregando em cada processo, 5g de farinha, solução hidroacetônica (80%) e/ou hidrometanólica (80%) e três ciclos de extração, a saber: a) Extração sequencial utilizando solução hidroacetônica, em seguida solução hidrometanólica (SAM); b) Extração sequencial utilizando solução hidrometanólica, em seguida solução hidroacetônica (SMA); c) Extração não sequencial empregado solução hidroacetônica (NSA); d) Extração não sequencial empregado solução hidrometanólica (NSM). Para avaliar a influência das variáveis tempo de extração (t) e temperatura do processo (T) de extração dos compostos fenólicos (P) e da ação antioxidante (R) foi empregada a técnica de planejamento fatorial DCCR (Delineamento Compostos Central Rotacional) de 2^2 , com 4 pontos fatoriais, 4 pontos axiais e 3 pontos centrais, totalizando 11 ensaios, para cada processo. Os dados obtidos foram ajustados ao seguinte polinômio:

$$Y = \varphi(t, T) = \beta_0 + \beta_1 t + \beta_2 T + \beta_{11} t^2 + \beta_{22} T^2 + \beta_{12} tT \quad (\text{Equação 1})$$

Em que β_n são os coeficientes de regressão, y é a resposta em questão (P e R) e t e T são as variáveis independentes codificadas (tempo e Temperatura).

Na Tabela 1 encontram-se a matriz de planejamento com os níveis codificados e decodificados das variáveis independentes.

Tabela 1: Matriz de planejamento 2^2 , níveis codificados e decodificados das variáveis, para obtenção de extratos a partir de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins.

Ensaios	t (minutos)	T (°C)	t (minutos)	T (°C)
1	-1	-1	39	29
2	1	-1	81	29
3	-1	1	39	46
4	1	1	81	46
5	-1,41	0	30	37,5
6	1,41	0	90	37,5
7	0	-1,41	60	25
8	0	1,41	60	50
9	0	0	60	37,5
10	0	0	60	37,5
11	0	0	60	37,5

Os extratos obtidos segundo o planejamento experimental acima descrito foram submetidos às seguintes determinações: teor de fenólicos totais (WETTASINGHE; SHAHIDI, 1999) e capacidade antioxidante de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH), segundo método descrito por Brand-Williams et al. (1995), utilizando a expressão matemática descrita por Miliauskas et al. (2004). Os resultados são expressos em equivalente de ácido gálico por grama de amostra e em % de sequestro do radical DPPH, respectivamente.

Os extratos com maior concentração de fenólicos totais e que exibiram maior percentual de sequestro do radical DPPH foram submetidos a outros ensaios para avaliar a capacidade antioxidante.

Capacidade de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH):

Extratos com 5 diferentes concentrações de fenólicos totais foram adicionados à solução de DPPH• em metanol (0,1M), atingindo a concentração final de fenólicos totais de 20; 30; 40; 50 e 60 µg/ml⁻¹, e a absorbância mensurada em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC) a 515nm até a reação atingir o platô. A concentração do DPPH• remanescente no meio da reação foi calculada a partir da curva padrão do radical DPPH•, e o percentual de DPPH• remanescente (DPPH_{rem}%) de cada concentração do extrato calculado utilizando a seguinte expressão:

$$\% \text{ DPPH}_{\text{REM}} = \text{DPPH}_t / \text{DPPH}_{T=0} \times 100$$

Em seguida, as concentrações do extrato eficiente para diminuir em 50% a concentração inicial do DPPH• (EC₅₀) foi calculada a partir do gráfico da concentração da amostra (g de farinha. g DPPH⁻¹) versus DPPH_{REM}%. O comportamento cinético foi classificado como alto (T_{EC50} < 5 minutos) intermediário (T_{EC50} = 5 a 30 minutos) ou lento (T_{EC50} > 30 minutos), segundo o valor de T_{EC50}, e a eficiência antirradical, em baixa (EA < 1), média (EA >1 e ≤ 5), alta (EA >5 e ≤ 10) ou super alta (EA >10) de acordo com o valor de EA, obtida através da seguinte expressão: EA=1/EC₅₀.T_{EC50} (SÁNCHEZ-MORENO, LARRAURI; SAURA-CALIXTO,1998). Para efeito de comparação foi determinada a capacidade antioxidante do ácido gálico, nas mesmas condições descritas acima.

Capacidade de Sequestrar o radical ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis- (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico):

A capacidade de sequestrar o radical ABTS^{•+} foi determinada segundo o método descrito por RE et al. (1999). O radical ABTS^{•+} foi gerado a partir da reação da solução aquosa de ABTS (7mM) com 2,45mM de persulfato de potássio. Esta solução foi mantida ao abrigo da luz, em temperatura ambiente por 16h. Em seguida, a solução do radical foi diluída em etanol até obter uma medida de absorbância de 0,7± 0,05, em comprimento de onda de 734nm. Os extratos com diferentes concentrações de fenólicos totais foram adicionadas a solução do ABTS^{•+}, atingindo concentração final de 1, 2,5 e 5mg/L, e a absorbância medida, após 6 minutos, em

espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC). A capacidade antioxidante da amostra foi calculada em relação à atividade do antioxidante sintético Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico), nas mesmas condições, e os resultados foram expressos em atividade antioxidante equivalente ao Trolox ($\mu\text{Mol TEAC.g}^{-1}$ de farinha). Para efeito de comparação foi determinada a capacidade antioxidante do ácido gálico, nas mesmas condições descritas acima.

Atividade antioxidante ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity): O ensaio foi realizado utilizando leitor de fluorescência (Fluorímetro NOVO STAR, BMG Labtechnologies), programado para proceder leitura a cada 1 minuto, durante 80 minutos, a temperatura constante de 37°C de acordo com método descrito por Dávalos, Gomez e Bartolomé (2004), com modificações. Os extratos foram liofilizados a -56°C a pressão de 3mm/Hg, em seguida solubilizados no mesmo solvente extrator (10mg. mL^{-1}) e levados ao ultrassom, em banho de gelo, por 30 minutos. Na sequência, em 20 μL do extrato foram adicionados 120 μL de fluoresceína ($0,4\mu\text{g.mL}^{-1}$) e 60 μL do radical AAPH (dicloreto de 2,2'-azobis(2-amidinopropano, Aldrich), na concentração de 108mg.mL^{-1} . Os reagentes acima foram preparados utilizando tampão fosfato de potássio 75mM (pH 7,4). Os resultados foram expressos em $\mu\text{Mol trolox}$ equivalente por 100g de extrato. Para os cálculos foi utilizada a seguinte expressão matemática da área da curva (AUC):

$$\text{AUC} = 1 + f_2/f_1 + f_3/f_1 + f_4/f_1 + f_n/f_1$$

Onde: f_1 corresponde a leitura da fluorescência a 1 minuto, f_2 corresponde a leitura da fluorescência a 2 minutos e f_n leitura da fluorescência em 80 minutos.

Co-oxidação do β -caroteno e ácido linoleico: A atividade antioxidante dos extratos foi determinada utilizando método descrito por Marco (1968), modificada por Hammerschmidt e Pratt (1978), como segue: A solução de β -caroteno (1mL), preparada pela dissolução de 1mg de β -caroteno em 10mL de clorofórmio, foi colocada em um balão de fundo redondo, contendo 20mg de ácido linoléico e 200mg do emulsificante Tween 20. Após a remoção do clorofórmio, em evaporador rotatório a 50°C, 50 mL de água destilada foram

adicionados sob agitação vigorosa. Alíquotas (5mL) desta emulsão foram transferidas para uma série de tubos de ensaios contendo 0,2mL dos extratos, atingindo concentração final de $100\mu\text{g.mL}^{-1}$ de fenólicos totais. Em seguida, os tubos foram submersos em banho-maria a 50°C , durante 105min, e a absorbância mensurada a 470nm, nos intervalos de tempo de 0; 1; 2; 5; 10; 15; 20; 30; 45; 60; 75; 90; e 105 minutos. A atividade antioxidante foi expressa como percentual de inibição da oxidação, calculada em relação a 100% da oxidação do controle (sem antioxidante), conforme expressão abaixo:

$$\% \text{ de inibição} = \frac{\text{Taxa de degradação do controle} - \text{taxa de degradação da amostra}}{\text{Taxa de degradação do controle}} \times 100$$

Estudo cinético da atividade antioxidante no sistema da co-oxidação do β -caroteno /ácido linoleico: A eficiência da atividade antioxidante dos extratos foi estimada a partir da relação entre a tangente das curvas cinéticas do extrato e do controle (sem adição de antioxidante), em duas partes da curva, entre 15 e 45 minutos e entre 75 e 105 minutos, segundo metodologia descrita por Silva, Nascimento e Moreira (2007). Na primeira parte da curva, o valor obtido (F1) indica a eficiência do antioxidante de bloquear a reação em cadeia através da interação com os radicais peróxidos, enquanto que na segunda parte da curva o valor obtido (F2) indica a eficiência do antioxidante em participar de outras reações durante o processo oxidativo como, por exemplo, a decomposição dos hidroperóxidos, produzindo espécies radicalares que aceleram a oxidação no sistema. Para efeito de comparação foi determinada, utilizando os procedimentos acima descritos, a ação antioxidante do ácido gálico.

Atividade antioxidante em emulsão de ácido linoleico – Método Tiocianato Férrico: A atividade antioxidante dos extratos foi determinada utilizando o método tiocianato férrico descrito por Jayaprakasha, Shigh e Sakariah (2001). A emulsão do ácido linoléico foi preparada homogeneizando 0,28g de ácido linoléico e 50mL de tampão fosfato 0,2 M (pH 7,0). Alíquotas dos extratos, com concentração final de fenólicos totais de $100\mu\text{g.mL}^{-1}$, foram

individualmente misturadas com 2,0mL da emulsão do ácido linoléico e 2,5mL tampão fosfato 0,2M (pH 7,0), acondicionadas em frasco de vidro âmbar, com tampa rosqueável, e encubada em estufa com circulação de ar a $50 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Em período regular de tempo (a cada 24h), 0,1mL desta solução foi retirada e adicionados a 5 mL de etanol a 75% (v/v), 0,1 mL de tiocianato de amônio a 30% (p/v) e 0,1 mL de cloreto ferroso 0,02M em HCl a 3,5%. Após, exatamente 3 minutos à temperatura ambiente ($25,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$) foi medida a absorbância a 500nm, em espectrofotômetro (SHIMADZU UV-1650PC). Como termo de comparação também foi utilizado a ação antioxidante do ácido gálico, determinadas nas mesmas condições acima descritas. O grau da inibição da peroxidação do ácido linoléico foi calculado usando a seguinte expressão algébrica:

$$\% \text{ inibição} = \frac{[\text{abs. média final do controle} - \text{abs. Média final da amostra}] \times 100}{\text{abs. média final do controle}}$$

Atividade antioxidante em óleo de soja – Teste acelerado em estufa ou “Schaal Oven Test: Índice de peróxidos e Dienos conjugados: Alíquotas dos extratos foram individualmente acondicionadas em vidro âmbar, com tampa rosqueável, contendo 50 mL de óleo de soja refinado, desodorizado, isento de antioxidante sintético e de ácido cítrico, gentilmente cedido pela Bunge alimentos S.A., atingindo a concentração final de fenólicos totais de 70mg.L^{-1} . Para a incorporação dos extratos foi adicionado emulsificante Tween 20 ao óleo. Como parâmetro comparativo foram preparadas amostras sem antioxidante e amostras contendo BHT (antioxidante sintético) e ácido gálico nas mesmas condições descritas acima. Todas as amostras foram incubadas a 60°C por 28 dias. Em intervalos regulares de tempo (0, 7, 14, 21, e 28 dias), alíquotas foram retiradas e submetidas à determinação do índice de peróxidos por titulação com solução de tiosulfato de sódio de acordo com o método (Cd 8-53) da AOCS (2006), e de dienos conjugados por método espectrofotométrico (Ti 1a-64) descrito na AOCS (2006). Os resultados foram expressos em meq. de peróxido. Kg^{-1} de óleo, e em porcentagem de ácidos dienóicos, respectivamente.

Análise estatística: Todas as determinações foram efetuadas em triplicata e os resultados submetidos à análise de variância e teste de Duncan a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico “Statistic - for Windows”.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Processo de Extração

O planejamento fatorial demonstrou que a extração sequencial possibilita maior extração de fenólicos totais, com melhor resposta para o processo de extração sequencial empregando metanol 80% seguida da acetona 80% (Tabela 2). A extração de polifenóis está relacionada à polaridade das moléculas, característica peculiar do fitoquímico tornando relevante a seleção criteriosa do solvente extrator. O emprego de mais de um solvente associado a um processo de extração sequencial favorece a obtenção de extratos com maior teor de fenólicos, tendo em vista que este grupo envolve compostos de estrutura química diferentes, e conseqüentemente, polaridade diversificada (JAYAPRAKASHA et al., 2008; MARCON et al., 2007). Quanto à ação antioxidante, independente do processo de extração utilizado, em todos os ensaios, os extratos exibiram forte capacidade de sequestro do radical DPPH (superior a 90%).

Tabela 2. Teor de fenólicos totais de farinha de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins, submetido ao planejamento fatorial DCCR 2² com 4 pontos axiais e 3 pontos centrais.

Ensaios	Valores codificados e decodificados		Processos de extração			
	t(min)	T(°C)	Teor de fenólicos totais (µg ml ⁻¹)			
			NSA	NSM	SAM	SMA
1	-1(39)	-1(29)	1640,37	1470,74	1780,96	2220,76
2	+1(81)	-1(29)	1385,80	1880,50	1690,38	1906,77
3	-1(39)	+1(46)	1540,79	1603,85	1750,30	2015,94
4	+1(81)	+1(46)	1590,66	1607,70	1730,72	1785,24
5	-1,41(30)	0(37,5)	1670,30	1700,42	1890,80	2406,95
6	+1,41(90)	0(37,5)	1528,01	1980,54	1800,99	2002,19
7	0 (60)	-1,41(25)	1439,00	1460,19	1600,92	1878,40
8	0(60)	+1,41 (50)	1517,80	1403,38	1660,72	1648,72
9	0(60)	0 (37,5)	1648,17	1314,55	1917,09	1811,83
10	0(60)	0(37,5)	1645,18	1320,55	1920,10	1820,36
11	0(60)	0(37,5)	1650,20	1325,60	1925,63	1800,40

NS A = não sequencial acetona 80%; N-S-M = não sequencial metanol 80%; S-A-M: sequencial acetona 80% seguido de metanol 80%; S M-A = metanol 80% seguido de acetona 80%; t= tempo (minutos); T= temperatura (°C).

A análise dos dados referentes ao efeito do tempo e da temperatura sobre a extração de fenólicos totais permite verificar que, para todos os processos de extração empregados, exceto para o NSM, a interação destas variáveis teve influência positiva (Tabela 3). Os valores lineares e quadráticos das variáveis de todos os processos de extração foram estatisticamente significativos ($p \leq 0,05$). Entretanto, evidencia-se que o tempo foi a variável que teve maior influência sobre a extração dos polifenóis. O termo linear desta variável indica que, dentro das condições experimentais testadas, o emprego de menor tempo de agitação favorece a maior extração dos polifenóis. Assim, constata-se na Tabela 2 que no processo de extração SMA ao empregar tempo de agitação inferior 40min obteve-se maior teor de fenólicos totais.

Tabela 3. Efeito do tempo e da temperatura sobre o teor de Fenólicos obtido nos quatro processos de extrações.

Fontes	Fenólicos Totais							
	NSA	p	NSM	p	SAM	p	SMA	p
Média	1647,64	0,000001	1320,69	0,000006	1920,54	0,000002	1810,87	0,00001
t(L)	-100,96	0,0003	201,39	0,0004	-59,01	0,003	-277,89	0,0006
T(L)	53,13	0,001	-53,63	0,005	23,45	0,016	-159,54	0,002
t(Q)	-50,65	0,002	516,41	0,00008	-79,15	0,002	385,96	0,0005
T(Q)	-159,30	0,0001	108,98	0,002	-273,27	0,0001	-43,63	0,032
t XT	152,22	0,0003	-202,95	0,0007	35,00	0,014	41,64	0,053
F ¹	760,80		899,66		378,13		221,18	
R ²	0,999		0,998		0,992		0,999	

R² = Coeficiente de determinação. Valores significativos = $p \leq 0,05$; F¹ = F_{cal}/F_{tab}. t: tempo (min); T: Temperatura (°C); L: linear; Q: Quadrático; NS A = não sequencial acetona 80%; NS M = não sequencial metanol 80%; S A-M: sequencial acetona 80% seguido de metanol 80%; S M-A = metanol 80% seguido de acetona 80%.

Considerando que o processo de extração sequencial empregando metanol 80% seguido da acetona 80% (SMA) extraiu maior teor de fenólicos totais, os dados referentes aos extratos obtidos por este procedimento foram aplicados para gerar a superfície resposta do processo (Figura 1). Observa-se que empregando no processo tempo de extração igual ou inferior a 30min e temperatura inferior a 40°C possibilita maior extração de polifenóis. Nesta

condição, destaca-se ensaio 5, com o maior teor de fenólicos ($2407,16 \mu\text{g ml}^{-1}$), cujas condições de processo foi a seguinte: 30 minutos e $37,5^\circ\text{C}$ (Tabela 2).

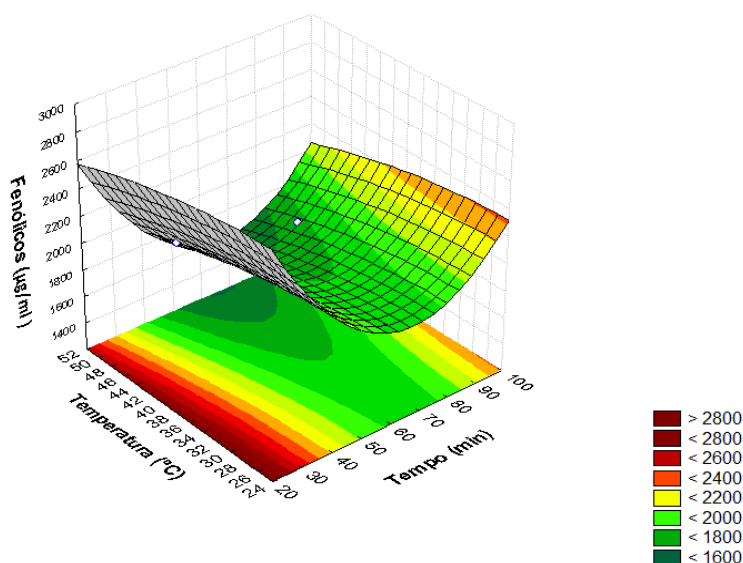


Figura 1. Superfície de resposta em função do tempo e temperatura para extração de fenólicos (Processo de extração sequencial metanol 80% - acetona 80%).

O planejamento experimental vem sendo bastante utilizado para definir as condições favoráveis para a extração de fenólicos de diversas matérias primas. Nagendra Prasad et al (2011) definiram como ideal a temperatura de 55°C para a extração de polifenóis em cascas de manga, empregando etanol como solvente extrator. González-Montelongo, Lobo, González (2010) identificaram a faixa de temperatura de 40 a 50°C e o tempo de processo acima de 30 minutos como favorável a extração de polifenóis em cascas de bananas, tendo o metanol como solvente extrator. Para cebola, quanto menor o tempo de extração, maior o teor de fenólicos totais (KIASSOS et al., 2008). No entanto, Cheok et al. (2012) referem que tempo de extração de 1h a 3h é suficiente para obter extratos de mangostão, com excelentes teores de polifenóis. A influência da temperatura na extração de polifenóis pode estar relacionado com solubilidade do fitoquímico, a viscosidade do solvente, bem como a tensão superficial, entretanto, o emprego de elevada temperatura associada a longo período de extração pode proporcionar degradação dos compostos.

Quanto à capacidade dos extratos de sequestrar o radical DPPH dos extratos obtidos pelo processo de extração SMA, a análise dos dados revela que o maior percentual de sequestro pode ser obtido empregando no processo de extração tempo entre 40 e 80min e temperatura inferior a 29°C ou superior a 46°C (Figura 2). Considerando estas condições, destaca-se o ensaio 7 que empregando o tempo de extração de 60 minutos e a temperatura de 25°C, o extrato obtido exibiu o mais elevado percentual de sequestro do radical DPPH (95,35%).

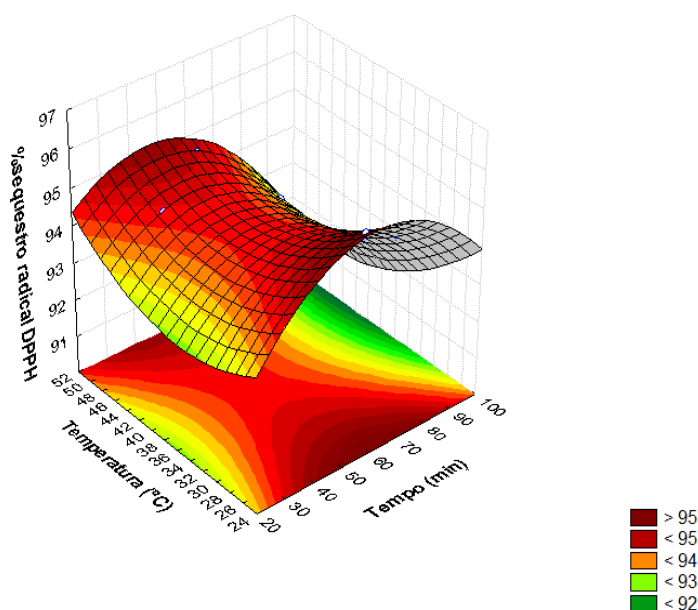


Figura 2. Superfície de resposta em função do Tempo e temperatura para percentual de sequestro do radical DPPH (Processo de extração sequencial metanol 80%-acetona 80%).

Dentre as condições empregadas no processo de extração investigadas, o planejamento experimental aponta como ideal aquela que emprega a temperatura de 37,5°C e o tempo de 30 minutos (ensaio 5), pois obteve-se o maior teor de fenólicos totais, e a que usou temperatura de 25°C e o tempo de 60 minutos, por ter obtido extratos com a maior ação antioxidante (ensaio 7). O modelo estatístico do processo de extração empregado foi considerado significativo e preditivo, tendo em vista que o R^2 para variáveis dependentes foi de 0,99. Desta forma, pode-se afirmar que este modelo se ajusta bem aos dados experimentais.

O processo para obtenção de extratos empregando as condições definidas no planejamento fatorial foi novamente executado e os extratos apresentaram as mesmas características, elevado teor de fenólicos totais e elevada capacidade de sequestro do radical DPPH. Assim, as condições foram consideradas ideais e os extratos obtidos nestas condições foram submetidos a outros ensaios para melhor avaliar a sua capacidade antioxidante.

Atividades Antioxidantes

Ação Antioxidante sob Radicais Livres

A capacidade antioxidante dos extratos Ext-5 e Ext-7 (ensaios 5 e 7), avaliada pelos ensaios DPPH, ABTS e ORAC, encontra-se na Tabela 4. A ação antioxidante dos extratos frente ao radical DPPH foi semelhante entre si, não diferindo estatisticamente do ácido gálico. Considerando que o valor de EC_{50} é inversamente relacionado à atividade antirradical, evidencia-se que os extratos da farinha da casca de manga apresentam uma capacidade antirradical expressiva. Resultados semelhantes foram relatados por Loni et al. (2012) para a capacidade antioxidante de extratos da casca da catuaba (*Trichilia catiguá*), obtidos com o uso de metanol/água (1:2) e de metanol (100%), cujos valores de EC_{50} foram 5,59 e 6,21, respectivamente.

Tabela 4. Capacidade antioxidante de extratos de farinha de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins

Amostras	DPPH				ABTS**	ORAC***
	EC_{50}^*	T_{EC50}	Classificação cinética	EA	Classificação antirradical	
Ext-5	$5,53 \pm 0,37^a$	$0,84 \pm 0,07^b$	Rápido	$0,22 \pm 0,02^b$	Baixo	$470,31 \pm 93,05^b$
Ext-7	$5,87 \pm 0,85^a$	$1,02 \pm 0,01^a$	Rápido	$0,17 \pm 0,02^b$	Baixo	$549,00 \pm 46,68^a$
Ácido Gálico	$5,77 \pm 0,068^a$	$0,34 \pm 0,05^c$	Rápido	$0,51 \pm 0,03^a$	Baixo	$2,07 \pm 0,03^c$

Os valores referem-se à média $\pm$ desvio padrão de três determinações; as médias seguidas por letras iguais, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ($p < 0,05$). *g de farinha. g DPPH⁻¹; **TEAC= mmol trolox.g⁻¹ farinha; *** μ mol Trolox. g⁻¹ extrato; T_{EC50} = tempo necessário para atingir o valor de EC_{50} ; EA= eficiência antirradical ($1/EC_{50} \cdot TEAC_{50}$); classificação cinética; classificação antirradical. Ext-5= extrato do ensaio 5; Ext-7= extrato do ensaio 7; ORAC: Capacidade de absorção do radical oxigenio; ABTS: Ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico; EC_{50} : Concentração mínima da substancia antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do DPPH;

A capacidade do extrato da farinha de manga de sequestrar o radical DPPH (EC_{50}) foi superior a de algumas frutas. Rufino et al. (2010) fazem referência a valores de EC_{50} de 906; 890; 933; 1064g de amostra. g DPPH⁻¹ para caju, mangaba, umbu e cajá, respectivamente. Vasco, Ruales e Kamal-eldin (2008) relatam valores de EC_{50} de 407g de amostra. g DPPH⁻¹ para extrato de cascas de banana, com valor de T_{EC50} de 15 minutos. Os extratos da farinha de manga, embora tenham apresentado valores baixos de T_{EC50} (< 5 minutos), cujo comportamento cinético pode ser classificado como rápido, segundo classificação estabelecida por Sánchez-Moreno, Larrauri e Saura-Calixto, (1998), o efeito antirradical (EA) foi considerado baixo (<1,0).

Em relação à capacidade dos extratos de sequestrar o radical ABTS, expressa em TEAC (Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox), evidencia-se que a do Ext-7 foi estatisticamente superior a do Ext-5 e a do ácido gálico. Elevados valores de TEAC demonstram elevada capacidade antioxidante, uma vez que a ação antirradical está diretamente relacionada ao valor de TEAC. Ao comparar a ação antioxidante com os resultados de outros autores constata-se que os extratos da farinha de manga foram superiores aos encontrados por Vasco, Ruales e Kamal-eldin (2008) para frutos comercializados no Equador, dentre os quais se destacam goiaba (4mmol trolox.g⁻¹); morango (7mmol trolox.g⁻¹); sapoti (2mmol trolox.g⁻¹). Oito genótipos de mangas, provenientes da China, também apresentaram capacidade de sequestro do radical ABTS inferior a deste estudo (1,5 a 0,5 mmol trolox.g⁻¹) (MA et al., 2011). Estas discrepâncias podem estar relacionadas às diferenças nas condições de cultivo, espécies do fruto, bem como as condições de processamento. A TEAC da farinha de casca de manga encontra-se dentro da faixa da ação antioxidante exibida por algumas frutas brasileiras avaliadas por Barreto et al. (2009) (0,50 e 252,80mmol g⁻¹). Dentre estas frutas encontra-se o pequiá com o mais elevado valor de TEAC, e a carambola com capacidade de sequestro de 7,70mmol g⁻¹, este último semelhante ao da farinha de manga. Os autores também constataram alta correlação da TEAC com os compostos fenólicos totais ($r = 0,99$).

A capacidade dos extratos frente ao radical oxigênio (ORAC), também foi diferenciada entre eles. O Ext-7 apresentou ação estatisticamente superior a

do Ext-5 e a do ácido gálico. Valores bastante superiores aos encontrados neste estudo foram relatados por Ma et al. (2011) para oito genótipos de manga (3248 a 8545 $\mu\text{mol TE. g}^{-1}$ de extrato).

Embora os métodos empregados na determinação da capacidade antioxidante utilizem radicais, o mecanismo da reação é diferenciado entre eles. Os ensaios que envolvem os radicais ABTS e DPPH utilizam, principalmente, reações de transferência de elétrons, havendo também a transferência de hidrogênio em menor intensidade, enquanto que o ORAC envolve, apenas, transferência de átomo de hidrogênio. Além disso, as características estruturais destes, também, são diferenciadas. Tanto o radical ABTS com o DPPH não são radicais fisiológicos, o primeiro é gerado previamente em laboratório por oxidação do 2,2'-azino-bis- (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS) e o segundo é um radical disponível comercialmente. No entanto, o ensaio com o ORAC utiliza o radical peroxil (ROO), comumente encontrado em substratos biológicos, que é gerado a partir do AAPH (dicloreto de 2,2'-azobis(2-amidinopropano), e temperatura próxima a do organismo humano (37°C) (DUDONNE, et al, 2009; PRIOR, et al, 2003; RODRIGUEZ-AMAYA, 2010). Desta forma, constata-se que os compostos bioativos presentes no extratos de farinha de manga apresentaram habilidade de sequestrar radicais livres.

Ação antioxidante em meio lipídico.

A atividade antioxidante dos extratos Ext-5 e Ext-7 (ensaios 5 e 7) em sistema modelo da co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico encontra-se apresentada na Figura 3. A ação do Ext-5 foi estatisticamente superior a do Ext-7 e a do ácido gálico. Segundo Melo et al. (2008), a ação antioxidante pode ser considerada forte, moderada e baixa quando o percentual de inibição da oxidação encontrar-se, respectivamente, acima de 70%, entre 50 e 70% e abaixo de 50%. Sendo assim, o Ext-5 que promoveu 51,75% de inibição da oxidação pode ser classificado como extrato com ação antioxidante intermediário, enquanto que o Ext-7 (49,01%) e o ácido gálico (33,93%), apresentaram uma fraca ação. Extratos alcoólicos de resíduo de caju (32 % a

50%) e de uva (6% a 29%), também apresentaram baixa ação antioxidante (BROINIZI, et al. 2007; ROCKENBACH et al., 2008).

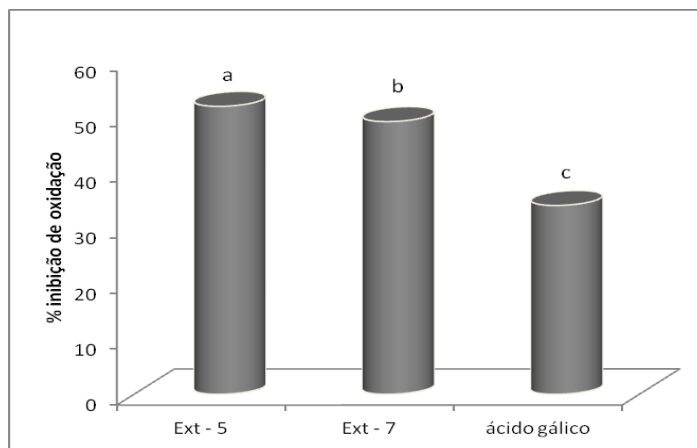


Figura 3. Atividade Antioxidante de extratos de manga Tommy Atkins e do ácido gálico (concentração final de $100\mu\text{g}$ de fenólicos totais. ml^{-1}), em sistema modelo da co-oxidação do β -caroteno/ ácido linoléico, aos 105 minutos de reação. (Valores referentes a médias de três determinações, colunas com letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan $p < 0,05$).

A cinética da reação apresentada na Figura 4 demonstra que os dois extratos exibiram decaimento lento da atividade antioxidante quando comparado com o controle. Para melhor entender o mecanismo de ação dos compostos bioativos presentes nestes extratos, a partir das tangentes das curvas cinéticas foi calculado o Fator 1 (F1) e Fator 2 (F2) com base nos intervalos entre 15 e 45 minutos e 75 e 105 minutos, respectivamente (Tabela 5). Segundo Yanishlieva e Marinova (1995), o F1 representa a efetividade do antioxidante em bloquear as reações em cadeia, ocasionadas pelos radicais livres, na etapa de iniciação da oxidação, enquanto que o F2 demonstra a possibilidade do antioxidante de participar de reações em uma etapa mais adiantada do processo da reação de oxidação, como a decomposição de hidroperóxidos e estabilização de compostos formados ao longo do processo de oxidação. Quanto menor o valor de F1, mais eficiente à ação dos fitoquímicos presentes nos extratos em retardar ou inibir o processo oxidativo.

O valor de F2 tende a ser maior que o F1, no entanto para que haja um desempenho satisfatório do fitoquímico o valor não deve ultrapassar 1.

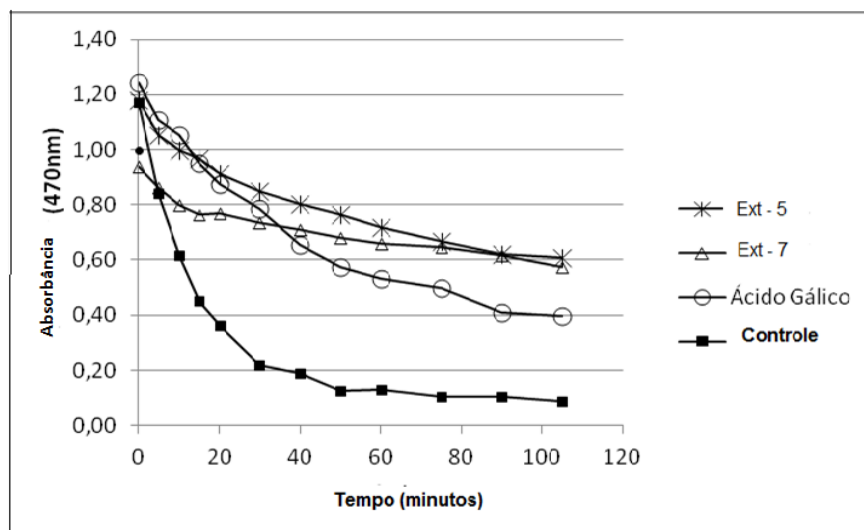


Figura 4. Cinética da reação antioxidante de extratos de manga Tommy Atkins e ácido gálico (concentração final $100\mu\text{g}$ de fenólicos totais. ml^{-1}) em sistema modelo da co-oxidação do β -caroteno/ ácido linoléico.

A análise dos dados revelam que o Ext-7 apresentou maior eficiência em inibir a oxidação no início da reação ($F1 < 1$) quando comparado ao Ext-5 ($F1 > 1$), porém esta eficiência foi estatisticamente inferior a do ácido gálico. O valor de F2 de ambos os extratos foi maior que 1, permitindo presumir que os seus fitoquímicos, na etapa de propagação da autoxidação, participam de reações, formando espécies radicalares que podem acelerar o processo oxidativos. Os extratos hidroacetônico e hidrometanólico do resíduo agroindustrial de goiaba, também, apresentou este comportamento (NASCIMENTO; ARAÚJO; MELO, 2010).

Tabela 5. Parâmetros cinéticos de extratos de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins, determinados em sistema modelo da co-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico.

Amostras	Fatores	
	F1	F2
Ext-5	1,3 ^a	7,4 ^a
Ext-7	0,44 ^b	5,86 ^b
Ácido Gálico	0,14 ^c	0,98 ^c

F1 – relação entre as tangentes das curvas cinéticas da solução-padrão ou teste e o controle entre 15 e 45 min; F2 – relação entre as tangentes das curvas cinéticas da solução-padrão ou teste e o controle entre 75 e 105 min. Os valores referem-se a média de três determinações. Médias seguidas por letras iguais na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan $p>0,05$.

Os extratos foram avaliados quanto à eficiência em inibir a peroxidação do ácido linoléico por meio do método tiocianato férrico. Neste ensaio os hidroperóxidos, gerados durante a oxidação do ácido linoléico, ao reagir com o sulfato ferroso, origina o sulfato férrico e, em seguida, o tiocianato férrico, caracterizado pela cor vermelho sangue que é monitorado espectrofotometricamente. Na Figura 5 observa-se que a absorbância do controle (isento de antioxidantes) atinge, no 8º dia de incubação (192h), a densidade ótica máxima de 1,836, para, na sequência, ocorrer um decréscimo da absorbância. Este comportamento indica que a partir do decréscimo da absorbância não há mais disponibilidade de ácido linoléico no meio da reação, e que estão sendo gerados produtos secundários provenientes da degradação dos hidroperóxidos, indicando que o ensaio deve ser interrompido (Hua-Min et al., 1996). A análise dos dados evidencia que os extratos, bem como o ácido gálico, apresentam comportamento estatisticamente semelhante, exibindo inibição da peroxidação de 99,97%; 99,98% e 99,96%, respectivamente. Constata-se, portanto, que ambos os extratos da farinha de manga apresentaram expressiva eficiência em inibir a oxidação em sistema lipídico.

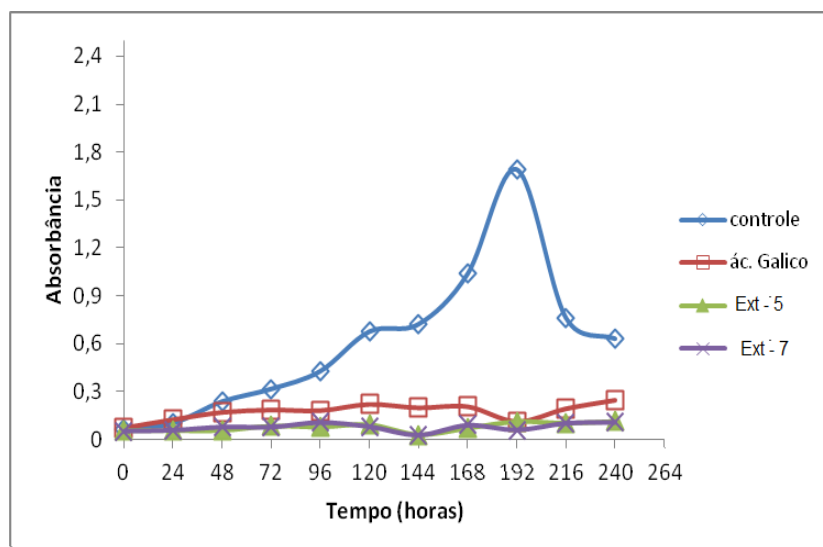


Figura 5. Comportamento Antioxidante de extratos de manga Tommy Atkins e ácido gálico (100µg/ml) pelo método de Tiocianato Férrico.

Os resultados médios do índice de peróxidos para o óleo de soja adicionado de extratos de farinha de casca de manga, atingindo concentração de 70mg de fenólicos totais. L⁻¹, e submetido ao teste acelerado em estufa a 60°C por 28 dias estão apresentados na Tabela 6. Observa-se que ambos os extratos demonstraram ter capacidade de inibir a oxidação lipídica. Entretanto, a adição do Ext-5 conferiu maior estabilidade ao óleo, pois ao longo do tempo de incubação obteve os menores índices de peróxidos. A ação antioxidante desse extrato foi também superior a do ácido gálico e a do BHT, porém a superioridade frente ao BHT manteve-se até 7º dia do experimento. Considerando que as normas brasileiras, através da portaria 482/99- ANVISA, estabelece que o nível de peróxidos em óleo de soja não pode ultrapassar a 10meq/kg (BRASIL,1999), o extrato de farinha de manga apresenta-se como bom antioxidante, tendo em vista que manteve o índice de peróxido abaixo deste valor durante os 28 dias de incubação.

Iqbal e Bhanger (2007) relatam resultados similares para o óleo de girassol adicionado de extratos metanólicos de alho em diferentes concentrações. Caetano et al. (2011) ao utilizarem extratos metanólicos de resíduo agroindustrial de acerola, evidenciaram eficiência dos extratos até o

14º dia de incubação do óleo de soja em estufa a 60°C. Extrato metanólico de caroço de manga exibiu efeito protetor da oxidação lipídica em óleo de girassol armazenado sob escuro, em temperatura ambiente, durante 90 dias (ABDALLA et al., 2007). Anwar et al, (2007) evidenciaram que o extrato hidrometanólico (80% v/v) de folhas de *moringa oleifera*, na concentração de 600mg.L⁻¹, foi eficiente em retardar a peroxidação do óleo de girassol armazenado em temperatura ambiente por 60 dias.

Tabela 6. Efeito da adição de extrato da farinha de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins sobre a produção de peróxidos (meq.kg-1) em óleo de soja armazenados em estufa a 60°C

Amostras	Tempo de incubação (dias)				
	0	7	14	21	28
Controle	0,66 ± 0,60 ^{Ea}	7,62 ± 1,12 ^{Da}	14,15 ± 0,77 ^{Ca}	21,35 ± 1,70 ^{Ba}	26,77 ± 2,42 ^{Aa}
Ext-5	0,67 ± 0,12 ^{Ea}	0,93 ± 0,11 ^{Dc}	1,79 ± 0,68 ^{Ccd}	5,12 ± 0,49 ^{Bb}	6,42 ± 0,64 ^{Ac}
Ext-7	0,62 ± 0,30 ^{Ea}	1,62 ± 0,63 ^{Db}	2,77 ± 0,77 ^{Cbc}	6,08 ± 0,48 ^{Bcb}	8,06 ± 0,46 ^{Ab}
BHT	0,60 ± 0,01 ^{Ea}	1,12 ± 0,30 ^{Bc}	1,13 ± 0,42 ^{Bd}	1,32 ± 0,12 ^{Bd}	2,31 ± 0,39 ^{Ad}
Ácido Gálico	0,65 ± 0,69 ^{Ea}	2,78 ± 0,20 ^{Cb}	3,55 ± 0,06 ^{Cb}	5,94 ± 1,20 ^{Bb}	7,47 ± 0,11 ^{Ab}

Os valores referem-se à média ± desvio padrão de três determinações; Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na linha, e por letras minúsculas iguais, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan (p>0,05). BHT: Butil hidroxitolueno; controle: óleo de soja sem adição de antioxidante.

A medida quantitativa dos dienos conjugados é largamente utilizada para a determinação da oxidação de óleos e gorduras, uma vez que na peroxidação dos ácidos graxos insaturados ocorre mudança da dupla ligação na formação dos hidroperóxidos conjugados. Essa estrutura conjugada absorve fortemente a luz ultravioleta no comprimento de onda entre 232 e 234 nm. Assim, monitorar os espectros de absorção na faixa do ultravioleta das amostras de óleo permite acompanhar as alterações que ocorrem durante o processo oxidativo de forma mais precisa do que índice de peróxidos. Este índice não reflete o aumento da degradação do óleo com o tempo de aquecimento, pois por serem instáveis, os peróxidos são rapidamente formados e quebrados em compostos menores. Entretanto, os dienos conjugados que se formam concomitantemente, permanecem no óleo aquecido.

Na Tabela 7 estão apresentados o valor de dienos conjugados das amostras submetidas ao teste acelerado em estufa a 60°C por 28 dias. Considerando que a atividade antioxidante dos tratamentos é maior quanto menor o valor de dienos conjugados em relação ao controle, observa-se que os extratos foram eficientes em manter a estabilidade oxidativa do óleo. Entretanto, esta ação foi inferior ao do antioxidante sintético (BHT). Os extratos apresentaram ação antioxidante semelhante até o 21º dia de incubação, havendo uma leve redução da proteção exibida pelo Ext-7 a partir do 28º dia. Este comportamento foi semelhante ao encontrado por Caetano et al., (2011) para o extrato do resíduo agroindustrial de acerola. No entanto, extratos de coentro e de folha de *Moringa oleifera* adicionado em óleo de soja obtiveram maior eficácia sobre a produção de dienos (ANGELO; JORGE, 2008; ANWAR et al., 2007)

Tabela 7. Efeito da adição de extrato da farinha de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins sobre formação de dienos conjugados (% ácidos dienóicos) em óleo de soja armazenado em estufa a 60°C

Amostras	Tempo de incubação (dias)				
	0	7	14	21	28
Controle	0,02±0,0 ^{Ea}	0,11±0,01 ^{Da}	1,09±0,01 ^{Ca}	2,10±0,04 ^{Ba}	2,98±0,13 ^{Aa}
Ext 5	0,01±0,0 ^{Da}	0,02±0,0 ^{Db}	0,77±0,05 ^{Cb}	1,19±0,07 ^{Bb}	1,34±0,05 ^{Ab}
Ext 7	0,01±0,0 ^{Da}	0,02±0,0 ^{Db}	0,73±0,05 ^{Cb}	1,25±0,02 ^{Bb}	1,53±0,01 ^{Ac}
BHT	0,02±0,0 ^{Da}	0,03±0,0 ^{Cb}	0,05±0,01 ^{Cd}	0,13±0,03 ^{Bc}	0,23±0,03 ^{Ae}
Ácido Gálico	0,02±0,0 ^{Da}	0,03±0,01 ^{Db}	0,58±0,13 ^{Cc}	1,17±0,01 ^{Bb}	1,86±0,04 ^{Ad}

Os valores referem-se à média ± desvio padrão de três determinações; Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na linha, e por letras minúsculas iguais, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ($p>0,05$). BHT: Butil hidroxitolueno; controle: óleo de soja sem adição de antioxidante.

Conclusões

O processo de extração sequencial utilizando solução de metanol (80%, v/v) seguida da solução de acetona (80%, v/v), empregando temperatura de 37,5°C e tempo de 30 minutos (Ext-5) ou temperatura de 25°C e tempo 60 minutos (Ext-7) possibilitou obter extratos com maior teor de fenólicos totais e maior percentual de sequestro do radical DPPH, respectivamente.

Os extratos apresentaram ação antioxidante expressiva frente aos radicais DPPH, ABTS e ORAC bem como em meio lipídico. O Ext-7 exibiu melhor ação antirradical e melhor performance em sistema modelo que utiliza ácido linoleico como substrato do que o Ext-5. Entretanto, no teste acelerado em estufa o Ext-5 exibiu melhor ação.

Diante destes resultados, constata-se que as cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins surgem como fonte de compostos bioativos, com forte potencial antioxidante, permitindo vislumbrando a sua utilização como matéria prima para a extração de antioxidante natural a ser empregado em alimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, A. A. E.; DARWISH, S. M.; AYAD, A. H. E.; EL-HAMAHMY, R. M. Egyptian mango by-product 2: Antioxidant and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel. **Food Chemistry**, v. 103, n.4, p.1141–1152, 2007.

AJILA, C. M; JAGANMOHAN RAO, L. PRASSADA RAO, U. J. S. Characterization of bioactive compounds from raw and ripe *Mangifera indica* L. peel extracts. **Food and Chemical Toxicology**, v.48, n.12 p. 3406 – 3411, 2010.

ANWAR, F.; SIDDIQ, A.; SHAHIDI, I.; ASI, R. M.; Stabilization of sunflower oil with *moringa oleifera* leaves under ambient storage. **Journal of food lipids**. v14, n.1, p. 35-49, 2007.

ANGELO, P. M.; JORGE N. Avaliação do óleo de girassol adicionado de antioxidantes sob estocagem. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.2, p. 498-502, 2008.

AOCS-AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. Champaign: AOCS, 5TH, 2006.

BARRETO, G.P.M.; BENASSI, M.T.; MERCANDANTE, A.Z. Bioactive compounds from several tropical fruits and correlation by multivariate analysis to free radical scavenger activity. **Journal Brazilian Chemical Society**, v.20, n.10, p. 1856- 1861, 2009.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science Technologie**, v.28, n.1, p.25-30, 1995

BRASIL. **Diário Oficial da União**, v.196, 13out/1999, secção I, p.82-87.

CAETANO, A. C. S.; ARAUJO, C. R.; LIMA, V. L. A. G.; MACIEL, M. I.S.; MELO, E. A. Evaluation of antioxidant activity of agro-industrial waste of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) fruit extracts **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.31, n. 3, p. 769-775, 2011.

CATANEO, C. B.; CALIARI, V.; GONZAGA, L. V; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 93-102, 2008

CHEOK, C. Y.; CHIN, N. L.; YUSOF, Y. A.; TALIB, R. A.; LAW, C. L.; Optimization of total phenolic content extracted from *Garcinia mangostana* Linn.

hull using response surface methodology versus artificial neural network. **Industrial Crops and Products**, v. 40, p. 247– 253, 2012

DUDONNE´, S., VITRAC, X., COUTIERE, P., WOILLEZ, M., MERILLON, J.M.. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n.5, p. 1768– 1774, 2009.

DURLING, N. E., CATCHPOLE, O. J., GREY, J. B., WEBBY, R. F., MITCHELL, K. M., FOO, L. Y. Extraction of phenolics and essential oil from dried sage

(*Salvia officianlis*) using ethanol–water mixtures. **Food Chemistry**, v.101, n.4, p. 1417–1424, 2007.

IQBAL, S.; BHANGER, M.I.; Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. **Food Chemistry**. London.v.100, n.1, p. 246–254. 2007.

DÁVALOS, A.; GÓMEZ, C.; BARTOLOMÉ, B. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC – Fluorescein) assay. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 1, p. 353 – 363, 2004.

GONZÁLEZ-MONTELONGO, R.; LOBO, M. G.; GONZÁLEZ, M. The effect of extraction temperature, time and number of steps on the antioxidant capacity of methanolic banana peel extracts. **Separation and Purification Technology**, v. 71, n.3, p. 347–355, 2010

GOULART, M. O. F; VALETIM, I, B; OLIVEIRA, A. C; SILVA, C. A; BECHARA, E. J. H; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, vol. 32, n. 3, p. 689-702, 2009

HAMMERSCHMIDT, P.A.; PRATT, D.E. Phenolic antioxidants of dried soybeans. **Journal of Food Science**, v.43, n.2, p. 556-559, 1978.

DAMIANI, C.; VILAS BOAS E. V. B.; SOARES JUNIOR M. S.; CALIARI, M.; PAULA M. L.; ASQUIERI, E. R. Avaliação química de geléias de manga formuladas com diferentes níveis de cascas em substituição à polpa. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.1, p.177-184, 2009.

JAYAPRAKASHA, G. K.; SINGH, R. P.; SAKARIAH, K. K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. **Food Chemistry**, v. 73, n.3, p.285-290, 2001

JAYAPRAKASHA, G. K., GIRENNAVAR, B., & PATIL, B. S. Radical scavenging activities of Rio Red grapefruits and sour orange fruit extracts in different in vitro model systems. **Bioresource Technology**, v. 99, n.10, p. 4484–4494, 2008.

JU, Z. Y., & HOWARD, L. R. Effects of solvent and temperature on pressurized liquid extraction of anthocyanins and total phenolics from dried red grape skin. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, n.28, p. 5207–5213, 2003.

KARVELA, E.; DIMITRIS, A.; MAKRISB, P.; KALOGEROPOULOSA, N.; VAIOS, T. Deployment of response surface methodology to optimize recovery of grape (*Vitis vinifera*) stem and seed polyphenols. **Food Science**, v.1, p. 1686 – 1693, 2011

KARVELA, E.; DIMITRIS, A.; MAKRISB, P.; KALOGEROPOULOSA, N.; VAIOS, T. Deployment of response surface methodology to optimise recovery of grape (*Vitis vinifera*) stem polyphenols. **Talanta**, v. 79, n.5, p. 1311 – 1321, 2009.

KIASSOS, E.; MYLONAKI, S.; DIMITRIS, P.; PANAGIOTIS KEFALAS, E. Implementation of response surface methodology to optimise extraction of onion (*Allium cepa*) solid waste phenolics. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.10, n.1, p. 246–252, 2009

LI, B. B.; SMITH, A. B.; HOSSAIN, M. M. Extraction of phenolics from citrus peels. I. Solvent extraction method, Sep. **Purifique Technology**, v. 48, n.2, p. 189–196, 2006

LONNIA, A. A. S. G.; LONGHINIA, R.; LOPESA, G. C.; MELLOA, J. C. P.; SCARMINI, I. S. Statistical mixture design selective extraction of compounds with antioxidant activity and total polyphenol content from *Trichilia catiguá*. **Analytica Chimica Acta**, v. 719, n.16, p.57– 60, 2012

MA, X.; WU, H.; LIU, L.; YAO, Q.; WANG, S.; ZHAN,R.; XING, S.; ZHOU, Y. Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 129, n.1, p. 102–107, 2011.

MARKOM, M., HASAN, M., RAMLI, W., DAUD, W., SINGH, S., & JAHIM, J. M. Extraction of hydrosable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn. Effects of solvents

and extraction methods. **Separation and Purification Technology**, v. 52, n.4, p. 487–496, 2007.

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

MELO, E. A; ARAUJO, C. R. Mangas das variedades espada, rosa e Tommy Atkins: compostos bioativos e potencial antioxidante. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1451-1460, 2011.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P.R.; VAN BEEK, T.A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**, v.85, n.2, p. 231-237, 2004.

NAGENDRA PRASAD, K.; HASSAN, A. F.; YANG, B.; KONG, K. W.; RAMANAN, R. N.; AZLAN, A.; ISMAIL, A. Response surface optimisation for the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities of underutilised *Mangifera pajang* Kosterm Peels. **Food Chemistry**, V. 128, n.4, p. 1121–1127, 2011.

NASCIMENTO, R. J.; ARAUJO, C. R.; MELO, E. A. Atividade antioxidante de extratos de resíduo agroindustrial de goiaba (*psidium guajava* L.). **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 2, p. 209 – 216, 2010.

PINELO, M.; RUBILAR, M.; SINEIRO, J.; NUNEZ, M. J. Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*PrunusCamygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). **Food Chemistry**, v. 85, n.2, p. 267–273, 2004

PINELO, M.; RUBILAR, M.; SINEIRO, J.; NUNEZ, M. J. Effect of Solvent, Temperature, and Solvent-to-Solid Ratio on the Total Phenolic Content and Antiradical Activity of Extracts from Different Components of Grape Pomace. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 53, n.6, p. 2111–2117, 2005.

PRIOR, R.L., HOANG, H., GU, L., WU, X., BACCHIOCCA, M., HOWARD, L., HAMPSCH-WOODILL, M., HUANG, D., OU, B., JACOB, R. Assays for

hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 51, n.11, p. 3273–3279, 2003.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v.26, p.1231-1237, 1999.

RODRIGUES, M. I.; LEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**, 2ªed revisada e ampliada - Campinas, SP: Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé e Amor, 2009.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Quantitative analysis, in vitro assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids—A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n.7, p. 726–740, 2010.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n.4, p. 996–1002, 2010.

SANCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F.; A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 76,n.2, p.270–276, 1998

SHUI, G. H.; LEONG, L. P. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. **Food Chemistry**, v. 97, n. 2 p. 277–284, 2006.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, n.4, p. 816–823, 2008

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free

radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, n.5, p.1801-1812, 1999.

WRIGHT, M. E., PARK, Y., SUBAR, A. F., FREEDAMAN, N. D., ALBANES, D., HOLLENBECK, A., LEITZMANN, M. F., & SCHATZKIN, A. Intakes of fruit, vegetables, and specific botanical groups in relation to lung cancer risk in the nih-aarp diet and health study. **American Journal of Epidemiology**, v. 168,n.9, p. 1024–1034, 2008

XU, G. G. H.; CHEN, J. C.; LIU, D. H.; ZHANG, Y. H.; JIANG, P.; YE, X. Q. Minerals, Phenolic Compounds, and Antioxidant Capacity of Citrus Peel Extract by Hot Water. **Journal Food Science C: Food Chemistry**, v. 73, n. 1, p. 11 – 18, 2008.

CAPITULO IV

Artigo III:
Identificação e Quantificação de Fenólicos e Capacidade
Sequestradora de Radical Livre do Resíduo de Manga
(*Mangifera indica* L.) Variedade Tommy Atkins

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo identificar e quantificar os polifenóis presentes em extratos de cascas liofilizadas de manga, variedade Tommy Atkins, e avaliar o seu potencial antioxidante. Os Extratos Ext-5 e Ext-7 foram obtidos por processo de extração sequencial, utilizando metanol (80%), seguido da acetona (80%), e, respectivamente, as seguintes condições de processo: temperatura de 25 e 37,5°C e tempo de agitação de 30 e 60min. Os extratos foram aplicados em SPE para retirada de interferentes e submetidos à cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE – DAD) para identificação e quantificação dos polifenóis. Em seguida, os extratos foram avaliados quanto à capacidade de sequestrar os radicais DPPH e ABTS. Independentes das condições de processo, nos extratos foram identificados ácidos fenólicos, flavonoides e uma xantona, dentre os quais o ácido sirínico e sinápico, a taxofolina, a isoquercetina e a mangiferina encontravam-se em maior proporção. A capacidade de sequestrar o radical DPPH e ABTS foi expressiva, cuja ação, possivelmente se deve ao conjunto de polifenóis presentes, especialmente aos compostos majoritários.

Palavras - chave: Cascas de manga, ácidos fenólicos, flavonoides, DPPH ABTS.

ABSTRACT

This study aimed to identify and quantify the polyphenols present in extracts from freeze-dried mango peels, variety Tommy Atkins, and evaluate its antioxidant potential. Ext5 e Ext7 extracts were obtained by sequential extraction process using methanol (80%) followed by acetone (80%), and, respectively, the following process conditions: temperature of 25 and 37.5°C and stirring time of 30 and 60 min. To remove interfering compounds, the extracts were applied to SPE. The identification and quantification of these polyphenol extracts was performed by high performance liquid chromatography (HPLC – DAD), and evaluated for their radical scavenging capacity against the DPPH and ABTS radical. Independent of processing conditions, were identified phenolic acids, flavonoids and a xantone, among which the syringic acid, synaptic acid, taxofoline, isoquercetine mangiferin were in greater proportion. The DPPH and ABTS scavenging of the extracts were expressive, which action possibly due to the polyphenols pool, especially the major compounds.

Keywords: mango peel; phenolic acids; flavonoids, DPPH; ABTS

INTRODUÇÃO

A produção de frutas vem crescendo nos últimos anos, conferindo destaque para produção de mangas, principalmente nos Estados do Nordeste brasileiro. Nesta região, os Estados da Bahia e Pernambuco são os maiores produtores, com produção, no ano de 2010, de 509,67 e 194,31 toneladas de manga, correspondendo a um rendimento médio de 18,32kg/hectare e 19,22kg/hectare, respectivamente (IBGE, 2011). Esta elevada produção está associada à boa aceitabilidade comercial do fruto decorrente dos seus atributos sensoriais agradáveis (CHITARRA, CHITARRA, 2005). Neste cenário, observa-se, também, aumento significativo do consumo de produtos derivados de frutas. Como consequência deste processamento, um grande volume de resíduos sólidos é gerado pela agroindústria, que na maioria das vezes é descartado (DAMIANI, et al.2009; MORETTI, 2007; MORETTI; MACHADO, 2006; KOBORI, JORGE, 2005). No ano de 2008, cerca de 0,5% da produção mundial de manga foi utilizada para a produção de polpas, sucos e doces, gerando 75.000 t de resíduos (FAO, 2008).

Estes resíduos sólidos, constituídos principalmente por cascas e sementes de vegetais, apresentam em sua constituição fitoquímicos em quantidades significativas, muitos dos quais exibem ação antioxidante (DORTA, LOBO, GONZALEZ, 2012; CAETANO, et al, 2011; CONTRERAS-CALDERÓN, et al, 2011; ROCKENBACH , et al, 2008; AJILA et al., 2007). Dentre os fitoquímicos bioativos usualmente presentes nestes materiais, destacam-se os compostos fenólicos ou polifenóis, produtos secundários do metabolismo vegetal. Em cascas de manga, alguns autores relatam a presença de flavonoides e derivados de ácidos fenólicos (ABDALLA, et al, 2007; AJILA, et al, 2010; MELO e ARAÚJO, 2011). A estrutura química destes compostos fenólicos permite que atuem com agentes redutores, interrompendo a cadeia da reação de oxidação através da doação de elétrons ou de hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis, ou reagindo com o oxigênio singleto ou complexando com metais, componentes iniciadores da oxidação lipídica (SATUÉ-GARCIA; HEINONEN; FRANKEL, 1997; HOPIA; HEINONEN, 1999).

Outro aspecto importante a considerar é oxidação dos lipídios que ocorrem durante o processamento e estocagem de alimentos, alterando, de modo indesejável, as características do produto final. A adição de antioxidantes constitui a prática mais comum para aumentar a estabilidade destes alimentos, uma vez que interferem de forma eficiente no processo da autooxidação, doando elétrons ou hidrogênio, regenerando a molécula do acilglicerol e interrompendo o mecanismo de oxidação (BREWER, 2011; McCLEMENTS; DECKER, 2010). Antioxidantes sintéticos, tais como butil hidroxianisol (BHA) e butil hidroxitolueno (BHT), entre outros, têm sido amplamente utilizados pela indústria, contudo, estudos apontam para os efeitos deletérios destes compostos químicos sobre a saúde. Além disso, nos últimos anos o consumidor, mais preocupado com a saúde, tem buscado por produtos mais naturais, livres de aditivos. Desta forma, a indústria de alimentos vem considerando a possibilidade de empregar antioxidante natural em um gama de produtos (DEVATKAL, NAVEENA, 2010).

Estas constatações vêm impulsionando pesquisas na área de antioxidantes naturais, na busca de compostos que possam atuar sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa e limitar o uso dos antioxidantes sintéticos. Dentro deste contexto, os resíduos sólidos, subprodutos da agroindústria, apresentam-se como uma fonte natural, potencialmente promissora de antioxidante, que precisa ser investigada quanto à presença de bioativos e a capacidade antioxidante deste material. Assim, este trabalho teve com objetivo definir o perfil quantitativo e qualitativo dos polifenóis presentes em cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins e avaliar a sua capacidade em sequestrar radicais livres.

Material e Métodos

Material

A manga utilizada para obtenção das cascas foi colhida no mês de novembro de 2010 de uma produção orgânica, localizada em Juazeiro-BA (Sitio do Bino – Estrada da Adutora de Caraíbas Metais – Km 25). Estes frutos foram transportados para empresa Liofruit, localizada no distrito industrial de

Petrolina – PE, onde foram descascadas, e as cascas liofilizadas, utilizando no processo temperatura inicial de -4°C , e final de -49°C . O tempo estimado para liofilização foi de 11h55min, com pressão de 2 mm/Hg. Em seguida, as cascas foram acondicionadas em embalagem laminada a vácuo, e transportadas em temperatura ambiente ao Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos do PGCTA - Departamento de Ciências Domésticas/ UFRPE.

Preparo das Amostras

As cascas liofilizadas foram trituradas em moinho multi-uso TE 631/2 (Tecnal). A farinha obtida foi acondicionada em sacos plásticos de polietileno, envolvidos em papel alumínio, a fim de inibir a fotooxidação, e armazenada sob congelamento (-18°C) até as determinações analíticas.

Extratos:

Para obtenção dos extratos empregou-se o processo de extração sequencial, utilizando 5g de farinha e solução hidrometanólica (80%), seguida da solução de hidrometanólica (80%), e as seguintes condições de processo: a) três ciclos de extração de 10 min, totalizando 30 minutos, e temperatura de $37,5^{\circ}\text{C}$; b) três ciclos de extração de 20 minutos, totalizando tempo de agitação de 60 minutos, e temperatura de 25°C . Os extratos obtidos foram denominados Ext 5 e Ext 7, respectivamente. As condições do processo de extração, acima mencionadas, foram definidas em ensaios anteriores aplicando planejamento fatorial 2^2

Análise dos fenólicos por HPLC - DAD

a) Preparo dos extratos

Os extratos brutos (50mL) foram secos sob vácuo a $<40^{\circ}\text{C}$ até secura total. Em seguida, os extratos secos foram resuspensores em 5ml de água ultra pura, e posteriormente, liofilizados a -56°C em 3mm/Hg. 0,5g do extrato bruto liofilizados foi solubilizada em 1ml de metanol e aplicado em cartucho SPE C18 (Sep-Pak - WATERS), previamente condicionado com 10ml de água ultra pura (MilliQ), e em seguida com 10ml de metanol (MERCK). Após a aplicação

do extrato, o cartucho foi lavado com 20mL de água ultra pura para retirada dos interferentes, e os compostos de interesse foram eluídos com 5mL de metanol, obtendo, assim, a fração metanólica a qual foi seca em rotaevaporador a $<40^{\circ}\text{C}$, resultando em 25,6mg de extrato seco. 10mg do extrato seco foram solubilizadas em uma mistura de metanol e ácido fórmico 1% (1:1, v/v), ou metanol e ácido fórmico 5% (1:1, v/v), para análise dos flavonoides e derivados dos ácidos cinâmicos e benzoicos, respectivamente. O volume final (1ml) foi filtrado em membrana de nylon de $0,45\mu\text{m}$, e em seguida injetado no CLAE-DAD. Todos os solventes utilizados foram grau cromatográfico e, antecipadamente, filtrados.

b) Identificação e Quantificação dos compostos fenólicos

Soluções padrões dos seguintes ácidos fenólicos: a) ácidos cinâmicos: caféico, p-cumárico, ferúlico, 3-hidroxicinâmico, sináptico, trimetoxinâmico, cinâmico e metocinâmico; b) ácidos benzoicos: vanílico, gálico, dehidroxibenzóico, sirígico, 4-dehidroxibenzóico e salicílico; dos flavonóides: taxifolina, narigenina, luteolina, apigenina, isoquercetina, mirecertina, quercetina, kanferol, isoramnetina bem como da xantona mangiferina, foram preparadas em metanol acidificado, na concentração de 1mg. mL^{-1} . Para os ácidos fenólicos utilizou-se a mistura metanol e ácido fórmico 5% (1:1, v/v), enquanto que para os flavonóides e a xantona empregou-se metanol e ácido fórmico 1% (1:1, v/v). A identificação e quantificação dos polifenóis foram efetuadas a partir da curva de calibração dos padrões de ácidos fenólicos, utilizando concentrações de $1,90$ a $62,50\mu\text{g.mL}^{-1}$, de flavonóides e da xantona na concentração de 5 a $80\mu\text{g.mL}^{-1}$. A área dos picos foi calculada a partir da curva de calibração considerando a concentração correspondente dos padrões.

c) Análise cromatográfica

Análises cromatográficas foram realizadas usando sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (Waters SCL-10AVP), ligado ao detector de arranjo diodo-DAD (Waters 2998) e bomba quaternária (Waters 600E), com temperatura de 35°C . Para os flavonóides e a xantona utilizou-se coluna C_{18} , $250 \times 4,6\text{mm} \times 5\mu\text{m}$ (SHIMPACK CLC-ODS), e como fase móvel

utilizou-se a mistura água: ácido fórmico (99:1, v/v - solvente A) e metanol (solvente B), em gradiente de concentração obtido variando a proporção do solvente B no solvente A, como segue: 0-3 min, 40% B; 5-15 min, 45% B; 17-25 min, 50% B; 27-43min, 55% B; 45 min, 40% B, com taxa de fluxo de 1,0 mL. min⁻¹ a 320 nm. Para os derivados dos ácidos fenólicos utilizou-se coluna C₁₈, 150 x 4,6mm x 5µm, (Rexchrom), e a fase móvel constituída pela mistura água: ácido fórmico (99:5, v/v - solvente A) e metanol (solvente B) em gradiente de concentração, obtido variando a proporção do solvente B no solvente A, como segue: 0-14 min, 20% B; 15-19 min, 30% B; 20-29 min, 30% B; 30-39 min, 40% B; 40-50 min, 100% B; 55 min, 20% B, com taxa de fluxo de 1mL. min⁻¹ a 290nm (SILVA, et al, 2012). Todas as determinações foram feitas em triplicata, e o cromatograma registrado no comprimento de onda de 290nm, para os derivados dos ácidos fenólicos, e de 320nm para os flavonoides e a xantona.

Sequestro de Radical Livre

Os extratos purificados, livre de interferentes, foram submetidos à determinação da capacidade de sequestro do radical DPPH e ABTS.

a) Capacidade de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH):

Extratos com 5 diferentes concentrações foram adicionados à solução de DPPH• em metanol (0,1M), atingindo a concentração final 20; 30; 40; 50 e 60 µg de extrato mL⁻¹, e a absorbância mensurada em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC) a 515nm até a reação atingir o platô. A concentração do DPPH• remanescente no meio da reação foi calculada a partir da curva padrão do radical DPPH•, e o percentual de DPPH• remanescente (DPPH_{rem}%) de cada concentração do extrato calculado utilizando a seguinte expressão:

$$\% \text{ DPPH}_{\text{REM}} = \text{DPPH}_t / \text{DPPH}_{T=0} \times 100$$

Em seguida, as concentrações do extrato eficiente para diminuir em 50% a concentração inicial do DPPH• (EC₅₀) foi calculada a partir do gráfico da concentração da amostra (g de extrato. g DPPH⁻¹) versus DPPH_{REM}%. O

comportamento cinético foi classificado como alto ($T_{EC50} < 5$ minutos) intermediário ($T_{EC50} = 5$ a 30 minutos) ou lento ($T_{EC50} > 30$ minutos), segundo o valor de T_{EC50} , e a eficiência antirradical, em baixa ($EA < 1$), média ($EA > 1$ e ≤ 5), alta ($EA > 5$ e ≤ 10) ou super alta ($EA > 10$) de acordo com o valor de EA, obtida através da seguinte expressão: $EA = 1/EC_{50} \cdot T_{EC50}$ (SÁNCHEZ-MORENO, LARRAURI; SAURA-CALIXTO, 1998). Para efeito de comparação foi determinada a capacidade antioxidante do ácido gálico, nas mesmas condições descritas acima.

Capacidade de Sequestrar o radical ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis- (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico):

O radical ABTS^{•+} foi gerado a partir da reação da solução aquosa de ABTS (7mM) com 2,45mM de persulfato de potássio. A solução do radical foi diluída em etanol até obter uma medida de absorvância de $0,7 \pm 0,05$, em comprimento de onda de 734nm. Diferentes concentrações de extratos foram adicionadas a solução do ABTS^{•+}, atingindo concentração final de 1, 2, 5 e 5mg de extrato. L^{-1} , e sua absorvância registrada, após 6 minutos, em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC). A capacidade antioxidante foi calculada em relação à atividade do antioxidante sintético Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico. Como comparativo foi determinada também a capacidade antioxidante do ácido gálico, nas mesmas condições descritas acima (RE, et al, 1999).

Resultados e Discussão.

Os extratos obtidos empregando no processo de extração temperatura de 37,5°C e o tempo de agitação de 30 minutos (Ext 5), e temperatura de 25°C e o tempo de agitação de 60 minutos (Ext 7), apresentaram teor de fenólicos totais de $2407,16 \mu g \cdot mL^{-1}$ e $1848,72 \mu g \cdot mL^{-1}$, respectivamente. A análise dos perfis cromatográficos destes extratos e a comparação com a curva de calibração revela que independente das condições de processo para obtenção dos extratos, derivados de ácidos fenólicos (ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos), flavonóides e uma xantona encontravam-se presentes nos

dois extratos, porém com diferenças quantitativas e qualitativas entre os perfis dos extratos (Figuras 2 e 3).

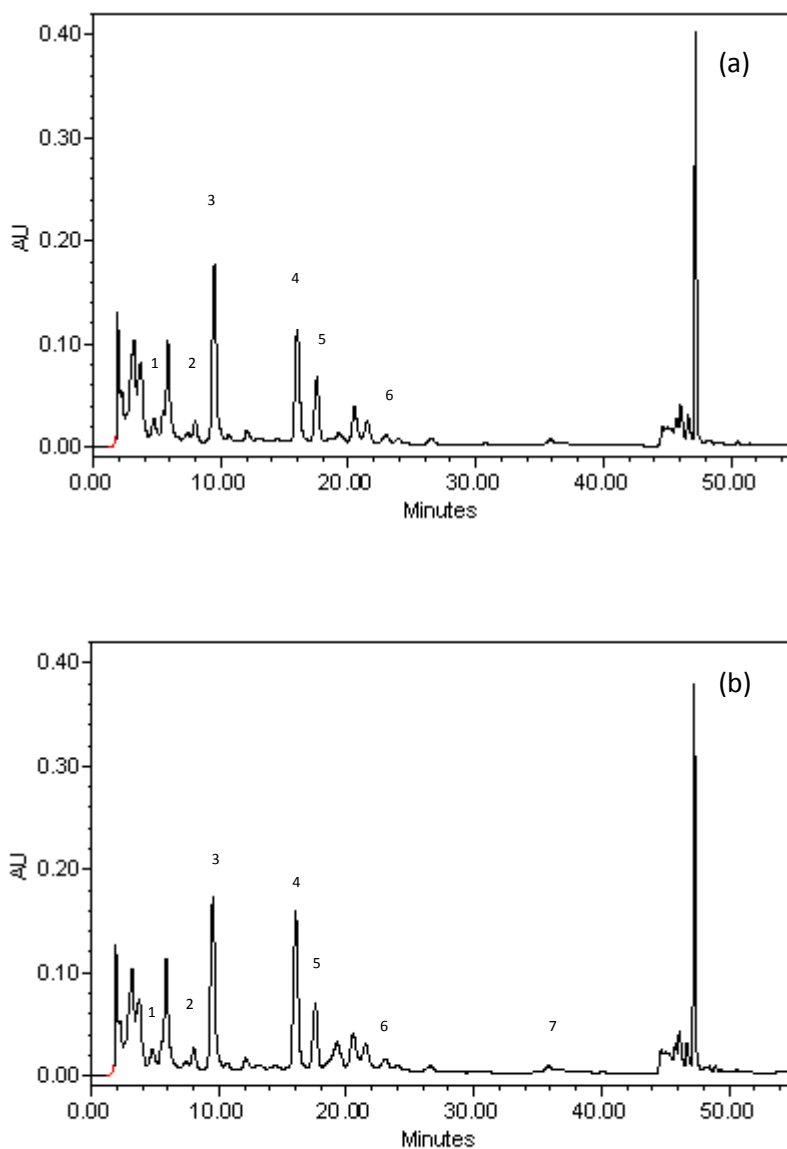


Figura 2: Cromatograma dos extratos de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins por HPLC - DAD (ácidos fenólicos): (a) ensaio 5: Gálico (1); 4-hidroxibenzoico (2); siríngico (3); sináptico (4); 3-hidroxicinâmico (5); salicílico (6); (b) ensaio 7: Galico (1); 4-hidroxibenzoico (2); siríngico (3) sináptico (4); 3-hidroxicinâmico (5); salicílico (6); Trimetoxicinâmico (7).

No Ext 5 e no Ext 7 foram identificados 6 e 7 ácidos fenólicos (Figura 2). Os mesmos ácidos fenólicos estavam presentes nos dois extratos, exceto o

trimetoxicinâmico (fração 7) que foi identificado apenas no Ext-7 (Tabela 1). Observa-se, também, que o Ext-7 apresentou uma quantidade total de ácidos fenólicos ($44,73\text{mg.g}^{-1}$) maior do que a do Ext-5 ($36,82\text{mg.g}^{-1}$). Evidencia-se, portanto, que o processo de extração teve influência na extração destes fitoquímicos. Segundo Durling et al. (2007); Al-Persa e Lee (2008) e Wang et al. (2007), o emprego de temperaturas na extração de polifenóis pode melhorar o rendimento da extração, proporcionando maior solubilidade dos polifenóis presentes nas células vegetais durante a extração com solventes orgânicos. Entretanto, neste estudo, este parâmetro parece não ter sido relevante, pois o extrato obtido com a menor temperatura (25°C) e o tempo de extração mais longo (60 minutos) apresentou quantidade maior de ácidos fenólicos. Possivelmente, o tempo mais longo permitiu maior contato do solvente com a matéria prima, favorecendo extração dos ácidos fenólicos.

Tabela 1. Perfil quantitativo de ácidos fenólicos em extratos de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins

Extrato	Ácidos fenólicos (mg/g de farinha)						
	Derivados do Ácido Benzoico				Derivados dos Ácidos Cinâmico		
	Gálico	3, 4 -hidroxi-benzóico	Siríngico	Salicílico	3-hidroxi-cinâmico	sináptico	Trimetoxicinâmico
Ext 5	1,68±	2,01±	13,71±	1,59±	6,09±	11,74±	ND
	0,03 ^{Eb}	0,07 ^{Db}	1,17 ^{Ab}	0,8 ^{Eb}	0,39 ^{Ca}	0,88 ^{Bb}	
Ext 7	2,33±	3,15±	15,59±	2,37±	5,92±	14,18±	1,19±
	0,10 ^{Ea}	0,08 ^{Da}	1,17 ^{Aa}	0,4 ^{Ea}	0,37 ^{Cb}	0,40 ^{Ba}	0,12 ^{Fa}

ND: Não detectado; médias ± desvio padrão de três determinações. Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na linha, e por letras minúsculas iguais, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ($p>0,05$).

Os ácidos fenólicos são abundantes em vegetais e encontram-se reunidos em dois grupos. Os derivados do ácido hidroxibenzóico que apresentam estrutura mais simples, contendo sete átomos de carbono (C6-C1), e os derivados do ácido cinâmico, com nove átomos de carbono (C6-C3) (SOARES, 2002). Na farinha de manga em estudo evidencia-se a predominância de derivados do ácido benzóico, dos quais o siríngico encontra-se em maior proporção. Dos derivados do ácido cinâmico, o sináptico aparece

como majoritário. Em cascas de manga Badami, uma variedade de manga indiana, Ajila, Rao e Prassada (2010) e Prasad et al. (2011), detectaram a presença majoritária do ácido siríngico e do ácido gálico. Em purê de manga, Schieber, Ullrich e Carle (2000); detectaram grande concentração de ácido gálico glicosilado.

Estudos voltados para bioatividade dos ácidos fenólicos demonstram que estes fitoquímicos apresentam propriedade antioxidante, e consequentemente ação anticarcinogênica, antibacteriana e propriedades neuroprotetoras. A estrutura molecular destes polifenóis e, mais especificamente, a posição e o grau de hidroxilação do anel aromático tem influência direta sobre a atividade antioxidante destes compostos, bem como sobre o seu mecanismo de ação (ERKAN, et al, 2011; WANG, WANG e YANG 2007; SOONG, BARLOW, 2006).

O perfil do Ext-5 e do Ext-7 relacionado aos flavonoides e a xantona encontram-se apresentados na Figura 3 e Tabela 2. No Ext-5 foram identificados 4 frações, sendo três flavonoides e 1 xantona (mangiferina), enquanto que no Ext-7, além dos flavonóides e da xantona encontrados no Ext-5, ainda foi detectada a presença da mirecetina. O Ext-5 apresentou quantidade total destes constituintes inferior a do Ext-7. Assim como ocorreu com o teor total de ácidos fenólicos, o extrato obtido com o tempo de extração mais longo (60 minutos) apresentou maior quantidade total de flavonóides.

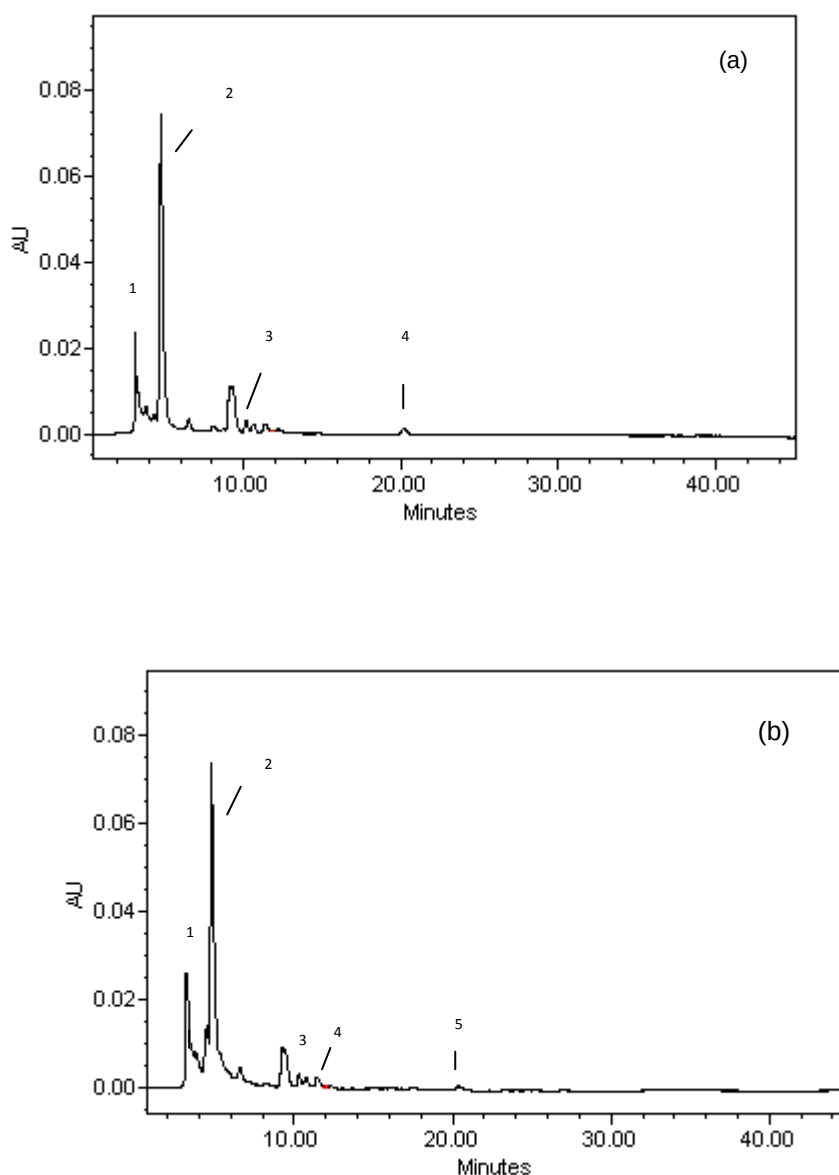


Figura 3. Cromatograma por HPLC de flavonóides em extrato de farinha de casca de manga Tommy Atkins por HPLC - DAD. (a) Ext-5: Mangiferina (1); taxofolina (2); Isoquercetina (3) Luteolina (4); (b) Ext-7: Mangiferina (1); taxofolina (2); Isoquercetina (3); mirecetina (4); Luteolina (5).

Dentre os flavonóides, a taxifolina e a isoquercetina foram majoritárias nos dois extratos. De acordo com Thapa et al (2012) e Kim, Narayanan e Chang (2010), a isoquercetina apresenta ação antiviral contra o vírus da influenza, e a taxifolina é considerada uma das principais flavononas que

atuam no mecanismo de defesa do organismo humano. Vale salientar, ainda, que a atividade biológica dos flavonóides e de seus metabólitos depende da sua estrutura química e dos vários substituintes da molécula, uma vez que a estrutura básica pode sofrer uma série de modificações, tais como, glicosilação, esterificação, amidação, hidroxilação, entre outras alterações que irão modular a polaridade, toxicidade e direcionamento intracelular destes compostos (HUBER e RODRIGUEZ – AMAYA, 2008).

Tabela 2. Perfil quantitativo de flavonoides e mangiferina em extratos de cascas liofilizadas de manga Tommy Atkins.

Extrato	Flavonoides (mg/g de farinha)				Xantona (mg/g de farinha)
	Taxifolina	Isoquercetina	Luteolina	Mirecetina	Mangiferina
Ext-5	9,45±	2,90±	2,03±	ND	2,88±
	0,05 ^{Ab}	0,07 ^{Bb}	0,12 ^{Ca}		0,35 ^{Ba}
Ext-7	10,63±	3,20±	1,98±	0,77±	1,97±
	1,0 ^{Aa}	0,11 ^{Ba}	0,09 ^{Cb}	0,37 ^D	0,12 ^{Cb}

ND: Não detectado; médias ± desvio padrão de três determinações. Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na linha, e por letras minúsculas iguais, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ($p > 0,05$).

Em geral, os flavonóides são encontrados em plantas, principalmente, na forma glicosilada (o-glicosídeos), usualmente a molécula de açúcar liga-se ao grupo hidroxila na posição C3 ou C7 (ERLUND, 2004). Os açúcares mais comuns ligados a aglicona são D-glicose e L-ramnose, porém, pelo menos 8 monossacarídeos diferentes ou combinações destes podem ligar-se aos diferentes grupos hidroxilas do flavonoides, resultando em um grande número de glicosídeos.

A mangiferina é uma xantona comumente encontrada na manga, em especial em suas cascas, que pode apresentar ação antimicrobiana, antiinflamatória e antioxidante. Segundo Masibo e He (2008), a mangiferina e a quercetina 3-O-galactosídeo são os dois principais polifenóis encontrados em casca manga ($1,69\text{mg.g}^{-1}$ e $0,65\text{mg.g}^{-1}$, respectivamente). Ribeiro et al. (2008) encontraram em casca de manga Ubá teores de mangiferina de $0,199\text{mg.g}^{-1}$ em base seca, valor muito mais baixo do que o detectado neste estudo. Além da mangiferina, Ajila, Rao e Prassada (2010), também, fazem referência à presença da quercetina em casca de manga Badami, uma variedade de manga indiana. Diferenças no perfil de flavonoides e xantonas foram também

detectados por Berardini, et al (2005), onde encontraram em 14 variedades de manga de diferentes regiões do mundo quantidades diferenciadas de mangiferina e quercetina.

A mangiferina é apontada como o princípio ativo da manga, a qual se atribui efeitos biológicos relevantes tendo em vista que atuam como antioxidante. Entretanto, ação antioxidante deste composto isolado é inferior ao do extrato de casca de manga, demonstrando que a capacidade antioxidante não pode ser atribuída a um único composto, mas ao efeito sinérgico exercido por todos os componentes do extrato (MASIBO; HE, 2008).

Deve-se levar em consideração que a casca de manga utilizada neste estudo apresentou quantidades significativas de polifenóis tanto para os derivados de ácidos cinâmicos e benzóicos, quanto para flavonoides e mangiferina. Se o resíduo que é descartado pelas agroindústrias processadoras de manga fosse utilizado como matéria prima para obtenção destes compostos, estima-se obter quantidades expressivas destes constituintes bioativos.

Atividade Antioxidante

Os extratos após serem aplicados no SPE para a obtenção de extratos livres de interferentes foram submetidos à ação antioxidante frente aos radicais livres DPPH e ABTS, cujos resultados encontram-se na Tabela 3. Evidencia-se que os extratos apresentam forte potencial antioxidante. Frente ao radical DPPH, os extratos não apresentaram diferença estatisticamente significativa, cuja capacidade de sequestro foi semelhante entre si e a do ácido gálico. O conjunto de polifenóis presentes nestes extratos, especialmente os compostos majoritários, possivelmente, foram efetivos na captura do radical DPPH. Em relação ao tempo necessário para diminuir em 50% a quantidade de DPPH, os extratos apresentaram baixo valor de T_{EC50} permitindo classificá-los como rápidos na ação de sequestro do radical, característica importante para um antioxidante. Entretanto, exibiram eficácia antirradical intermediária.

Tabela 3. Atividades Antioxidantes de extratos purificados de Cascas de Manga Tommy Atkins

Ensaio	DPPH*				ABTS**	
	EC ₅₀	T _{EC50}	Classificação cinética	EA	Classificação antirradical	
Ext-5	0,34± 0,03 ^a	0,77± 0,12 ^a	Rápido	3,82± 0,81 ^a	Médio	370,33± 13,50 ^b
Ext-7	0,40± 0,03 ^a	0,78± 0,031 ^a	Rápido	3,21± 1,09 ^b	Médio	219,67± 10,66 ^c
Ácido Gálico	0,36± 0,02 ^a	0,95± 0,02 ^a	Rápido	2,92± 0,31 ^c	Médio	427,66± 5,32 ^a

Os valores referem-se à média ± desvio padrão de três determinações; as médias seguidas por letras iguais, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ($p < 0,05$). *g de extrato. g DPPH⁻¹; **TEAC= mmol trolox.g⁻¹ de extrato; T_{EC50}= tempo necessário para atingir o valor de EC₅₀; EA= eficiência antirradical (1/EC₅₀.TEC₅₀); classificação cinética; classificação antirradical. Ext-5= extrato do ensaio 5; Ext-7= extrato do ensaio 7

Em relação à capacidade de sequestrar o radical ABTS, observa-se que o Ext-5, contendo menor quantidade do total de ácidos fenólicos e de flavonoides, exibiu ação superior a do Ext-7, porém inferior a do ácido gálico. O conjunto de polifenóis presentes no Ext-5, especialmente os compostos majoritários, possivelmente, foram efetivos na captura do radical ABTS.

CONCLUSÕES

Os extratos obtidos por extração sequencial utilizando metanol a 80% e a acetona a 80%, independente das condições de processo relativas ao tempo de agitação e temperatura, apresentaram derivados de ácidos fenólicos, flavonoides e uma xantona em sua constituição. O ácido siríntrico e sináptico, a taxofolina, a isoquercetina e a mangiferina foram os constituintes majoritários dos extratos. Desta forma, a ação antioxidante dos extratos frente aos radicais DPPH e ABTS, possivelmente, se deve a presença majoritária destes compostos fenólicos.

BIBLIOGRAFIA

AJILA, C. M. JAGANMOHAN RAO, L.; PRASADA RAO, U. J. S. Characterization of bioactive compounds from raw and ripe *Mangifera indica* L. peel extracts. **Food and Chemical Toxicology**, v.48, n.12, p. 3406–3411, 2010.

AJILA, C. M.; BHAT S. G.; RAO, U. J. S. P. Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties. **Food Chemistry**, v.102, n.4, p.1006–1011, 2007.

AJILA, C. M. NAIDU, K.A; BHAT, S.G; PRASADA RAO, U.J.S Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. **Food Chemistry**, v.105, n.3, p.982–988, 2007.

ABDALLA, A. E. M., DARWISH, S. M., AYAD, E. H. E., & EL-HAMAHMY, R. M. Egyptian mango by-product 1. Compositional quality of mango seed kernel. **Food Chemistry**, v. 103, n. 4, p. 1134 – 1140, 2007.

.AL-FARSI, M. A.; LEE, C. Y. Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. **Food Chemistry**, v, 108, n.3, p. 977–985, 2008.

BAGCHI, D.; BAGCHI, M.; STOHS, S. J.; DAS, D. K.; RAY, S. D.; KUSZYNSKI, C. A. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. **Toxicology**, v.148, n. 2-3, p. 187–197, 2000.

BERARDINI, N.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Characterization of gallotannins and benzophenone derivatives from mango (*Mangifera indica* L. Cv. Tommy Atkins) peels, pulp and kernels by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. **Rapid Communications Mass Spectrometry**, v.18, n 19. p. 2208–2216, 2004.

BERARDINI, N.; SCHIEBER, A.; KLAIBER, I.; BEIFUSS, U.; CARLE, R.; CONRAD, J. 7-O-methylcyanidin 3-O- β -D-galactopyranoside, a novel anthocyanin from mango (*Mangifera indica* L.) cv. 'Tommy Atkins' peels. **Chemical Science**, v. 60, n. 7, p. 801–804, 2005.

BERARDINI, N., FEZER, R., CONRAD, J., BEIFUSS, U., CARLE, R., & SCHIEBER, A. Screening of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars for their contents of flavonol O- and xanthone C-glycosides, anthocyanins, and pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n. 5, p. 1563–1570, 2005.

CAETANO, A. C. S; ARAÚJO, C. R; LIMA, V. L. A. G; MACIEL, M. I. S; MELO, E. A. Evaluation of antioxidant activity of agro-industrial waste of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) fruit extracts. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.31, n.3, p.769 – 775, 2011.

CRUZ, J. M.; DOMINGUEZ, H.; PARAJO, J. C. Assessment of the production of antioxidants from winemaking waste solids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 18, p. 5612–5620, 2004.

DINA, A.; NASSIMA, C.; MERIEM, B.; KARIMA, A. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. **Food Chemistry**, v.112, n. 2, p. 303–309, 2009.

DURLING, N. E.; CATCHPOLE, O. J.; GREY, J. B.; WEBBY, R. F.; MITCHELL, K. A.; FOO, L. Y.; PERRY, N. B. Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol–water mixtures. **Food Chemistry**, v.101, n. 4, p.1417–1424, 2007.

ERKAN, N.; AKGONEN, S.; OVAT, S.; GOKSEL, G.; AYRANCI, E. Phenolic compounds profile and antioxidant activity of *Dorystoechas hastate* L. Boiss et Heldr. **Food Research International**, v. 44, n. 9, p. 3013–3020, 2011.

ERLUND, I. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. **Nutrition Research**, v.24, n. 10 p.851-874, 2004

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e Fatores que influenciam a composição em Alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v.19, n.1, p. 97-108, 2008.

KATHLEEN, P. Mango fruit been found to prevent or stop certain colon and breast cancer cells in the lab. **Science Daily**, 2010. <http://agnews.tamu.edu/showstory.php?id=1686>, acesso em 05/04/2012

KIM, Y.; NARAYANAN, S.; CHANG, K. Inhibition of influenza virus replication by plant-derived isoquercetin. **Antiviral Research**, v.88, n. 2, p. 227–235, 2010.

KIM, Y., BRECHT, J. K.; TALCOTT, S. T. Antioxidant phytochemical and fruit quality changes in mango (*Mangifera indica* L.) following hot water immersion and controlled atmosphere storage. **Food Chemistry**, v.105, n.4, p.1327-1334, 2007.

LI, H.; YANG, Y.; ZHAO, R.; XU. Novel modified pectin for heavy metal adsorption, **Chinese Chemical Letters**, v.18, n. 3, p. 325–328, 2007.

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

MASIBO, M.; HE, Q. Major Mango Polyphenols and Their Potential Significance to Human Health. Comprehensive reviews in **food science and food safety**, v. 7, n. 4, p.309 – 319, 2008.

MELO, E. A; ARAÚJO, C. R. Mangas das variedades espada, rosa e Tommy Atkins: compostos bioativos e potencial antioxidante. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, n.4, p.1451-1460, 2011.

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

NAGENDRA PRASAD, K. FOUAD, H. P.; BAO, Y.; KIN, W. K.; RAMAKRISHNAN, N. R.; AZRINA, A.; AMIN, I. Response surface optimisation for the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities of underutilised *Mangifera pajang* Kosterm Peels. **Food Chemistry**, v. 128 n. 4, p.1121–1127, 2011.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v.26, n. 9-10, p.1231-1237, 1999.

RIBEIRO, L. C. A.; BARBOSA, J. H.; QUEIROZ, M.; KNODLER, A.; SCHIEBER, E. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian

mango (*Mangifera indica* L.) varieties **Food Chemistry**, v. 110, n. 3, p. 620–626, 2008.

RODRIGUES, M. I.; LEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**, 2ªed revisada e ampliada - Campinas, SP: Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé e Amor, 2009

ROBARDS, K. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. **Journal of Chromatography A**, v.1000, n. 1-2, p.657–691, 2003.

ROCKENBACH, I. I; SILVA, G. L; RODRIGUES E; KUSKOSKI, E, M; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannat* e *Ancelota*. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 28, (Supl.), p. 238-244, 2008.

SANCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 76, n.2, p.270–276, 1998

SAKAKIBARA, H.; HONDA, Y.; NAKAGAWA, S.; ASHIDA, H.; KANAZAWA, K. Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n. 3, p.571–58, 2003.

SCHIEBER, A.; WIELAND, U.; CARLE, R. Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detection. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.1, n.1, p.161 – 166, 2000.

SILVA, T. M. S.; FREIRE K. R. L.; LINS, A. C. S.; DOREA, M. C.; CAMARA, C. A. Origin, Phenolic Content, and Antioxidant Properties of Honeybee-Collected Pollen from Bahia, Brazil. **Molecules**, v.17, n. 2, p. 1652 – 1664, 2012.

SOARES, S.; A. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71 – 81, 2002.

SOONG, Y.; BARLOW, P. J. Quantification of gallic acid and ellagic acid from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) seed and mango (*Mangifera indica* L.) kernel and their effects on antioxidant activity **Food Chemistry**, v. 97, n. 3, p. 524–530, 2006.

THAPA, M.; KIM, Y.; DESPER, J.; CHANG, K.; HUA, D. Synthesis and antiviral activity of substituted quercetins. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, n. 1 p. 353–356, 2012.

TSAO, R.; DENG, Z. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. **Journal of Chromatography B**, v.812, n. 1-2, p. 85–99, 2004.

WANG X, WANG J, YANG N. Flow injection chemiluminescent detection of gallic acid in olive fruit. **Food Chemistry**, v.105, n. 1, p.1340–1345, 2007.

WANG, J., SUN, B., CAO, Y., TIAN, Y., & LI, X. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. **Food Chemistry**, v. 106, n.2, p. 804–810, 2007.

YILMAZ, Y.; TOLEDO, R. T. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 1, p. 41-48, 2006.

CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados permitem concluir que as cascas liofilizadas de manga (*Mangifera indica* L.) da variedade Tommy Atkins, apresentam em sua constituição quantidades relevantes de carboidratos, de potássio, fósforo, cálcio e sódio, bem como de polifenóis totais, ácido ascórbico e β -caroteno.

O processo de extração sequencial utilizando solução de metanol (80%, v/v) seguida da solução de acetona (80%, v/v) e as seguintes condições de processo: temperatura de 37,5°C e tempo de 30 minutos (Ext-5) ou temperatura de 25°C e tempo 60 minutos (Ext-7) possibilitou obter extratos com maior teor de fenólicos totais e maior ação antioxidante, respectivamente. Estes extratos apresentaram ação antioxidante expressiva frente aos radicais DPPH, ABTS e ORAC bem como em meio lipídico. O Ext-7 exibiu melhor ação antirradical e melhor performance em sistema modelo que utiliza ácido linoleico como substrato do que o Ext-5. Entretanto, no teste acelerado em estufa, o Ext-5 exibiu melhor ação.

Na identificação por CLAE – DAD, ambos os extratos apresentaram em sua constituição derivados de ácidos fenólicos, flavonoides e xantona. O ácido sirínico, sinápico, taxifolina, isoquercetina e mangiferina foram os constituintes majoritários nos extratos. Estes extratos exibiram capacidade antioxidante significativa frente aos radicais livres DPPH e ABTS, cuja ação, possivelmente, se deve a aos compostos fenólicos que se encontrava em maior proporção.

Assim, considerando a composição química e a ação antioxidante, o resíduo industrial de manga Tommy Atkins apresenta um forte potencial para uso em formulação de produtos alimentícios, bem como para a extração de polifenóis, β -caroteno e ácido ascórbico que poderão ser empregados na indústria de alimentos como aditivos ou suplemento alimentar.